

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Evaluación de la relación exposición-respuesta de  
bevacizumab y de cetuximab en cáncer colorrectal  
metastásico y de cetuximab en cáncer de cabeza y cuello**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Silvia Peña Cobia**

**Directores**

**Ana López Martín  
Benito García Díaz,  
Irene Iglesias Peinado**

**Madrid**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
FACULTAD DE FARMACIA



**TESIS DOCTORAL**

**Evaluación de la relación exposición-respuesta  
de bevacizumab y de cetuximab  
en cáncer colorrectal metastásico  
y de cetuximab en cáncer de cabeza y cuello**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Silvia Peña Cobia

DIRECTORES

Dra. Ana López Martín

Dr. Benito García Díaz

Dra. Irene Iglesias Peinado

Madrid, 2021



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FARMACOGNOSIA Y BOTÁNICA



**Evaluación de la relación exposición-respuesta  
de bevacizumab y de cetuximab  
en cáncer colorrectal metastásico  
y de cetuximab en cáncer de cabeza y cuello**

**TESIS DOCTORAL**

Silvia Peña Cabia

DIRECTORES

Dra. Ana López Martín

Dr. Benito García Díaz

Dra. Irene Iglesias Peinado

Madrid, 2021





# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

## FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, FARMACOGNOSIA Y BOTÁNICA



**Dra. Dña. Ana López Martín**, Jefa del Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Severo Ochoa de Leganés.

**Dr. D. Benito García Díaz**, Jefe del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Severo Ochoa de Leganés.

**Dra. Dña. Irene Iglesias Peinado**, Decana de la Facultad de Farmacia y profesora titular del Departamento de Farmacología, Farmacognosia y Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

### CERTIFICAN

Que el presente trabajo titulado: “Evaluación de la relación exposición-respuesta de bevacizumab y de cetuximab en cáncer colorrectal metastásico y de cetuximab en cáncer de cabeza y cuello” realizado por la licenciada Dña. Silvia Peña Cabia bajo nuestra dirección, reúne todas las características necesarias para optar al grado de Doctora en Farmacia.

Y para que así conste a los efectos oportunos firmamos el presente:

En Madrid, a 1 de septiembre de 2021

Dra. Dña. Ana López Martín

Dr. D. Benito García Díaz

Dra. Dña. Irene Iglesias Peinado



*A mis padres*

*A mi hermana*

*A Odín*



## *Agradecimientos*

Después de cuatro años, el cierre de este proyecto toca ahora a su fin.

El primer agradecimiento va dirigido a mis directores, a la Dra. Ana López Martín, el Dr. Benito García Díaz y la Dra. Irene Iglesias Peinado.

Desde que comencé con la redacción de la Tesis, he pensado en el momento en el que ahora me encuentro, escribiendo los agradecimientos, en la sensación de satisfacción por el trabajo realizado, los obstáculos que tendría que salvar para poner el punto final... Pero esa cuesta que parecía tan empinada al final no lo ha sido tanto y la Tesis Doctoral incluso me ha ayudado en los momentos difíciles.

Aunque es con el camino y con los que han formado parte de él con lo que me quedo: ese primer día en el hospital en el que el Dr. Benito García me propuso hacer la Tesis, a él tengo que agradecerle el impulso que me dio y la búsqueda de medios para formarme en una u otra área relacionada con la investigación. El traspaso de información del proyecto que me hizo Andrea Domínguez, muchas gracias por tu generosidad. La primera reunión con los investigadores del estudio: Isabel Siso, Ricardo Hitt, Concepción García, Ángela Peñalver, gracias por dedicarme vuestro tiempo cuando lo he necesitado. El montón de reuniones por videollamada con la Dra. Ana Royuela, siempre con una sonrisa, cercana, leyendo los artículos que le enviaba, respondiendo enseguida a todo lo que le proponía... Tu ayuda ha sido muy valiosa, no sabes cuánto. También echo la vista atrás y veo los emails cruzados con la Dra. Ruth Ramos, compartiendo conmigo sus conocimientos de biología molecular para solucionar las dudas que me surgían sobre la manipulación de las muestras, la determinación de las concentraciones, los kits o las técnicas analíticas. La rapidez del Dr. Fernando Gutiérrez para contestar los emails a cualquier hora. Las visitas al laboratorio del Severo Ochoa buscando a María Ángeles y a Paloma para entregarles las muestras, o a Hospital de Día en las que Paqui, siempre atareada, me echaba una mano. El día en que le presenté a la Dra. Irene Iglesias el primer corte de datos en la facultad. O el curso que organizó Isabel Martínez, la bibliotecaria, sobre búsquedas eficientes y gestores bibliográficos y que tan útil me ha

sido, así como su ayuda posterior. También quiero mencionar a mis amigos, el Dr. David Díaz y el Dr. Rubén Quintana, que como años antes ya habían hecho en “El Fray”, me prestaron su ayuda en cuanto recibieron mi llamada. A todos os quiero agradecer el tiempo desinteresado que me habéis dedicado y el enriquecimiento que habéis hecho al proyecto.

Y cómo no acordarme de la infinidad de días con la Dra. Ana López en su despacho, por teléfono, por Teams... siempre dispuesta, resolutiva y pragmática. Muchas gracias por caminar a mi lado en todo momento, sin ti, no habría sido posible.

También quiero agradecer a mis compañeros del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Severo Ochoa: Amparo, Bea, Elena, Paco, Estrella, Lorena y otros tantos que me habéis animado en este camino, escuchado y confortado.

De la misma forma que mis amigas, que a pesar de que no nos vemos lo que nos gustaría, conocéis cada paso y me habéis impreso el coraje que necesitaba en cada situación.

A mi familia, ¿qué deciros que no sepáis? A mis padres que, como siempre, me habéis dado fuerza, sostenido y apoyado. Sois mi faro. Gracias por vuestro amor y confianza. A mi hermana, que ya no sé quién es la mayor y quién la pequeña. Aprendo de ti cada día. Gracias por tus consejos y tu gran ayuda. Y a Odín, el compañero más maravilloso que podría tener, gracias por sacarme una sonrisa, cuidarme, apoyarme y animarme todo este tiempo. A tu lado soy más.

Y, por último, dar las gracias a los pacientes que participaron en el estudio, porque detrás de los datos, los números, las estadísticas... hay personas con deseos, con anhelos, con historias... A ellos, gracias.

*La investigación recogida en esta Tesis Doctoral se ha realizado dentro de un proyecto financiado por la VIII convocatoria Proyectos de Investigación Fundación Universidad Alfonso X el Sabio y Grupo Santander.*

# Índice

<b>Abreviaturas</b> .....	<b>I</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>V</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>XI</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>Cáncer colorrectal</b> .....	<b>3</b>
<b>Cáncer de cabeza y cuello</b> .....	<b>6</b>
<b>Anticuerpos monoclonales</b> .....	<b>8</b>
Farmacocinética .....	10
<i>Distribución</i> .....	11
<i>Eliminación</i> .....	13
Eliminación mediada por diana .....	14
Eliminación mediada por FcR .....	16
Inmunogenicidad .....	17
Interacciones farmacológicas .....	18
Determinaciones analíticas .....	19
<b>Modelos farmacocinéticos para mAbs</b> .....	<b>20</b>
Modelo farmacocinético poblacional .....	22
<i>Variabilidad farmacocinética de los mAbs</i> .....	27
<i>Modelos exposición-respuesta</i> .....	28
<b>Bevacizumab</b> .....	<b>29</b>
<b>Cetuximab</b> .....	<b>33</b>
<b>Monitorización terapéutica de fármacos en Oncología</b> .....	<b>36</b>
¿Por qué medir niveles de mAbs en Oncología? .....	38
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>43</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>45</b>
Objetivo principal .....	45
Objetivos secundarios .....	45
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>47</b>

<b>Diseño del estudio .....</b>	<b>49</b>
<b>Población de estudio .....</b>	<b>51</b>
<b>Tratamientos .....</b>	<b>52</b>
<b>Determinación de las concentraciones de bevacizumab y cetuximab .....</b>	<b>53</b>
<b>VARIABLES RECOGIDAS .....</b>	<b>54</b>
<b>Criterios de valoración clínicos .....</b>	<b>56</b>
<b>Preprocesamiento de datos .....</b>	<b>56</b>
<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>57</b>
<b>Fuentes de información y estrategia de búsqueda bibliográfica .....</b>	<b>59</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>63</b>
<b>Bevacizumab .....</b>	<b>65</b>
Análisis descriptivo de pacientes y C <sup>ss</sup> min del grupo de tratamiento con bevacizumab....	65
Análisis descriptivo de las C <sup>ss</sup> min de bevacizumab según tasa de control de la enfermedad .....	68
Relación exposición-respuesta.....	69
Relación entre la C <sup>ss</sup> min y la supervivencia .....	71
Valor de C <sup>ss</sup> min con mayor probabilidad de beneficio clínico .....	72
Relación entre la C <sup>ss</sup> min y los efectos adversos .....	73
Relación entre la C <sup>ss</sup> min y el nivel de funcionalidad.....	74
Relación entre la primera C <sup>ss</sup> min y la posología .....	74
Análisis univariable de Cox.....	75
<b>Cetuximab .....</b>	<b>76</b>
Análisis descriptivo de pacientes y C <sup>ss</sup> min de los grupos de tratamiento con cetuximab..	76
Análisis descriptivo de las C <sup>ss</sup> min de cetuximab según tasa de control de la enfermedad	79
Relación exposición-respuesta.....	80
Relación entre la C <sup>ss</sup> min y la supervivencia .....	82
<i>Cetuximab en CCRm .....</i>	<i>82</i>
<i>Cetuximab en CCyC .....</i>	<i>83</i>
Valor de C <sup>ss</sup> min con mayor probabilidad de beneficio clínico .....	84
Relación entre la C <sup>ss</sup> min y los efectos adversos .....	86

Relación entre la C <sup>ss</sup> min y el nivel de funcionalidad .....	87
Relación entre la primera C <sup>ss</sup> min y la posología .....	87
Análisis univariable de Cox .....	88
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>89</b>
<b>Bevacizumab .....</b>	<b>91</b>
<b>Cetuximab.....</b>	<b>96</b>
<b>Limitaciones, fortalezas e implicaciones .....</b>	<b>102</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>105</b>
<b>ANEXO I .....</b>	<b>109</b>
<b>Autorización del Comité de Ética.....</b>	<b>111</b>
<b>Variables del cuaderno de recogida de datos .....</b>	<b>112</b>
<b>Estrategias de búsqueda por base de datos .....</b>	<b>115</b>
Bevacizumab .....	115
<i>Estrategia de búsqueda en Cochrane .....</i>	<i>115</i>
<i>Estrategia de búsqueda en Pubmed .....</i>	<i>115</i>
<i>Estrategia de búsqueda en Embase.....</i>	<i>116</i>
Cetuximab.....	116
<i>Estrategia de búsqueda en Cochrane .....</i>	<i>116</i>
<i>Estrategia de búsqueda en Pubmed .....</i>	<i>117</i>
<i>Estrategia de búsqueda en Embase.....</i>	<i>117</i>
<b>ANEXO II .....</b>	<b>119</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>125</b>



## Abreviaturas

**ABC:** área bajo la curva

**ADA:** anticuerpos antifármaco (del inglés *Anti-Drug-Antibodies*)

**ADCC:** citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (del inglés *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*)

**ALAT:** alanina-aminotransferasa

**ASAT:** aspartato-aminotransferasa

**AUC-ROC:** área bajo la curva de características operativas del receptor (del inglés *Area Under the Curve of Receiver Characteristic Operator*)

**CCR:** cáncer colorrectal

**CCRm:** cáncer colorrectal metastásico

**CDC:** citotoxicidad dependiente del complemento (del inglés *Complement-Dependent Cytotoxicity*)

**CDRs:** regiones determinantes de la complementariedad (del inglés *Complementarity Determining Regions*)

**CEA:** antígeno carcinoembrionario (del inglés *CarcinoEmbryonic Antigen*)

**C<sub>H</sub>:** región constante de la cadena pesada de una inmunoglobulina (del inglés *Constant domain, Heavy chain*)

**C<sub>L</sub>:** región constante de la cadena ligera de una inmunoglobulina (del inglés *Constant domain, Light chain*)

**C<sub>max</sub>:** concentración máxima

**C<sub>min</sub>:** concentración mínima o valle

**C<sup>ss</sup><sub>min</sub>:** concentración mínima en estado estacionario

**CCyC:** cáncer de Cabeza y Cuello

**ECOG PS:** escala de estado funcional (del inglés *Eastern Cooperative Oncology Group Scale of Performance Status*)

**EE:** Enfermedad Estable

## Abreviaturas

**EGF:** factor de crecimiento epidérmico (del inglés *Epidermal Growth Factor*)

**EGFR:** receptor del factor de crecimiento epidérmico (del inglés *Epidermal Growth Factor Receptor*)

**ELISA:** ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*)

**EMA:** Agencia Europea del Medicamento (del inglés *European Medicines Agency*)

**EPAR:** informe de evaluación público europeo (del inglés *European Public Assessment Report*)

**Fab:** fragmento de unión al antígeno de una inmunoglobulina (del inglés *Fragment antigen-binding*)

**Fc:** fragmento cristizable de una inmunoglobulina (del inglés *Fragment crystallisable region*)

**Fc $\gamma$ R:** receptores Fc para IgG (del inglés *Fc Receptors for IgG*)

**FcRn:** receptor Fc neonatal (del inglés *neonatal Fc Receptor*)

**FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (del inglés *Food and Drug Administration*)

**GEE:** ecuaciones de estimación generalizadas (del inglés *Generalized Estimating Equations*)

**HPLC:** cromatografía líquida de alta eficacia (del inglés *High Performance Liquid Chromatography*)

**Ig:** Inmunoglobulina

**Km:** constante de Michaelis-Menten

**LC-MS/MS:** cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas (del inglés *Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometric*)

**mAb:** anticuerpo monoclonal (del inglés *monoclonal Antibody*)

**NONMEM<sup>®</sup>:** programa informático de modelado no lineal de efectos mixtos (del inglés *NONlinear Mixed- Effect Modeling*)

- PBPK:** modelo farmacocinético con base fisiológica (del inglés *Physiologically Based Pharmacokinetic*)
- PE:** Progresión de la Enfermedad
- PET:** tomografía por emisión de positrones (del inglés *Positron Emission Tomography*)
- PK-PD:** modelos exposición-repuesta o modelos farmacocinéticos-farmacodinámicos (del inglés *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic*)
- RC:** Respuesta Completa
- RECIST:** criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (del inglés *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*)
- RM:** Resonancia Magnética
- RP:** Respuesta Parcial
- SG:** Supervivencia Global
- SLP:** Supervivencia Libre de Progresión
- TAC:** Tomografía Axial Computerizada
- TDM:** monitorización terapéutica de fármacos (del inglés *Therapeutic Drug Monitoring*)
- TMDD:** disposición del fármaco mediada por diana (del inglés *Target-Mediated Drug Disposition*)
- VEGF:** factor de crecimiento del endotelio vascular (del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor*)
- V<sub>H</sub>:** región variable de la cadena pesada de una inmunoglobulina (del inglés *Variable domain, Heavy chain*)
- V<sub>L</sub>:** región variable de la cadena ligera de una inmunoglobulina (del inglés *Variable domain, Light chain*)
- V<sub>max</sub>:** tasa máxima de eliminación
- WT:** tipo silvestre (del inglés *Wild-Type*)



## Resumen

### **Evaluación de la relación exposición-respuesta de bevacizumab y de cetuximab en cáncer colorrectal metastásico y de cetuximab en cáncer de cabeza y cuello**

**Introducción:** la dosificación de los anticuerpos monoclonales (mAbs, del inglés *monoclonal Antibody*) suele basarse en el área de superficie corporal o en el peso, debido a la percepción general de que la dosificación según el tamaño corporal reduce la variabilidad interindividual en la distribución y la eliminación; aunque esta estrategia es objeto de debate. Por otro lado, también se ha sugerido que la dosificación actual de mAbs en oncología puede no ser óptima desde la perspectiva de la eficacia y el coste.

Puesto que el propósito de la monitorización es asegurar una exposición suficiente para el objetivo de eficacia, la reducción de dosis a partir de la monitorización terapéutica de fármacos (TDM, del inglés *Therapeutic Drug Monitoring*), estaría indicada tanto en el caso de pacientes con concentraciones tóxicas, como en el caso de que se disminuyera sustancialmente el coste sin impacto en la eficacia. Además, en oncología, las modificaciones de dosis suelen ser reducciones debidas a toxicidad, pero rara vez se aumenta la dosis en ausencia de esta o de eficacia. En este sentido, la TDM tiene el potencial de optimizar el uso de fármacos en la práctica clínica. No obstante, en oncología, la estrategia de monitorización de mAbs está menos desarrollada que en otras áreas y existen pocos estudios que la apoyen. Una de las razones es la falta de una concentración objetivo a alcanzar para que un mAb sea efectivo en una enfermedad determinada, información a obtener a partir de estudios farmacocinéticos-farmacodinámicos.

Los principales estudios farmacocinéticos poblacionales llevados a cabo en población oncológica en tratamiento con cetuximab o bevacizumab describen sus parámetros farmacocinéticos, la variabilidad interindividual y las covariables. En cambio, la literatura disponible sobre la relación exposición-respuesta de bevacizumab y de cetuximab es limitada y no existe un punto de corte de concentración que se haya relacionado con el control de la enfermedad para ninguno de los dos fármacos.

**Objetivos:** evaluar, en vida real, la relación entre las concentraciones valle en estado estacionario ( $C^{ss}_{min}$ ) de bevacizumab o cetuximab y el control de la enfermedad en pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm) o cáncer de cabeza y cuello (CCyC). Como objetivos secundarios se estudió la asociación entre la mediana de  $C^{ss}_{min}$  en cada paciente o la última medida con la supervivencia, así como la búsqueda de un punto de corte óptimo que se pudiera asociar con la probabilidad de beneficio clínico.

**Metodología:** estudio observacional prospectivo llevado a cabo para evaluar la asociación entre las  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab y la respuesta al tratamiento (progresión o beneficio clínico), mediante un análisis de regresión de ecuaciones de estimación generalizadas (GEE, del inglés *Generalized Estimating Equations*) para cada fármaco. Además, mediante modelos de riesgos proporcionales de Cox se evaluó la asociación entre la mediana de  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab en cada paciente o la última medida con la supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de progresión (SLP), en cada una de las patologías. Asimismo, se buscó un punto de corte óptimo a través del área bajo la curva de características operativas del receptor (AUC-ROC, del inglés *Area Under the Curve of Receiver Characteristic Operator*).

**Resultados:** se analizaron 50 muestras en 27 pacientes con CCRm en tratamiento con bevacizumab y 30 muestras de 16 pacientes con CCRm o CCyC en tratamiento con cetuximab. No se observó una asociación positiva entre  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab y el beneficio clínico (OR 0,99; IC 95%: 0,98-1,02,  $p=0,863$ ). Sin embargo, para el mAb cetuximab, el modelo de GEE sugirió una asociación positiva entre la  $C^{ss}_{min}$  y el beneficio clínico (OR 1,02; IC 95%: 0,99-1,05,  $p=0,113$ ), aunque no alcanzara significación estadística. La regresión de Cox para bevacizumab mostró que mayores  $C^{ss}_{min}$  medianas estaban asociadas con mejores SG (HR 0,86, IC 95%: 0,73-1,01,  $p=0,060$ ) y también se observó esta relación con la última  $C^{ss}_{min}$  de cada paciente (HR=0,87, IC 95%: 0,74-1,01,  $p=0,064$ ), no así con la SLP. No obstante, estas relaciones entre la supervivencia y las  $C^{ss}_{min}$  no se observaron para cetuximab ni en CCRm ni en CCyC. El AUC-ROC de las concentraciones de cetuximab ( $n=30$ ) tuvo una moderada capacidad discriminadora (AUC-ROC 0,710, IC 95%: 0,49-0,93) y el punto de corte estimado fue de 19,12 mg/L.

**Conclusiones:** no pudimos confirmar una relación entre la  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab y el beneficio clínico, aunque se trata del primer estudio en pacientes con CCRm en práctica clínica que intenta demostrar una relación entre la  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab y el control de la enfermedad. Tampoco pudimos confirmar una relación entre la exposición a cetuximab y la eficacia, a pesar de encontrar una tendencia positiva en el control de la enfermedad con el aumento de la  $C^{SS}_{min}$ . El nivel de evidencia se vio reducido por la pequeña muestra de pacientes en cada grupo. Se necesitan estudios aleatorizados y controlados, con un número suficiente de pacientes, para evaluar adecuadamente estas relaciones.



## Abstract

### **Assessment of exposure-response relationship for bevacizumab and cetuximab in patients with metastatic colorectal cancer and for cetuximab in patients with head and neck cancer.**

**Introduction:** Dosing of mAbs is often based on body surface area or weight, because of the general perception that dosing based on patients' body size reduces inter-subject variability in distribution and elimination. However, this has recently been challenged. Furthermore, it is suggested that the current dosing of cancer mAbs may not be optimal from an efficacy-cost perspective. This is explained, considering no impact in efficacy, when dose reductions would substantially decrease the cost of treatment or in patients with very high drug concentrations. Moreover, in oncology dose modifications are usually reductions due to toxicity, but rarely is the dose increased in the absence of efficacy or toxicity.

Therapeutic drug monitoring (TDM) has the potential in oncology to optimize drug use in clinical practice. However, TDM in oncology is less developed than in other areas. Despite the fact that mAbs have many of the requisites for TDM there is a limited number of studies in oncology supporting TDM of mAbs. One of the reasons is the lack of a target concentration to be effective in each disease, information which is necessary for pharmacokinetic (PK)-pharmacodynamic studies.

Important bevacizumab and cetuximab population PK research in oncology show its parameters, the interindividual variability and the covariates. Nevertheless, limited literature is available for bevacizumab and cetuximab exposure-response relationship and there is not a concentration threshold associated with an optimal disease control.

**Aims:** This study carried in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) or head and neck cancer (HNC) aims to evaluate, in a real-life setting, the relationship between bevacizumab or cetuximab through concentrations at steady state ( $C_{\text{trough, SS}}$ ) and disease control. Test the association between the median bevacizumab or cetuximab  $C_{\text{trough, SS}}$  in each patient or the last measure with survival, as well as an optimal cut-off point, was searched.

**Methods:** A prospective observational study where  $C_{\text{trough, SS}}$  were drawn, coinciding with the radiological evaluation of the response (progression or clinical benefit). Generalized estimating equations (GEE) analysis was performed. To test the association between  $C_{\text{trough, SS}}$  with overall survival (OS) and progression-free survival (PFS), Cox proportional hazard models were developed. An optimal cut-off point was searched through the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC).

**Results:** Data included 50 bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  from 27 patients with mCRC and 30 cetuximab  $C_{\text{trough, SS}}$  from 16 patients with mCRC or HNC. The GEE model did not suggest any positive association between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit (OR 0.99, 95% CI: 0.98-1.02,  $p=0.863$ ). However, a positive association between cetuximab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit (OR 1.02, 95% CI: 0.99-1.05,  $p=0.113$ ) was observed, although not statistically significant. The Cox regression showed that higher bevacizumab median  $C_{\text{trough, SS}}$  was associated with better OS (HR 0.86, 95% CI: 0.73-1.01,  $p=0.060$ ) and this relationship was also found with last  $C_{\text{trough, SS}}$  (HR 0.87, 95% CI: 0.74-1.01,  $p=0.064$ ), but not with PFS. Conversely, no association was observed between cetuximab  $C_{\text{trough, SS}}$  with survival neither in mCRC nor HNC. On the other hand, only the cetuximab AUC-ROC ( $n=30$ ) had a discrimination ability (AUC-ROC 0.71, 95% CI: 0.49-0.93) and the empirical optimal cut-off point was 19,12 mg/L.

**Conclusion:** We cannot confirm a relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit but this is the first real-world study trying to show a relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and disease control in mCRC. We cannot confirm either a relationship between cetuximab  $C_{\text{trough, SS}}$  and disease control despite the positive association. This study was conducted in a small sample size which reduces the power analysis. Further controlled randomised studies with a sufficient number of patients are required.

# Introducción



## Cáncer colorrectal

La estimación de cáncer colorrectal (CCR) en España para el año 2021 es de 43.581 nuevos casos (29.372 de colon y 14.209 de recto), representando el primer tumor más común en ambos sexos (16% de todos los tumores), según datos de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN) (1). Se trata de un tumor que es más frecuente en hombres (25.678) que en mujeres (17.903) (1) y con una tasa de mortalidad alta, representando el segundo tumor en número de muertes estimadas en 2020 (16.470 fallecimientos, 15% de todos los tumores) (2), debido a que el 25% de los pacientes tienen enfermedad metastásica al diagnóstico y un 50% desarrolla metástasis (3). Además, es el tercer tumor más prevalente en la población española (120.670 personas estimadas en el año 2020, prevalencia a los 5 años) (2).

La incidencia de la enfermedad está relacionada con el sexo masculino y la edad, según se ha observado en estudios epidemiológicos (4). Aunque en su desarrollo juegan un papel tanto los factores hereditarios (síndromes de CCR hereditario o historia familiar positiva) como los ambientales (4). En este sentido, los factores modificables que aumentan el riesgo son: hábito tabáquico, consumo de carne procesada y carne roja, ingesta alcohólica, baja ingesta de vegetales y frutas, grasa corporal y obesidad.

Desde el punto de vista etiopatogénico existe una heterogeneidad importante que hace que, para subdividir taxonómicamente el CCR, se necesite caracterizar la lesión precursora del tumor, la patogénesis molecular, la distribución de la lesión y el fenotipo morfológico (5). El 70-90% de los CCR provienen de lesiones precursoras de adenocarcinoma y el 10-20% por otra vía alternativa, la cual puede ser iniciada por una mutación genética en los genes BRAF o KRAS (4). Por otro lado, se ha observado una sobreexpresión de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR<sup>1</sup>) en el 25-77% de los CCR (6).

Además, existen diferencias moleculares, embriológicas, biológicas y anatómicas entre el cáncer de colon del lado derecho (o proximal) y el cáncer de

---

<sup>1</sup> Del inglés *Epidermal Growth Factor Receptor*

colon izquierdo (o distal) y recto. El colon derecho engloba ciego, colon ascendente y 2/3 del colon transverso. El colon izquierdo engloba 1/3 del colon transverso, colon descendente, sigma y recto sigma. En relación a la evolución de los pacientes, se ha evidenciado que los pacientes metastásicos con localización del tumor primario en hemicolon derecho, tienen peor pronóstico global y responden peor a la quimioterapia y a los fármacos anti-EGFR (cetuximab y panitumumab) (4).

Existen cuatro subtipos moleculares de CCR (7): inestabilidad de microsatélites inmune y metabólico, más frecuentes en CCR derecho, y canónico y mesenquimal, más frecuentes en CCR izquierdo y de recto (8). Aunque la lateralidad y el estado mutacional del RAS y RAF siguen siendo los factores que ayudan a la elección del tratamiento sistémico (4).

Los signos y síntomas clínicos del CCR habitualmente se manifiestan en un estadio avanzado y son sangrado rectal (que puede estar oculto), cambio en los hábitos intestinales, anemia o dolor abdominal. El diagnóstico de CCR se realiza habitualmente por colonoscopia. Para la planificación del tratamiento más adecuado es necesario realizar un estudio completo que comprende, tanto historia clínica, como pruebas de laboratorio, radiológicas y anatomopatológicas.

En este sentido, las guías clínicas (3) recomienda realizar, al diagnóstico, una batería de pruebas: estudio de la función renal y hepática y de marcadores pronóstico. Así como la determinación del antígeno carcinoembrionario (CEA). A nivel patológico, tras la realización de una colonoscopia, estudiar el subtipo histológico, el grado tumoral, los microsatélites y el estatus mutacional del KRAS, NRAS y BRAF. Como diagnóstico por imagen, se debe realizar una exploración por tomografía computarizada (TAC) y, en algún caso, Resonancia Magnética (RM) o Tomografía por Emisión de Positrones (PET).

Tras el estudio completo, el abordaje terapéutico del CCR englobará diferentes técnicas: tratamiento endoscópico local, cirugía con intención curativa, radioterapia, quimioradioterapia, quimioterapia adyuvante o quimioterapia en combinación con un fármaco biológico.

Centrándonos en la enfermedad metastásica, los biomarcadores de pronóstico clásicos (factores pronóstico de supervivencia) (3) más importantes son:

ECOG PS<sup>2</sup>, lactato deshidrogenasa y el número de sitios metastásicos. Otros biomarcadores son: recuento de células sanguíneas de la serie blanca, fosfatasa alcalina, bilirrubina y albúmina.

Si hablamos de biomarcadores predictivos, los pacientes con mutaciones activadoras del RAS (KRAS/NRAS) tienen resistencia de las células tumorales a los anticuerpos monoclonales (mAb<sup>3</sup>) dirigidos a los EGFR y son, por tanto, factores predictivos negativos de respuesta a los anti-EGFR, como cetuximab. Su uso está indicado en pacientes con tumores RAS wild-type (3).

Por lo tanto, el tratamiento sistémico del CCR metastásico (CCRm) va a depender de biomarcadores predictivos específicos del tumor y del paciente. Habitualmente, se combina quimioterapia (fluorouracilo o capecitabina, oxaliplatino, irinotecan) con fármacos biológicos. Los fármacos biológicos pueden ser anti-factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF<sup>4</sup>), como bevacizumab (9), aflibercept (10) y ramucirumab (11), o anti-EGFR, como cetuximab (12) o panitumumab (13). Además, existen nuevos tratamientos como regorafenib (14) o trifluridina/tipiracilo (15) o inmunoterapia con pembrolizumab (16) o con nivolumab (4) (no aprobada aún por la EMA<sup>5</sup>).

Existe evidencia de que los pacientes con tumores primarios en el colon derecho no se benefician del uso de cetuximab y panitumumab en primera línea de la enfermedad metastásica (17–19), aunque hay controversia (20). En este sentido, las guías de práctica clínica americanas NCCN<sup>6</sup> (21) recomiendan su uso solo en pacientes con genes KRAS/NRAS/BRAF no mutados (wild type) y tumores del colon izquierdo. Sin embargo, la posición de las guías ESMO<sup>7</sup> (22) es más controvertida en este sentido.

---

<sup>2</sup> Del inglés *Eastern Cooperative Oncology Group Scale of Performance Status*

<sup>3</sup> Del inglés *monoclonal Antibody*

<sup>4</sup> Del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor*

<sup>5</sup> Del inglés *European Medicines Agency*

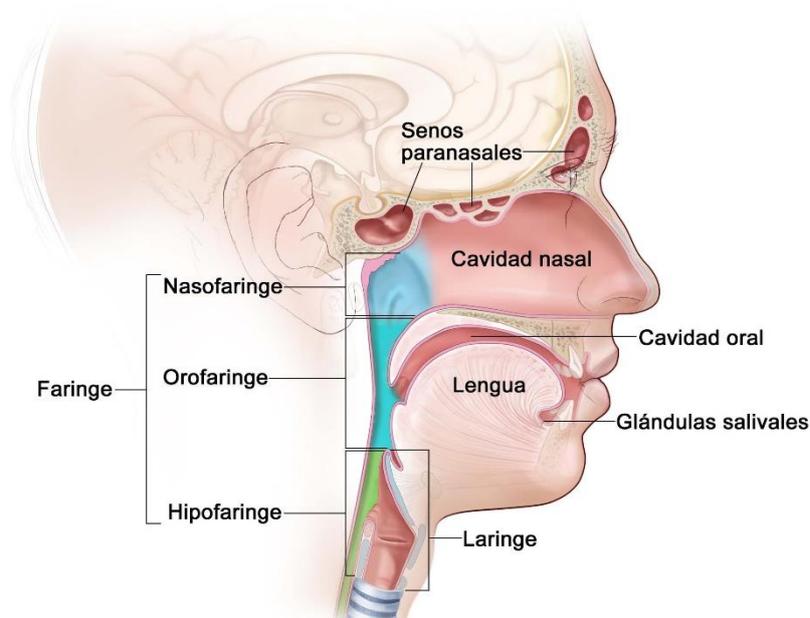
<sup>6</sup> Del inglés *National Comprehensive Cancer Network*

<sup>7</sup> Del inglés *European Society for Medical Oncology*

Hasta el momento, los pacientes con CCRm del colon izquierdo RAS y RAF wild-type, pueden ser tratados en primera línea tanto con anti-EGFR (cetuximab o panitumumab) como con anti-VEGF (bevacizumab) (23,24).

## Cáncer de cabeza y cuello

Los cánceres de cabeza y cuello son tumores malignos localizados en el tracto aerodigestivo superior: senos paranasales, nasofaringe, orofaringe, hipofaringe, laringe, cavidad oral, fosas nasales y glándulas salivales (Figura 1). Cada localización tiene distinta presentación clínica, estadiaje, pronóstico y tratamiento (25,26).



**Figura 1. Regiones en el cáncer de cabeza y cuello.** (For the National Cancer Institute © (copyright 2012) Terese Winslow LLC, U.S. Govt. has certain rights).

La estimación de cáncer de cabeza y cuello (CCyC) en España para el año 2021 fue de 11.297 nuevos casos (8.188 de cavidad oral y faringe y 3.109 de laringe), lo que supone el 4% de los nuevos diagnósticos de cáncer (1). Se trata también de un tumor que es más frecuente en hombres (8.435) que en mujeres (2.862) (1) y con una tasa de mortalidad estimada en 2020 de en torno al 4% de todos los tumores (4.023 fallecimientos) (2). La prevalencia a 5 años en 2020 fue de 33.450 personas (2).

Los factores de riesgo más importantes de este tipo de cáncer son el alcohol y el tabaco, responsables del 75-85% de los casos (25,27). Asimismo, el virus del papiloma humano está relacionado con el carcinoma orofaríngeo hasta en un 30-35% de los casos (26,28). Los tumores que inducen unos y otros factores difieren a nivel clínico y molecular (29).

Los síntomas que pueden hacer sospechar un CCyC son: dolor crónico en la garganta, ronquera persistente, dolor de lengua crónico o úlceras que no cicatrizan o manchas rojas/blancas en la boca, dolor o dificultad para tragar y masas en el cuello (27).

Las guías clínicas (25,27) recomiendan un estadiaje adecuado al diagnóstico, basado en realización de: historia clínica, examen físico, examen endoscópico, diagnóstico histológico (biopsia), diagnóstico por imagen (TAC, RM o PET), evaluación funcional (capacidad de deglución, fonación, respiración, etc.) y pruebas de laboratorio. Este estadiaje predice las tasas de supervivencia y el manejo clínico, el cual será diferente si se trata de enfermedad temprana o localmente avanzada (resecable o irresecable).

Aunque el estadiaje y el tratamiento difieren según el sitio anatómico, generalmente la enfermedad temprana implica tumores más pequeños sin gran compromiso de los ganglios linfáticos y, la enfermedad localmente avanzada, se caracteriza por grandes tumores con invasión de las estructuras circundantes o un aumento en el número de ganglios linfáticos implicados o diseminación metastásica a distancia (26,27).

La mayoría de los tumores (90%) son de histología escamosa (25) y sobreexpresan EGFR en el 80-90%, que es un factor pronóstico independiente, puesto que niveles tumorales elevados de EGFR se han correlacionado con enfermedad avanzada, mayor tamaño tumoral, disminución de la supervivencia y menor sensibilidad al tratamiento radioterápico (30,31).

Aproximadamente un tercio de los pacientes debutan con enfermedad temprana, con altas posibilidades de curación con cirugía o radioterapia (25,26). Los dos tercios restantes son diagnosticados con enfermedad localmente avanzada, que conlleva un alto riesgo de recurrencia local y metástasis a distancia,

con pobre pronóstico (26). El tratamiento de estos pacientes consiste en cirugía, radioterapia y/o quimioterapia basada en platinos (25,26).

El tratamiento con el mAb cetuximab está indicado en los estadios localmente avanzados en combinación con radioterapia (12,31–34) y en la enfermedad recurrente y metastásica, tanto en primera como en segunda línea de tratamiento (12,25,31). Además, es el único fármaco anti-EGFR que ha sido aprobado hasta el momento en el carcinoma celular escamoso de CCyC (31,32).

## Anticuerpos monoclonales

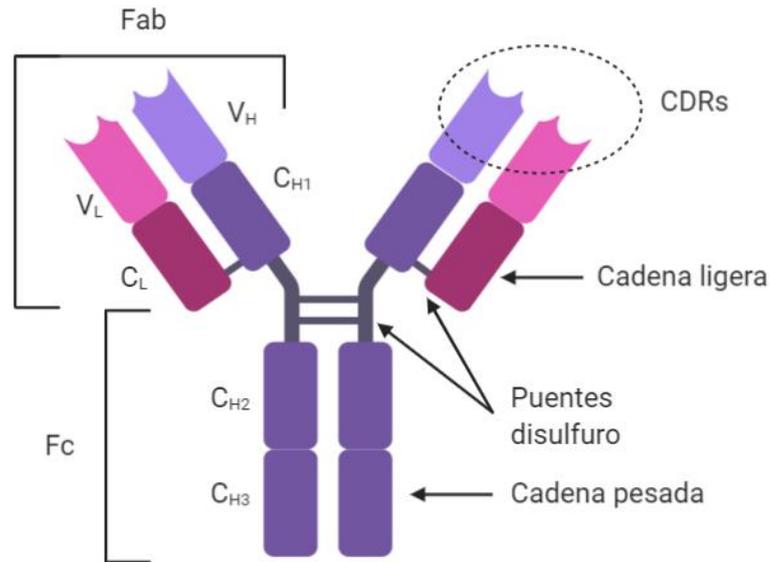
Las inmunoglobulinas (Ig) o anticuerpos humanos constituyen la respuesta inmunitaria humoral. Son proteínas con una estructura básica compuesta por 4 cadenas de polipéptidos (35,36) (Figura 2): 2 cadenas pesadas idénticas y 2 cadenas ligeras también idénticas, unidas por puentes disulfuro. A su vez, las cadenas pesadas disponen de una región variable ( $V_H$ ) y tres regiones constantes ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ ) y las cadenas ligeras disponen de una región variable ( $V_L$ ) y una región constante ( $C_L$ ). Las regiones  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  y  $C_{H1}$  constituyen el fragmento de unión al antígeno (Fab), donde se encuentran tres zonas denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDRs<sup>8</sup>) que son regiones hipervariables que están relacionadas con la afinidad y especificidad del mAb por un determinado epítipo del antígeno. El fragmento cristizable (Fc) lo forman los dominios  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ , cuya función es la unión a los receptores de la superficie celular y a los componentes del sistema del complemento, con capacidad para desencadenar citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC<sup>9</sup>) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC<sup>10</sup>), respectivamente.

---

<sup>8</sup> Del inglés *Complementarity Determining Region*

<sup>9</sup> Del inglés *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*

<sup>10</sup> Del inglés *Complement-Dependent Cytotoxicity*



**Figura 2. Estructura de una inmunoglobulina:** V<sub>H</sub>: región variable de la cadena pesadas; V<sub>L</sub>: región variable de la cadena ligera; C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub>: regiones constantes de la cadena pesada; C<sub>L</sub>: región constante de la cadena ligera; CDRs: regiones determinantes de la complementariedad; Fab: fragmento de unión al antígeno; Fc: fragmento cristalizable.

Existen cinco clases de Ig humanas: IgG, IgA, IgM, IgE e IgD, que se diferencian por sus cadenas pesadas:  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\epsilon$  y  $\delta$ , respectivamente (37). La IgG representa el 70-80% del total de las inmunoglobulinas séricas, con una concentración sérica de 12 mg/mL (37,38) y un peso molecular de alrededor de ~150 kDa (39). La IgG se divide en cuatro subclases: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, que se diferencian en la estructura de la cadena pesada  $\gamma$  (37). Además, estas Ig tienen semividas de eliminación mayores (20-21 días) que las de las otras clases de Ig (excepto la IgG<sub>3</sub> que tiene solo 7 días) (38–41).

Los anticuerpos monoclonales (mAb) son medicamentos biotecnológicos obtenidos por tecnología del ADN recombinante (42) y la EMA es la responsable de su comercialización en la Unión Europea mediante *procedimiento centralizado de autorización* (43). La actividad biológica de estas moléculas está condicionada en gran medida por su estructura, por el grado y el patrón de glicosilación y el perfil de isoformas del producto final. Por ello, se dice que en biotecnología “el proceso es el producto”.

Los mAbs utilizados en clínica son IgG, habitualmente IgG<sub>1</sub> (44). Inicialmente, la estructura de los mAbs era 100% de origen murino pero debido a su potencial inmunógeno se desarrollaron nuevos mAbs. Estos nuevos mAbs cada vez han incorporado mayor porcentaje de origen humano en su estructura. Así, los mAbs quiméricos tienen un 67% de origen humano en su estructura, los mAbs humanizados entre un 90 y un 95% y los totalmente humanos el 100% (39). A pesar de ello, el potencial inmunógeno no ha desaparecido y pueden desencadenar la formación de anticuerpos humanos contra el mAb (ADA<sup>11</sup>). Además de producir reacciones alérgicas, la respuesta inmune influye también en la distribución y la eliminación de los mAb (45).

Los mAb realizan su efecto farmacológico por acción directa, uniéndose a su diana, y/o por acción indirecta mediada por el sistema inmunitario: ADCC y/o CDC (46).

## **Farmacocinética**

Los mAbs tienen unos mecanismos de distribución y eliminación complejos que no han sido totalmente dilucidados (47).

Además, los pacientes presentan una gran variabilidad en la respuesta a la mayoría de los mAbs, que es debida, en parte, a su gran variabilidad farmacocinética interindividual (35,48–52). La variabilidad interindividual hace referencia a la amplia variación en la exposición sistémica entre pacientes a los que se les administra la misma dosis (53). Ésta puede explicarse por varios factores individuales, como son (48): el tamaño corporal (medido como peso, altura o peso magro), el sexo, la albúmina y los ADA. En términos generales ocurre que el tamaño corporal aumenta el volumen de distribución y el aclaramiento; que los hombres tienen mayor volumen de distribución y aclaramiento; que a menor cantidad de albúmina mayor aclaramiento y que los ADA aumentan el aclaramiento. Como veremos más adelante, estos factores son utilizados como covariables de los parámetros farmacocinéticos en los modelos poblacionales.

---

<sup>11</sup> del inglés *Anti-Drug-Antibodies*

Por otro lado, se han visto diferencias en el grado de aclaramiento de mAbs oncológicos en función del tipo de tumor, aunque se desconoce el motivo (50).

Dado que la vía de administración intravenosa es la vía de administración más común de estos fármacos (seguida de la administración subcutánea e intramuscular) y que los mAbs objeto de la presente tesis, bevacizumab y cetuximab, se administran, hoy en día, exclusivamente por perfusión intravenosa, nos centraremos en los procesos farmacocinéticos que sufren estos fármacos una vez administrados: distribución y eliminación.

## Distribución

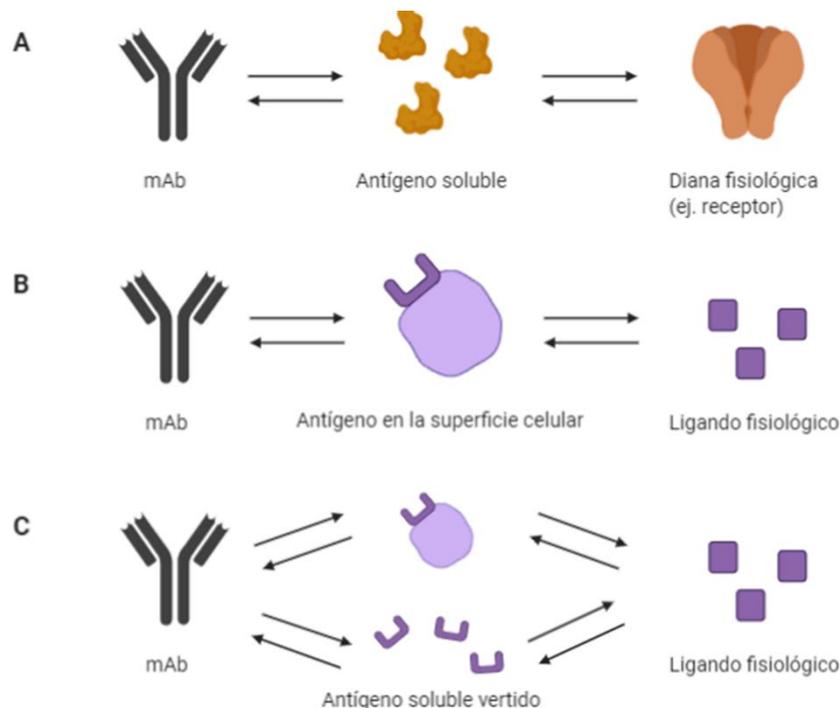
Tras la administración intravenosa de un mAb, como proteína que es, su curva concentración plasmática-tiempo tiene un perfil biexponencial (54). Esta farmacocinética ha sido descrita mediante modelos bicompartimentales con transferencia reversible entre el compartimento central ( $C_1$ ) y el compartimento periférico ( $C_2$ ) (35,36,39,47,48).

Desde el torrente sanguíneo un mAb debe extravasar a tejidos para distribuirse en el espacio intersticial. La extravasación se puede producir mediante tres vías (36,38):

- Difusión pasiva: no es la vía habitual debido a las propiedades fisicoquímicas y el gran tamaño molecular de los mAbs.
- Transporte convectivo: la vía principal. Depende del gradiente hidrostático y oncótico sangre-tejido y de los poros paracelulares del epitelio vascular. También tiene relevancia en su distribución dentro del fluido intersticial y hacia los capilares linfáticos (55,56).
- Transcitosis a través de las células del endotelio vascular (57). Es un proceso endocítico que puede estar mediado por receptor o no (fagocitosis y pinocitosis). En esta vía está involucrado el receptor Fc neonatal (FcRn) (45,57,58).

Una vez en el espacio intersticial, la difusión por el mismo depende de fenómenos de difusión, convección y afinidad por sus antígenos o receptores celulares.

La unión del mAb puede darse a través de la región Fc (no específica) o de la Fab (específica) (38). Esta unión, aunque es no covalente y reversible (40,59), tiene constantes de afinidad muy altas, del orden de  $10^{10}$ - $10^{11}$  M (38). Dependiendo del tipo de antígeno se producen distintos tipos de equilibrios como se muestra en la Figura 3. Si el antígeno es soluble, la unión del mAb con el antígeno crea un complejo que reduce la cantidad de antígeno circulante y por tanto su acción. En el caso de antígenos presentes en la superficie de las células (receptores o enzimas), los mAbs pueden unirse a ellos y provocar una respuesta por ADCC o por CDC o desencadenar otro tipo de acciones como: evitar una interacción productiva del receptor, provocar la internalización y pérdida del antígeno diana o provocar el vertido del receptor a la circulación sistémica, disminuyendo de este modo el número de células receptor positivas (60).



**Figura 3. Equilibrio de unión para diferentes tipos de antígenos:** (A) una sustancia soluble, (B) un receptor o enzima de la superficie celular y (C) un receptor o una enzima de la superficie celular que se vierte a la circulación sistémica. Adaptado de (Katharina Kuester y Charlotte Kloft. *Pharmacokinetics of monoclonal antibodies*. En: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biotech drugs: principles and case studies in drug development*. 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 45-92).

La filtración endotelial, la difusión a través del fluido intersticial y el transporte linfático, y por tanto el aclaramiento, pueden estar influidos por el estado de la enfermedad y por la edad (50). En pacientes con cáncer, la distribución de los mAbs, además, puede estar influida por la anatomía del tumor, la fisiología y la carga antigénica (50,61). Esto es debido a que la presión hidrostática en el líquido intersticial de los tumores es elevada y muy variable, lo que hace que los mAbs se distribuyan de manera reducida en el intersticio tumoral. Asimismo, una alta concentración del antígeno en las células de la superficie del tumor puede evitar la distribución del mAb a su interior porque éstos se queden en la periferia (distribución heterogénea) (50).

## Eliminación

Las dos vías principales de eliminación de los fármacos del organismo son el metabolismo y la excreción. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, la vía de eliminación renal para los mAbs es despreciable por su gran tamaño molecular (38,47).

La revisión de Ryman y Meibohm (36) recoge que los anticuerpos IgG son eliminados habitualmente por catabolismo intracelular, a través de la degradación en lisosomas. En la revisión de Keizer y cols. (47) se indica que, además, se metabolizan por proteólisis en el hígado.

Los mecanismos que median la internalización celular son la endocitosis mediada por receptor y la pinocitosis (35):

- En la endocitosis mediada por receptor, la unión del mAb al receptor desencadena una internalización endocítica en una vesícula y su posterior degradación lisosómica. Puede producirse por la unión al receptor de dos maneras:
  - Disposición del fármaco mediada por la diana terapéutica (TMDD<sup>12</sup>) (62): por la unión específica del fragmento Fab con su epítipo antigénico.

---

<sup>12</sup> Del inglés *Target-Mediated Drug Disposition*

- Unión del dominio Fc a receptores Fc-gamma (Fc $\gamma$ Rs) que se encuentran en multitud de células inmunitarias (monocitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células natural killer, linfocitos B) y hepatocitos (37).
- La pinocitosis, en cambio, es un proceso inespecífico que ocurre por endocitosis en las células endoteliales de los capilares sanguíneos. Al tratarse de un proceso inespecífico las IgG disponen de un mecanismo protector frente a la degradación por esta vía: el receptor Brambell o FcRn (63). El adjetivo neonatal procede de su rol biológico en neonatos, puesto que facilita la re-sorción de las IgG de la leche materna. El FcRn se incorpora a los endosomas y las IgG que se unen a él no sufren degradación proteolítica en el lisosoma y son recicladas a la circulación sistémica o, por transcitosis, al espacio intersticial (64). Por la unión al FcRn, las IgG endógenas tienen una larga semivida de eliminación ( $t_{1/2\beta}$ ), de entre 18 y 21 días, comparándolo con otras clases de Ig (38,45,48,65). El FcRn también es utilizado por la albúmina (63,66) y se expresa en las células endoteliales renales, hígado, pulmones, macrófagos intestinales, monocitos y células dendríticas (45).

Así pues, los mecanismos de aclaramiento de los fármacos mAb en el organismo los podemos englobar en dos (35,36):

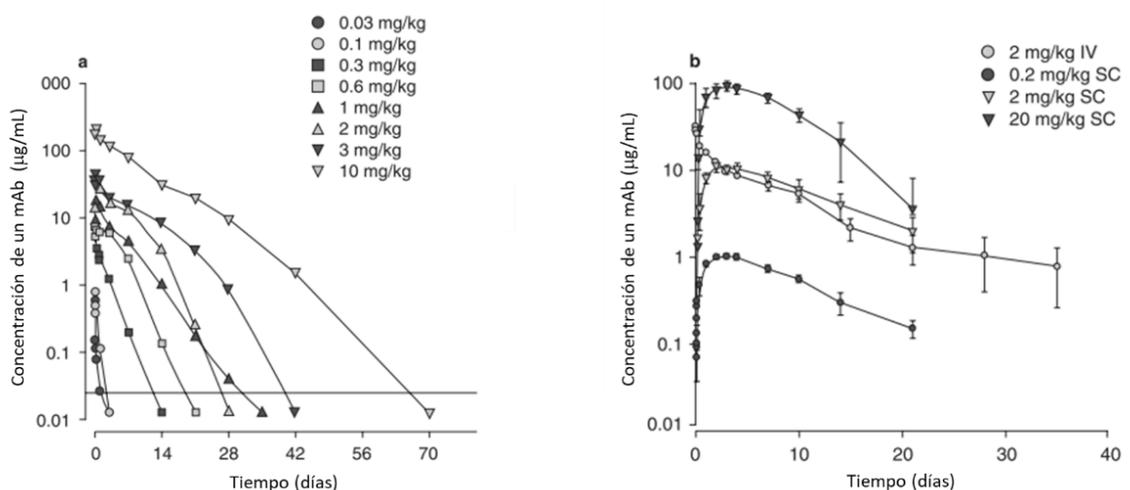
- Eliminación mediada por diana: se produce por la interacción específica entre la región Fab del mAb y su diana farmacológica. Es una eliminación no lineal.
- Eliminación mediada por FcR: se produce por interacción entre la región Fc del mAb y los receptores Fc (FcRn y Fc $\gamma$ R). Es una eliminación no específica y responde a un aclaramiento lineal.

### ***Eliminación mediada por diana***

También se conoce como TMDD, en el que la interacción entre un fármaco y su diana farmacológica influye en sus características farmacocinéticas (67). Estos fármacos generalmente poseen una eliminación no lineal dosis dependiente (60).

El aclaramiento no lineal dosis dependiente está definido por parámetros de tipo Michaelis-Menten:  $V_{max}$  y  $K_m$ . Siendo  $V_{max}$  la tasa máxima de eliminación y  $K_m$  (constante de Michaelis-Menten) la concentración del mAb en la que la velocidad de eliminación es la mitad de la velocidad máxima. Es esperable que estos parámetros sean específicos de un mAb y su diana farmacológica (68). En este sentido,  $V_{max}$  depende del número de dianas farmacológicas dentro del espacio de distribución del mAb y  $K_m$  está relacionada con la afinidad del mAb por su diana.

A bajas dosis de fármaco, con las que no se satura la diana farmacológica, la semivida de eliminación es menor. Sin embargo, a medida que se aumenta la dosis, y la unión a la diana se satura, se produce un aumento de la semivida de eliminación y una disminución de la tasa de aclaramiento (50,69). Por ello, los mAbs con esta distribución y eliminación, tendrán diferencias interindividuales debidas a la cantidad de antígeno diana (50). Ver Figura 4.



**Figura 4. Perfiles concentración-tiempo de un mAb con farmacocinética no lineal (a) y un mAb con farmacocinética lineal (b).** Adaptado de (Mould DR, Green B. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies: Concepts and lessons for drug development*. *Bio-Drugs*. 2010;24(1):23–39).

Este tipo de eliminación ocurre cuando un mAb se une a su receptor en la superficie celular. Dado que el número de receptores presentes en el medio

donde está distribuido el mAb es limitado, los receptores pueden llegar a saturarse a dosis terapéuticas del mAb, produciéndose un aclaramiento no lineal (70).

Por lo tanto, la tasa de eliminación a través de esta vía depende de la cantidad del receptor diana, la afinidad del mAb por el receptor, la dosis de mAb, la tasa de internalización y la tasa de catabolismo dentro de la célula (36).

Además, algunas proteínas de membrana vierten sus ectodominios. Así, estos antígenos solubles pueden unirse al mAb en la circulación sistémica y reducir el número de mAbs disponibles para unirse al antígeno de la superficie celular, reduciendo de este modo su eficacia (50). En los pacientes los niveles de antígeno soluble varían ampliamente y, para ciertos tumores, están correlacionados con la progresión de la enfermedad (50).

Asimismo, se ha sugerido que el complejo mAb-antígeno soluble se puede unir a receptores  $Fc\gamma$  de células inmunitarias, como monocitos y macrófagos, y desencadenar su internalización y catabolismo (55).

### ***Eliminación mediada por FcR***

La fagocitosis, es una vía de eliminación común para IgG endógenas y mAbs IgG de uso en clínica con región Fc humana y, a su vez, es independiente de la unión del mAb a su antígeno. La internalización de la IgG se produce tras la unión del Fc del anticuerpo al receptor  $Fc\gamma$  que expresan las células inmunitarias y hepatocitos (35,47,71).

El catabolismo de los mAbs mediado por receptores  $Fc\gamma$  parece que también juega un rol importante en la ADCC (72) y su actividad está relacionada con la edad, la patología, el genotipo de  $Fc\gamma R$  y la raza (50).

Como se ha mencionado previamente, las IgG disponen de un mecanismo protector frente a la degradación, el FcRn. Cuando un mAb sufre pino o endocitosis, el endosoma que se forma es ligeramente ácido lo que favorece la unión de la IgG al FcRn (unión pH-dependiente). Las proteínas que no están unidas al FcRn son liberadas al lisosoma para su degradación, mientras que las IgG unidas son liberadas en la superficie celular. Una vez que el complejo IgG-

FcRn se encuentra en la superficie celular, a consecuencia del pH fisiológico, la IgG se libera al espacio extracelular.

La vía del FcRn no llega a saturarse con la administración de mAbs terapéuticos porque este mecanismo no se satura con las IgG endógenas (47,55,70), cuyas cantidades oscilan en los humanos entre los 50 y los 100 g (55) o en torno a 5 g/L (47). Las dosis habitualmente utilizadas en clínica (< 10 mg/Kg) (55) o sus concentraciones plasmáticas máximas al final de la infusión (0,7-0,9 mg/mL) (38) incrementarían la cantidad de IgG corporal total menos de un 1-2% (55).

Parece que la cantidad de FcRn cambia con la edad, y que el aclaramiento total de los mAbs no aumenta en la misma proporción que el peso corporal, lo que hace que al dosificar los mAbs por peso se obtenga una menor exposición del fármaco en los pacientes pediátricos que en los adultos, por ejemplo (50). En la actividad del FcRn también influyen la enfermedad, el genotipo y la raza (50).

## ***Inmunogenicidad***

La inmunogenicidad es la capacidad de una sustancia de causar una respuesta inmunitaria. Como indican Ryman y Meibohm (36), en el caso de los mAbs, la formación de ADA está relacionada con el porcentaje de la proteína que es no humana (quiméricos > humanizados > humanos), la vía de administración (mayor inmunogenicidad para la subcutánea que para la intravenosa o intramuscular), la dosis (menor dosis, mayor inmunogenicidad) y la duración del tratamiento (mayor duración, más probabilidad). En otras revisiones, además, se añade el estado inmunológico del paciente y la frecuencia de dosificación (73), la edad, la formulación del medicamento y la medicación concomitante (50). Todo ello muestra que la formación de ADA está también sujeta a una gran variabilidad interindividual (74).

La unión de los ADA a los mAbs, que puede ser también tanto a la región Fc como a la Fab (74,75) y policlonal (50), altera su farmacocinética (aclaramiento y distribución) y, por tanto, su eficacia (47,74). Esta respuesta inmunitaria puede constituir una tercera vía de eliminación, por neutralización (38), en la que los complejos circulantes ADA-mAb se eliminan por el sistema retículo endotelial del hígado y el bazo mediante degradación en los lisosomas (76).

Además, la maduración de la afinidad de unión de los ADA puede conducir a un aumento del aclaramiento del mAb con el tiempo, lo que podría contribuir a la variabilidad farmacocinética interindividual de los pacientes en función del momento del tratamiento (50). A este respecto, se han comunicado concentraciones valle, eficacias menores y aclaramientos más elevados, en pacientes en tratamiento con mAbs y formación de ADA (50).

Por otro lado, el desarrollo de ADA podría conllevar un mayor riesgo de toxicidad debido a la respuesta inmunitaria (74).

Sin embargo, en los pacientes con cáncer, es menos probable la producción de ADA que en otras enfermedades, dado que su sistema inmunitario está más deprimido por la enfermedad o la quimioterapia (77). Las consecuencias de la formación de ADA en el tratamiento oncológico con medicamentos biológicos no están claras, puesto que solo un porcentaje pequeño de pacientes forman ADA y estos ADA a menudo no tienen efecto clínico (74).

## **Interacciones farmacológicas**

De inicio no se esperan interacciones farmacocinéticas entre fármacos convencionales de síntesis química y los mAbs, puesto que éstos no son sustratos del citocromo P-450 ni de la glicoproteína P (35,47,70,78,79).

Es por ello que el desarrollo clínico de los mAbs generalmente no incluye estudios de interacción fármaco-fármaco *in vitro* o *in vivo* con sustratos, inductores o inhibidores de citocromo P-450 (38,71). Además, las guías científicas sobre medicamentos de uso humano armonizadas por la ICH<sup>13</sup> y publicadas por la EMA, en el documento *Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals* (80), establecen que es de esperar que los medicamentos derivados de la biotecnología se metabolicen a pequeños péptidos y a aminoácidos y que, por tanto, los estudios de biotransformación clásicos no son necesarios con estos medicamentos.

---

<sup>13</sup> Del inglés *International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*

Sin embargo, los mAbs alteran el estado inmunológico del paciente y pueden afectar a la farmacocinética de otros fármacos de manera indirecta, a través de las citoquinas proinflamatorias y su influencia en la expresión de citocromos y transportadores (81). Del mismo modo, los fármacos convencionales pueden influir en la expresión de los Fc $\gamma$ R o en la modulación de la interacción del mAb con este receptor (70).

Aunque actualmente la información que se encuentra es muy limitada (81), sí que existen algunas publicaciones que recogen de manera anecdótica diferentes interacciones entre mAbs y otros fármacos (39,47,60,70,78,82,83). En consecuencia, sería necesario conocer las interacciones farmacodinámicas, tanto con fármacos convencionales, como con otros mAb administrados de manera concomitante.

## ***Determinaciones analíticas***

Las técnicas más utilizadas para el análisis de macromoléculas son el inmunoensayo, el HPLC<sup>14</sup> y el LC-MS/MS<sup>15</sup>. El inmunoensayo se basa en una reacción antígeno-anticuerpo y la técnica más utilizada es la ELISA<sup>16</sup> (84). El método de elección depende del analito, el rendimiento del ensayo requerido para cumplir con la aplicación prevista, el tiempo y el coste-efectividad. Asimismo, la sensibilidad es mayor en los inmunoensayos y la selectividad es mayor tanto en el inmunoensayo como en el LC-MS/MS en comparación con el HPLC. Si bien es cierto, el inmunoensayo tiene una relación curvilínea concentración-respuesta y el resultado es inherentemente menos preciso que para los otros dos métodos que tienen una relación lineal. Sin embargo, el inmunoensayo es sensible, consistente y muy coste-efectivo para el análisis de grandes volúmenes de muestras (84).

---

<sup>14</sup> Del inglés *High Performance Liquid Chromatography*

<sup>15</sup> Del inglés *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometric*

<sup>16</sup> Del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

Puesto que bevacizumab es una molécula bivalente con capacidad de unión a 2 moléculas de VEGF, en el suero de los pacientes tratados con bevacizumab podríamos encontrar tres especies diferentes: bevacizumab libre, bevacizumab unido a una molécula de VEGF y bevacizumab unido a 2 moléculas de VEGF (85).

Por otro lado, cetuximab también es una molécula bivalente con capacidad de unión a 2 moléculas, en este caso, de EGFR. Además, EGFR puede ser vertido al suero (EGFRs) y detectado tanto en personas sanas como enfermas. Así pues, en el suero de pacientes tratados con cetuximab podríamos encontrar tres especies diferentes de cetuximab: cetuximab libre, cetuximab unido a una molécula de EGFRs y cetuximab unido a dos moléculas de EGFRs (86).

Como sostiene el equipo francés dirigido por el doctor Paintaud, únicamente las moléculas de bevacizumab y cetuximab libres o unidas a una sola molécula de VEGF o EGFR, respectivamente, serían relevantes desde el punto de vista de la monitorización terapéutica de fármacos (85,86). Por otro lado, también discute si las concentraciones libres de mAbs son apropiadas para interpretar la relación entre exposición y respuesta, puesto que los mAbs libres en suero son los remanentes tras la unión a los antígenos diana y a los ADAs.

En consecuencia, en la monitorización de mAbs es esencial disponer de métodos estandarizados y validados para medir concentraciones y saber, con la técnica utilizada, si se está midiendo mAb libre o total (libre, unido a diana soluble y unido a ADAs) (61).

## Modelos farmacocinéticos para mAbs

Los modelos son simplificaciones de un sistema y están diseñados para proporcionar conocimiento o comprensión de éste. Los modelos farmacocinéticos son representaciones matemáticas que describen la relación entre la concentración de un fármaco y el tiempo, y ayudan a entender la variabilidad en la exposición y la respuesta a los tratamientos (50,87).

Durante las primeras aplicaciones de mAbs terapéuticos raramente se aplicaba el modelado farmacocinético. Sin embargo, a lo largo de los años se han utilizado variedad de técnicas analíticas para caracterizar su farmacocinética

(38). Existen varios métodos de modelado: análisis no compartimental, análisis compartimental individual, análisis poblacional, TMDD y farmacocinéticos con base fisiológica.

El *análisis no compartimental* parte de la premisa de que el fármaco sigue una cinética lineal, es decir, procesos de primer orden. Además, para aplicar esta metodología, se necesitan una gran cantidad de datos por individuo. Sin embargo, en el caso de los mAbs, frecuentemente nos encontramos con datos de concentración-tiempo en el que, para diferentes dosis del mAb, la pendiente de la fase terminal no es paralela (farmacocinética no lineal) (38). Del mismo modo, el *análisis farmacocinético compartimental individual* modela con farmacocinética lineal y es también inadecuado para los mAbs. Comparativamente, el *análisis farmacocinético poblacional* de los datos es el que más valor proporciona para comprender el comportamiento farmacocinético de estos medicamentos (38) y es con el que se describe la farmacocinética de la mayoría de los mAbs terapéuticos (36). Sin embargo, no ofrecen una comprensión mecanicista de los procesos subyacentes que rigen la disposición de los mAbs y asumen, generalmente, que la eliminación ocurre desde el compartimento central (39). Una variedad de ellos son los modelos farmacocinéticos-farmacodinámicos (PK-PD<sup>17</sup>), que combina características de la relación concentración-tiempo con las de efecto-concentración, en las que se incluye una medida del efecto del fármaco (87).

Los fármacos que presentan *TMDD* pueden describir su farmacocinética y la de sus dianas a través de estos modelos farmacocinéticos (48,62,88). *TMDD*, como ya se ha comentado previamente, describe el fenómeno en el que un fármaco se une con alta afinidad y de manera significativa a su diana farmacológica (receptor o enzima), de tal manera que esta interacción se refleja en las características farmacocinéticas del fármaco (67). Dentro de este grupo se incluye la endocitosis mediada por receptor. Los modelos *TMDD* (39) tienen uno o dos compartimentos para describir la eliminación lineal y la distribución y, además, describen la disposición *TMDD* no lineal, que se caracteriza por constantes

---

<sup>17</sup> Del inglés *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic*

de la síntesis y degradación de la diana, una constante de disociación del complejo fármaco-diana y una constante de internalización/degradación de dicho complejo. Dada la complejidad de este modelo, se han hecho simplificaciones del mismo (48). Se ha comprobado, en varios modelos TMDD de mAbs, que el aumento en la cantidad de antígeno estaba asociado con un aumento en la eliminación mediada por diana y, consecuentemente, una disminución de la  $t_{1/2}$  del mAb (48).

Un paso más allá lo dan los *modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK<sup>18</sup>)* (36,89–91). Estos modelos consisten en compartimentos unidos, de acuerdo con su relación anatómica, por un flujo circulatorio (39). Es decir, cada compartimento representa un órgano o tejido (o grupos de tejidos que se comportan de manera similar) y tiene un tamaño y flujo sanguíneo que imita los del órgano in vivo.

### **Modelo farmacocinético poblacional**

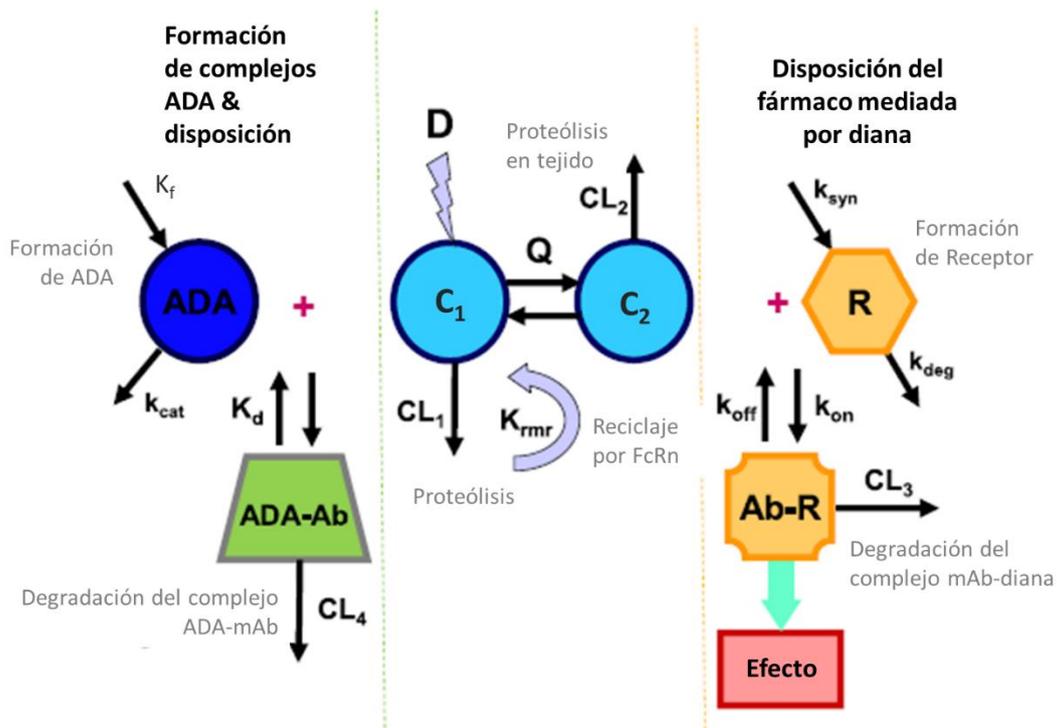
Los estudios farmacocinéticos poblacionales ofrecen un análisis preciso de la relación concentración-respuesta, cuantifican la variabilidad farmacocinética interindividual e identifican las covariables significativas (79).

Los artículos de revisión de la farmacocinética poblacional de los mAbs, reflejan que la mayoría de los análisis describen modelos farmacocinéticos bicompartmentales con eliminación lineal y/o no lineal (TMDD o Michaelis-Menten) (35,36,39,41,47). El prototipo de modelo bicompartmental de los mAbs tiene un compartimento central ( $C_1$ ) y otro periférico ( $C_2$ ), con transferencia reversible del mAb entre ambos ( $Q$ ). El  $C_1$  habitualmente se corresponde con la sangre o el suero y el  $C_2$  con los órganos o tejidos en los que se distribuye el fármaco más lentamente (51). Para Dirks y Meibohm (35), la eliminación se describe frecuentemente como lineal, con una cinética de eliminación de primer orden desde el  $C_1$ , que puede ser complementada por una eliminación no lineal con cinética de Michaelis-Menten desde este mismo compartimento. En el caso de Kuester y Kloft, la eliminación de Michaelis-Menten se produce desde  $C_2$  (38).

---

<sup>18</sup> Del inglés *Physiologically Based Pharmacokinetic*

Es importante recordar que los mAbs terapéuticos se unen con alta afinidad a antígenos específicos de manera no covalente (40,59). Los diferentes procesos de disposición que sufre un mAb se pueden representar como en la Figura 5. Esta figura muestra un modelo farmacocinético de dos compartimentos con administración intravenosa de una dosis, concentración del mAb en el  $C_1$  y  $C_2$ , y aclaramiento intercompartimental. El modelo farmacocinético incluye dos vías de eliminación lineal, una por proteólisis inespecífica desde el  $C_1$  y desde el  $C_2$ , y otra por reciclaje mediado por el FcRn. También se representa la disposición mediada por diana: interacción del mAb con su receptor farmacológico, el cual está en un equilibrio homeostático de síntesis y degradación. Igualmente, hay un equilibrio dinámico de formación del complejo mAb-receptor, en el que la formación de dicho complejo no solo provoca el efecto farmacológico, sino que desencadena la degradación de éste. Por otro lado, se representa el efecto de la respuesta inmunitaria al mAb que tiene como resultado la formación de ADA. De la misma forma, la concentración circulante de ADA viene determinada por el equilibrio homeostático entre su tasa de formación y de catabolismo. Los ADA se unen a los mAb formando complejos y, dependiendo del tamaño y estructura de éstos, se desencadenan vías de eliminación endógenas, la más probable, como hemos visto, a través de la endocitosis por receptor  $Fc\gamma$ .



**Figura 5. Procesos que afectan a la farmacocinética de un mAb (Ab).** D: administración intravenosa de una dosis;  $C_1$ : concentración del mAb en el compartimento central;  $C_2$ : concentración del mAb en el compartimento periférico; Q: aclaramiento intercompartmental;  $CL_1$ : eliminación lineal por proteólisis inespecífica desde el compartimento central;  $CL_2$ : eliminación lineal por proteólisis inespecífica desde el compartimento periférico; FcRn: eliminación lineal por reciclaje mediado por el receptor Fc neonatal;  $K_{rnr}$ : tasa de reciclaje mediado por el FcRn; R: receptor farmacológico del mAb;  $K_{syn}$ : constante de síntesis del R;  $K_{deg}$ , constante de degradación de R; Ab-R: complejo mAb-receptor;  $K_{on}$ : constante de asociación Ab-R;  $K_{off}$ : constante de disociación Ab-R;  $CL_3$ : degradación del complejo Ab-R; ADA: anticuerpos antifármaco;  $K_f$ : tasa de formación de ADA;  $k_{cat}$ : tasa de catabolismo de ADA; ADA-Ab: complejo ADA-Ab;  $K_d$ : constante de disociación ADA-Ab;  $CL_4$ : eliminación por endocitosis por receptor  $Fc\gamma$ . Adaptado de (Chirmule N, Jawa V, Meibohm B. Immunogenicity to therapeutic proteins: Impact on PK/PD and efficacy. AAPS J. 2012;14(2):296-302).

Dirks y Meibohm (35), en su revisión de los diferentes mAbs utilizados en clínica, recopilaron o estimaron sus volúmenes de distribución en el compartimento central ( $V_1$ ) y en el compartimento periférico ( $V_2$ ) y concluyeron que eran similares en todos los mAbs, con la excepción del fármaco alemtuzumab. La mediana (rango) estimada del  $V_1$  fue de 3,1 (2,4-5,5) L, similar al volumen plasmático (92), y para el  $V_2$  de 2,8 (1,3-6,8) L. La variabilidad interindividual estimada para el  $V_1$  fue moderada, con un coeficiente de variación medio del 26% (12-84%). Además, describieron un comportamiento similar al de la IgG endógena,

puesto que el volumen en el estado de equilibrio estacionario fue similar al de ésta. Sin embargo, los autores sugieren que estos volúmenes deben ser interpretados con precaución.

Los factores que influyen en estos volúmenes de distribución pequeños son el gran tamaño molecular (~150 kDa (36,48,55,66)) y la polaridad de los mAbs, así como la distribución y densidad de sus dianas terapéuticas y la morfología de los capilares vasculares (35,47). Los mAbs se distribuyen, por tanto, en el plasma sanguíneo y en el fluido extracelular.

Además, los análisis poblacionales compartimentales documentan aclaramientos intercompartimentales pequeños ( $Q=20-40$  mL/h), que sugieren una distribución lenta al tejido periférico (47).

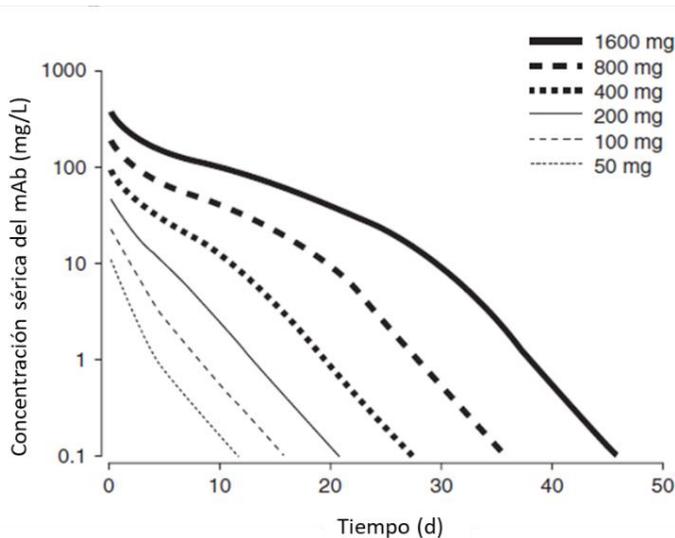
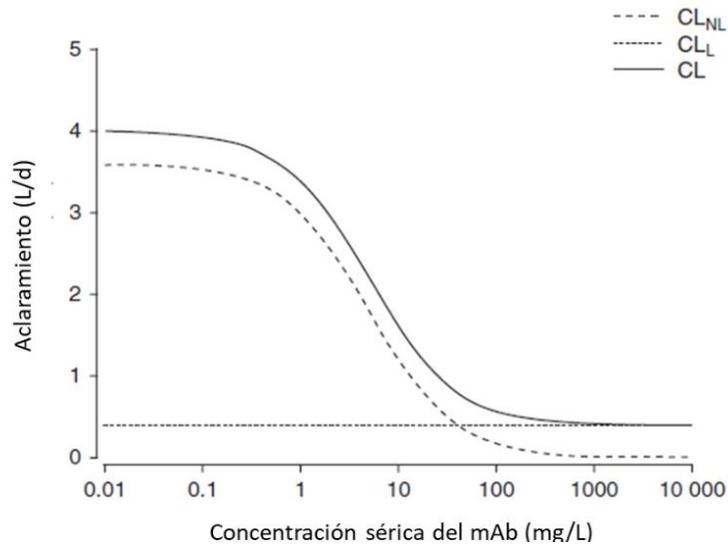
Para los mAbs que tienen como diana un antígeno soluble, como el VEGF (93), se ha descrito una farmacocinética de eliminación lineal (70). Este hecho se podría explicar porque las concentraciones terapéuticas alcanzadas en plasma y tejidos no saturan el antígeno diana o porque el aclaramiento mediado por diana sea menos importante para estos fármacos comparado con otras vías de eliminación (47).

Para mAbs con eliminación lineal o a concentraciones en las que el proceso de eliminación mediado por diana está saturado, el aclaramiento se encuentra entre 0,2 y 0,5 L/día, en línea con el aclaramiento estimado de las IgG endógenas (0,21 L/día). La variabilidad interindividual de este parámetro es moderado, con un coeficiente de variación medio del 33% (35). Adicionalmente, para los mAbs con aclaramiento lineal, se ha correlacionado su aclaramiento con el tamaño corporal (peso o superficie) (60).

Por otro lado, en el caso de los mAbs con eliminación mediada por diana, a bajas concentraciones (relativas de  $K_m$ ), esta vía contribuye de manera significativa al aclaramiento del fármaco (el aclaramiento no lineal es mucho más rápido que el aclaramiento lineal). Sin embargo, a concentraciones más altas del mAb que  $K_m$ , la eliminación mediada por diana se satura y el aclaramiento total del fármaco se comporta como una cinética de eliminación de primer orden llevada a cabo por la degradación proteolítica no específica (35,38). El aclara-

miento total de estos mAb es la suma de ambos aclaramientos (70). Este comportamiento se representa en la Figura 6 y en la Figura 7. Así pues, se entiende que la administración de una dosis de carga, en los mAbs con TMDD y farmacocinética no lineal, sea una estrategia apropiada para saturar los antígenos diana (94).

**Figura 6. Relación entre los componentes del aclaramiento y la concentración de mAb.** CLL: aclaramiento lineal; CLNL: aclaramiento no lineal; CL: aclaramiento total. Adaptado de (Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet. 2010;49(10):633-59).



**Figura 7. Perfiles de concentración sérica frente al tiempo de un mAb bi-compartimental con cinética de eliminación lineal y no lineal.** Adaptado de (Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. Clin Pharmacokinet. 2010;49(10):633-59).

Se han desarrollado varios métodos para estimar los parámetros poblacionales de los mAbs a partir del análisis de los datos (38). La mayoría de los

estudios utilizan el método implementado en el software NONMEM<sup>®19</sup> (35,95,96). Este programa informático permite ajustar un modelo farmacocinético y/o farmacodinámico a los datos de un elevado número de individuos con pocos niveles séricos de cada uno de ellos, teniendo en cuenta la variabilidad inter e intraindividual (95).

Los modelos farmacocinéticos poblacionales desarrollados con NONMEM<sup>®</sup> están formados por varios componentes (38):

- Un submodelo estructural, que describe la tendencia central en el tiempo de las concentraciones del mAb como función de los parámetros farmacocinéticos típicos estimados y de las variables independientes.
- Un submodelo estadístico, que caracteriza la variabilidad farmacocinética del mAb e incluye la influencia de factores aleatorios (variabilidad interindividual, interocasión y residual).
- Un análisis de covariables, que tiene como objetivo identificar las características específicas del estudio o de los pacientes con una influencia significativa en los parámetros farmacocinéticos y cuantificar su impacto. Incluyen datos como edad, sexo, peso, parámetros bioquímicos, datos relacionados con la patología o medicación concomitante. Las covariables significativas y clínicamente relevantes deberían reducir la variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos.

## Variabilidad farmacocinética de los mAbs

La variabilidad farmacocinética interindividual de los mAbs viene determinada por diferentes factores (covariables) y han sido investigadas en diferentes estudios farmacocinéticos poblacionales (35,48–52). La variabilidad interindividual en estos fármacos es generalmente moderada o alta (50). En este sentido, el peso o la superficie corporal se ha visto que son covariables clínicamente relevantes y, en cambio, la relevancia clínica del sexo o la raza no son claras (50,79). Concentraciones séricas bajas de los mAb se han relacionado con una mayor carga de enfermedad, referida como expresión de antígenos o como

---

<sup>19</sup> Del inglés *NonLinear Mixed Effect Model*

carga tumoral (48,97,98). También los ADA se han relacionado con aumento del aclaramiento de los mAb y, por tanto, reducción de sus concentraciones séricas y pérdida de respuesta (61,99). Algunos parámetros analíticos, como los niveles de albúmina sérica y de fosfatasa alcalina, se han relacionado con el aclaramiento de los mAb (35) aunque aún no se ha dilucidado el mecanismo subyacente (79).

También se han descrito los mecanismos responsables de la variabilidad intraindividual, que a modo resumen se enumeran en Gibert y cols. (75): la captación y posterior liberación del mAb por los tejidos u otros componentes, la redistribución del flujo sanguíneo a órganos, el mecanismo de degradación por formación de complejos mAb-diana terapéutica y la función del FcRn.

## Modelos exposición-respuesta

Dentro de los modelos farmacocinéticos poblacionales, se encuentran los modelos exposición-respuesta o modelos PK-PD. El término *exposición* hace referencia a la dosis de fármaco y a su concentración en plasma u otros fluidos biológicos; y el término *respuesta* se refiere a la medida directa de su efecto farmacológico (100). A menudo esta medida clínica se retrasa o persiste comparada con las concentraciones plasmáticas, resultando en una relación exposición-respuesta con una histéresis considerable (100). Además, el alto grado de no linealidad en la relación dosis-exposición-respuesta puede ser debido a la alta afinidad de interacción con la diana farmacológica y con otras proteínas endógenas (76).

En un tratamiento prolongado, la recogida de múltiples muestras plasmáticas durante un intervalo de dosificación no es práctico. Como sustitución, se pueden recoger muestras plasmáticas en valle ( $C_{min}$ ), justo antes de la siguiente administración de dosis. Las  $C_{min}$  son a menudo proporcionales al área bajo la curva de concentración vs tiempo (ABC) porque no reflejan el proceso de absorción. Para los fármacos que actúan relativamente lentos respecto a su tasa de absorción, distribución y eliminación, las  $C_{min}$  y ABC pueden estar igualmente bien correlacionadas con el efecto del fármaco (100).

Dependiendo del propósito del estudio y de las medidas, la información de la exposición-respuesta puede ser obtenida en el estado estacionario sin tener en consideración el impacto de las fluctuaciones de la exposición y la respuesta con el tiempo, o puede ser utilizada para examinar las respuestas a varias concentraciones tras una dosis única durante el intervalo posológico o durante un tratamiento (100).

En la aprobación de fármacos, para poder establecer la eficacia, es fundamental que en los estudios que relacionan las concentraciones plasmáticas con la respuesta se aleatorice a los pacientes a diferentes dosis o concentraciones (100).

## Bevacizumab

Bevacizumab es una IgG<sub>1</sub> humanizada (CDR murino), aprobada en 2005 en Europa y de administración intravenosa, que se une al VEGF (9). Actualmente, en el mercado farmacéutico, hay comercializados varios medicamentos biosimilares de bevacizumab.

El VEGF tiene como diana principal las células endoteliales de arterias, venas y vasos linfáticos, pero también tiene efecto en otros tipos de células (101,102). El VEGF-A es un factor clave en la regulación de la vasculogénesis y la angiogénesis, dentro de la homeostasis vascular fisiológica, y en la patogénesis del crecimiento tumoral y metástasis (101). Otros factores de esta familia son el factor de crecimiento de la placenta (PIGF), VEGF-B y los factores que regulan la angiogénesis linfática, VEGF-C y VEGF-D (102).

Existen varias isoformas del VEGF-A producidos por la unión alternativa de exones del gen (101,103). La isoforma más relevante desde el punto de vista fisiológico es VEGF<sub>165</sub>, que es secretada en su mayor parte, aunque una fracción permanece unida a la superficie celular y a la matriz extracelular por unión a la heparina (102,104–106). VEGF<sub>121</sub> es principalmente soluble y VEGF<sub>189</sub> y VEGF<sub>206</sub> se encuentran secuestradas en la matriz extracelular, aunque pueden liberarse convirtiéndose en fragmentos bioactivos.

VEGF se une a dos tipos de receptores tirosin-quinasa de la superficie de las células endoteliales: Flt-1 (VEGFR-1) y KDR (VEGFR-2), este último es el principal mediador de los efectos del VEGF (103,105,107).

VEGF se sobreexpresa en la mayoría de los tumores y se asocia con progresión tumoral, metástasis y riesgo de recurrencia (105,107). A tal efecto, diferentes estudios en CCR (108,109) han puesto de manifiesto una relación inversa entre la concentración sérica de VEGF-A preoperatoria y los resultados clínicos tras cirugía.

Bevacizumab (9) se une a todas las isoformas de VEGF, inhibiendo su unión a VEGFR-1 y VEGFR-2. De esta manera, se consigue inhibir el crecimiento del tumor por regresión de su vascularización, inhibición de la neovascularización tumoral y normalización de la vascularización residual del tumor.

Las indicaciones aprobadas en la ficha técnica de Bevacizumab (9), en combinación con quimioterapia u otros agentes antineoplásicos, son:

- carcinoma metastásico de colon o recto.
- cáncer de mama metastásico.
- cáncer de pulmón no microcítico avanzado no resecable, metastásico o recidivante.
- cáncer de células renales avanzado y/o metastásico.
- cáncer avanzado de ovario epitelial, trompa de Falopio, o peritoneal primario.
- carcinoma de cérvix persistente, recurrente o metastásico.

La dosificación de bevacizumab en CCRm (9) es de 5 mg/kg o 10 mg/kg de peso corporal administrados como perfusión intravenosa una vez cada 2 semanas o de 7,5 mg/kg o 15 mg/kg de peso corporal administrados una vez cada 3 semanas.

Sus reacciones adversas graves más frecuentes ( $\geq 1/10$ ) son: leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, neuropatía sensorial periférica, hipertensión, diarrea, náuseas, vómitos, dolor abdominal, astenia y fatiga (9).

En cuanto a la farmacocinética de bevacizumab, la EMA, en la parte de discusión del EPAR<sup>20</sup> de bevacizumab (110), concluye que posee farmacocinética lineal para dosis mayores a 1 mg/kg/día, que su metabolismo no se estudió específicamente asumiendo que se elimina por el mismo mecanismo que otros anticuerpos IgG, que tampoco se realizaron estudios de unión a proteínas plasmáticas y que un esquema de dosificación basado en el peso corporal parece que está razonablemente justificado. Parte de estos resultados están basados en el estudio farmacocinético poblacional de Lu y cols. (93). Este estudio fue realizado con datos de concentraciones de ocho ensayos clínicos fase I-III en diferentes tumores sólidos (colorrectal, pulmón no microcítico y cáncer de mama), en los que los regímenes de dosificación de bevacizumab administrados en dosis múltiple variaron (1-20 mg/Kg cada 1-3 semanas), así como la quimioterapia concomitante. La determinación de las concentraciones séricas de bevacizumab se realizó mediante ELISA y el análisis de los datos farmacocinéticos mediante NONMEM<sup>®</sup>. Posteriormente, Li y cols. (111) integraron los datos del estudio de Lu y cols. (93) con los de un fase III en cáncer de colon en estadio II y III (AVF3077s), obteniendo un modelo farmacocinético poblacional bicompartimental con eliminación de primer orden. Asimismo, un estudio más homogéneo que el de Lu y cols. (93), y con validación externa, fue el de Han y cols.(112), que desarrollaron un modelo farmacocinético poblacional en pacientes adultos con tumores sólidos tratados con bevacizumab en monoterapia o en combinación con quimioterapia, a partir de datos de 15 estudios clínicos fase I-IV en los que bevacizumab se administró en dosis única o múltiple en 1.792 pacientes (casi 5 muestras/paciente). Validaron externamente el modelo final con datos de 146 pacientes (11,4 muestras/paciente) procedentes de 3 estudios japoneses. De entre las 38 covariables estudiadas, el peso corporal basal fue el que mayor impacto tuvo en el aclaramiento, en el volumen del C<sub>1</sub> y en C<sub>min</sub> y concentración plasmática pico (C<sub>max</sub>), lo que refrenda la dosificación de bevacizumab por peso corporal. El modelo obtenido fue bicompartimental lineal. En este sentido, también los estudio llevados a cabo en CCRm de Ternant y cols. (85), Panoilia y

---

<sup>20</sup> Del inglés *European Public Assessment Report*

cols. (104) y Caulet y cols. (98), el modelo que mejor se ajustó a las concentraciones fue el de dos compartimentos con eliminación de primer orden.

Solo un artículo sugirió una farmacocinética TMDD para bevacizumab (98) aunque esta hipótesis ha sido descartada (112,113) porque la concentración molar de bevacizumab es miles de veces mayor que la de su diana (VEGF-A) lo que conduce a la saturación de la misma. El aclaramiento por esta vía es despreciable a las concentraciones estudiadas, siendo éste similar al de las IgG endógenas (35).

En cuanto a las interacciones farmacológicas, en general no se detectaron en estudios preclínicos (114,115). Sin embargo, en un modelo preclínico de trastuzumab, la preadministración de bevacizumab disminuyó su penetración en el tumor debido a la reducción en la permeabilidad vascular y en la perfusión sanguínea (116). En el estudio clínico de Lu y cols. (93), cuando se administró bevacizumab con el bolo irinotecán/fluorouracilo/leucovorin, su aclaramiento fue similar al de bevacizumab en monoterapia, pero fue un 17% menor que cuando se usó concomitantemente con otros regímenes de quimioterapia estudiados. En el estudio de estudio de Herbst (117), en el que se emplearon dosis múltiples de bevacizumab para cáncer de pulmón no microcítico recurrente, el aclaramiento de bevacizumab (3 mL/kg/día) fue similar al obtenido en el tratamiento concomitante con erlotinib (3,2 mL/kg/día). En el estudio farmacocinético poblacional de Li y cols. (111), ya comentado, encontraron un efecto modesto del tratamiento adyuvante en el CL (< 20% de diferencia con respecto al valor medio). Por último, el informe EPAR (110) exponía que los datos existentes sugerían que bevacizumab no afectaba de manera clínicamente relevante a la farmacocinética de 5-FU, carboplatino, paclitaxel y doxorubicina.

En cuanto a la generación de ADA, no hay datos en el EPAR (110) o en la ficha técnica (9) de Avastin®, y los datos de frecuencia de ADA que proporciona la FDA<sup>21</sup> son del 0,63% (118). En el estudio de Akbulut y cols. (119), lle-

---

<sup>21</sup> Del inglés *Food and Drug Administration*

vado a cabo en 88 pacientes con CCRm, la presencia de anticuerpos anti-*bevacizumab* (en el 15% de los pacientes) no tuvo impacto en los resultados del tratamiento.

## Cetuximab

Cetuximab es un anticuerpo IgG<sub>1</sub> monoclonal quimérico, aprobado en 2004 en Europa y de administración intravenosa, cuya diana específica es el dominio extracelular del EGFR (12).

Los receptores del factor de crecimiento epidérmico o ErbB son la subclase I de la superfamilia de receptores tirosina quinasa y están formados por 4 miembros: ErbB1 (EGFR), ErbB2 (HER-2), ErbB3 y ErbB4. Son glicoproteínas transmembrana con un dominio extracelular de unión al ligando y un dominio citoplasmático con actividad tirosina quinasa (120,121). EGFR es una diana terapéutica celular que también puede ser vertida a la sangre (122). Los ligandos que se unen al EGFR son el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ). Cuando esto ocurre, se produce la dimerización del receptor, desencadenando la cascada de señalización intracelular. Tras la activación, los receptores son internalizados para su degradación o reciclado a la superficie celular (120,123).

EGFR participa en el crecimiento celular, en la diferenciación y en la supervivencia de tejidos sanos. Se expresa de manera constitutiva en muchos tejidos epiteliales (como folículos pilosos) y se sobreexpresa en tumores malignos (cáncer colorrectal y escamoso de cabeza y cuello, entre otros) (121). Su activación, en este último caso, reduce la apoptosis y facilita la proliferación celular, la angiogénesis y la migración de las células tumorales (121,123). También se ha relacionado con tumores más agresivos, resistencia a la quimioterapia, aumento de metástasis, menor supervivencia y peor pronóstico (123).

Como se describe en su ficha técnica (12), cetuximab se une al EGFR con una afinidad de 5 a 10 veces superior a la de los ligandos endógenos (EGF y TGF- $\alpha$ ), bloqueando su unión, lo que provoca la inhibición de la función del receptor. Además, induce la internalización de EGFR produciendo una disminución

de los receptores disponibles en la superficie celular (downregulation) lo que evita una posterior unión y activación por sus ligandos endógenos (71,124,125). Cetuximab también dirige a las células efectoras inmunitarias citotóxicas hacia las células tumorales que expresan EGFR (ADCC) (126,127).

Las indicaciones aprobadas para cetuximab según ficha técnica (12) son:

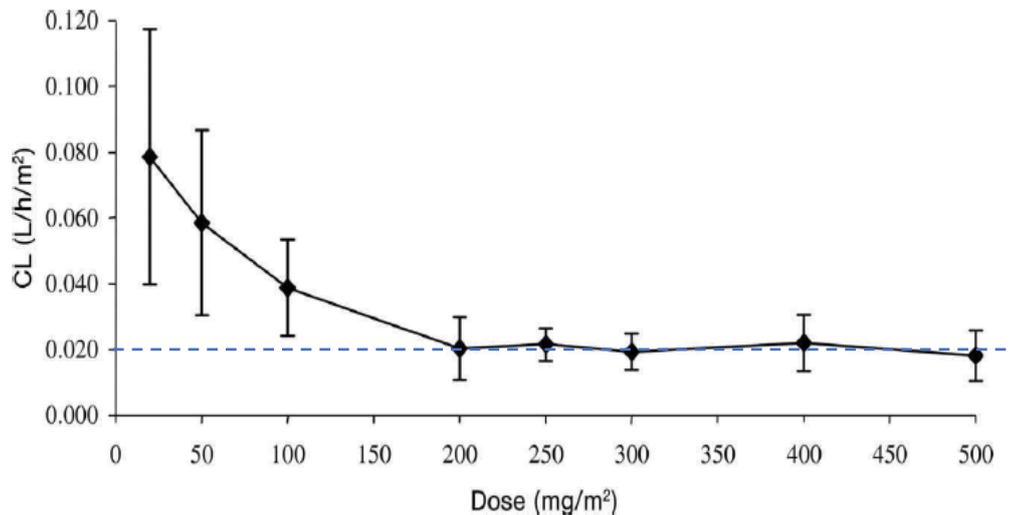
- Tratamiento de pacientes con CCRm, con expresión del EGFR, con gen RAS de tipo nativo (KRAS y NRAS).
- Tratamiento de pacientes con cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, en combinación con radioterapia para la enfermedad localmente avanzada y en combinación con quimioterapia basada en platino, para la enfermedad recurrente y/o metastásica.

Cetuximab se administra en perfusión intravenosa semanal, para ambas indicaciones (12): una primera dosis de 400 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal seguida de dosis semanales de 250 mg/m<sup>2</sup> cada una. Con esta posología se alcanza la saturación completa y sostenida del EGFR, con el objetivo de lograr la máxima inhibición del crecimiento (71,128,129). No obstante, en la práctica clínica, se utilizan también dosis de mantenimiento de 500 mg/m<sup>2</sup> cada 2 semanas en el tratamiento del CCRm, ya que se ha visto que no hay diferencias significativas en la eficacia y la seguridad entre ambos regímenes de dosificación (130).

Sus reacciones adversas más frecuentes ( $\geq 1/10$ ) son: hipomagnesemia, aumento en los niveles de enzimas hepáticas (ASAT, ALAT, fosfatasa alcalina), reacciones leves o moderadas relacionadas con la perfusión, mucositis y erupción acneiforme (12).

Desde el punto de vista farmacocinético, parece que cetuximab posee una farmacocinética no lineal (128,131,132), en algunos modelos tipo Michaelis Menten (36,71,133–135), ya que, como se ha comentado anteriormente, la unión de cetuximab a su receptor de membrana (EGFR) provoca un mecanismo de eliminación, específico y saturable, en el que el complejo cetuximab-EGFR es internalizado (71). La representación del aclaramiento de cetuximab frente a las dosis sugiere un comportamiento bifásico y la existencia de 2 vías de eliminación (Figura 8). A las concentraciones de tratamiento aprobadas (superiores a 200 mg/m<sup>2</sup>), el aclaramiento no lineal se satura y la vía de eliminación no específica

(no saturable a esas concentraciones) es la que determina el aclaramiento total de cetuximab (71,136). Sin embargo, ajustar un modelo farmacocinético paralelo (lineal y no lineal) a los datos, no ofreció una mejora significativa frente al modelo no lineal (134). Por otro lado, el informe de evaluación de cetuximab de la FDA (137), señaló una cinética de primer orden para las dosis aprobadas de 400 mg/m<sup>2</sup> seguidas de 250 mg/m<sup>2</sup> semanales.



**Figura 8. Media ( $\pm$  DE) del aclaramiento (CL) de cetuximab frente a dosis, en estudios de administración de cetuximab en dosis única. Análisis no compartimental.** (Adaptado de Nolting A, Fox FE, 2006)

En cuanto a las interacciones, los informes de evaluación de la EMA (136) y de la FDA (137) mencionan que no se estudió ni la unión a proteínas plasmáticas ni las vías de eliminación de cetuximab. Por otro lado, Baselga y cols. (128), evaluaron de manera conjunta los resultados farmacocinéticos de tres estudios fase I de búsqueda de dosis (se estudiaron dosis crecientes desde 5 a 400 mg/m<sup>2</sup>) y, observaron un aclaramiento similar entre la dosis de 100 mg/m<sup>2</sup> en monoterapia (10 pacientes) y en combinación con cisplatino (3 pacientes). Lo que sugirió que cisplatino no tenía efecto en el aclaramiento de cetuximab. Asimismo, en el estudio de Dirks y cols. (134), la quimioterapia concomitante estudiada (cisplatino, carboplatino y 5-fluorouracilo) no fue identificada como covariable en el modelo farmacocinético poblacional de cetuximab. El estudio de Delbaldo (138), en el que se evaluó la posible interacción farmacocinética entre cetu-

ximab e irinotecan, concluyó que no hay evidencia de dicha interacción. Y tampoco Ettliger y cols. (139) encontraron un efecto clínicamente relevante de cetuximab sobre la farmacocinética de irinotecan. Otro estudio (140), en el que se evaluaba la influencia de cetuximab en la farmacocinética de capecitabina, no detectó un impacto clínicamente relevante. Igualmente, en el análisis farmacocinético poblacional integrado de 19 ensayos clínicos fase I-II (71,136,137), se estudió como covariable la medicación concomitante (cisplatino, carboplatino, paclitaxel, doxorubicina, irinotecan y gemcitabina), además de la radioterapia, y no se encontró influencia en la farmacocinética de cetuximab. Solo en el estudio retrospectivo de Pointreau (141), se observó que la quimioterapia (platino y 5-fluorouracilo) sí afectó a la eliminación de cetuximab.

Por último, según ficha técnica (12), la tasa de inmunogenicidad de los pacientes estudiados fue del 3,4%. Aunque en el EPAR de la EMA señalan un 3,7% de pacientes con anticuerpos (20 de 534) de los que solo 2 presentaron una exposición a cetuximab más baja (136). En el estudio de Lenz y cols. (142) también se detectaron anticuerpos anticetuximab en un 4,26% de los pacientes (8 de 188), pero sin impacto en su farmacocinética o en la actividad antitumoral. En cambio, en el estudio de Robert y cols., no se detectaron anticuerpos frente a cetuximab en los 14 pacientes estudiados (132).

## Monitorización terapéutica de fármacos en Oncología

La dosificación de los tratamientos oncológicos tradicionalmente se realiza en función del área de superficie corporal. A través de diferentes ecuaciones, la más utilizada es la de Du Bois, en las que se tienen en cuenta el peso y la altura del paciente (143). Su empleo se basa en la asunción de que el aclaramiento de un fármaco aumenta con el tamaño corporal, pero no tiene en cuenta otros múltiples factores que influyen en la amplia variabilidad inter e intraindividual en la exposición sistémica a la quimioterapia, como son: edad, sexo, tratamiento concomitante, masa muscular, grasa corporal, función renal, etc. (143,144), lo que conduce a una pobre correlación entre la superficie corporal y

la eficacia del fármaco. En el caso de los citostáticos clásicos, se ha visto que el uso del área de superficie corporal para el cálculo de la dosis, supone una variabilidad interindividual en el aclaramiento plasmático del 25 al 70% (expresada como coeficiente de variación) (145).

La monitorización terapéutica de un fármaco (TDM<sup>22</sup>), consiste en la medida e interpretación de las concentraciones del mismo en fluidos biológicos (habitualmente la sangre), con el fin de ajustar la posología para el paciente en el que se mide y alcanzar así la eficacia clínica deseada y minimizar toxicidades (75,143,146). Para ello es necesaria la correlación dosis-exposición-respuesta. La medida de la exposición sistémica al fármaco, puede hacerse midiendo concentraciones de éste en plasma o suero, como: ABC, C<sub>max</sub> o C<sub>min</sub> (100,147). Aunque el *gold standard* para describir la relación concentración-efecto es el ABC, los datos farmacocinéticos necesarios para su obtención hacen difícil su implantación en la práctica clínica (98).

A diferencia de otras disciplinas (enfermedades infecciosas, psiquiatría, neurología, trasplante, etc.) donde la monitorización de fármacos es habitual, en oncología existe un limitado número de estudios que identifican los intervalos óptimos de exposición a fármacos (148).

Para poder llevar a cabo una monitorización farmacocinética de un fármaco, éste debe cumplir una o más de las siguientes características (53,79,143,146): correlación entre niveles séricos y respuesta, no disponer de una medida clínica directa del efecto del fármaco o su toxicidad, variabilidad farmacocinética interindividual, estrecho margen terapéutico, dosificación flexible y disponibilidad de test estandarizados y validados para la medida de las concentraciones séricas. Sirva de ejemplo el artículo de la *International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology* (148), en el que se analizan todas estas premisas para evaluar la idoneidad de aplicar TDM en la terapia con 5-fluorouracilo.

---

<sup>22</sup> Del inglés *Therapeutic Drug Monitoring*

Partiendo de los aspectos enumerados hasta ahora, podemos llegar a entender que la monitorización farmacocinética de la quimioterapia es una estrategia con valor clínico (144,149), sumado al hecho de que a los pacientes a menudo se les reduce la dosis en caso de toxicidad pero rara vez se aumenta en ausencia de ésta o de eficacia (147,148). Sin embargo, la monitorización terapéutica en oncología es escasa (143,150) y no se ha desarrollado por diferentes motivos (53,146,148,151): falta de intervalos terapéuticos establecidos y relaciones concentración-efecto, la frecuencia de uso de múltiples combinaciones de fármacos que superponen sus efectos terapéuticos y tóxicos, el uso de fármacos y profármacos con metabolitos activos, la ausencia de pruebas de laboratorio de rutina para medir varios medicamentos en plasma, la falta de capacitación en TDM de oncólogos, consideraciones económicas o competitivas y barreras regulatorias.

### ***¿Por qué medir niveles de mAbs en Oncología?***

Los mAbs se pueden dosificar de tres maneras diferentes (60): dosis fija (misma dosis para todos los pacientes), dosis individualizada por peso o superficie corporal o dosis individualizada por método bayesiano (ajuste de dosis mediante nomograma, a partir de las concentraciones del paciente o a partir de la respuesta al tratamiento).

Como ya se ha dicho, la dosificación por superficie o peso corporal es objeto de debate en fármacos oncológicos (149,152), y esta discusión también se presenta en el caso de los mAbs (52,71,153–155). No obstante, es una estrategia extendida en su desarrollo clínico, basada en la teoría de que de esta manera se reduce la variabilidad interindividual en la distribución y eliminación del fármaco. En un estudio (155) en el que se simuló concentraciones de 12 mAbs (entre ellos, bevacizumab y cetuximab), a partir de modelos PK y/o PD poblacionales publicados, se observó que la dosificación basada en el tamaño corporal (peso o superficie corporal) tiende a sobresodificar a los pacientes con un tamaño corporal grande mientras que infradosifica a los pacientes con un tamaño corporal pequeño. En otra publicación (52), se demostró que para la mayoría de mAbs estudiados (entre los que también se encontraban bevacizumab

y cetuximab) el peso corporal tuvo un efecto pequeño o moderado en la farmacocinética. La diferencia de variabilidad en la exposición entre la dosificación fija y la basada en el peso corporal fue en general inferior al 20%, pero mayor para las subpoblaciones con bajo peso u obesos (inferior al 40%).

Por otro lado, los mAbs también cumplen las características para llevar a cabo una monitorización farmacocinética, a excepción del margen terapéutico estrecho, puesto que la mayoría de ellos no tienen una dosis máxima tolerada, ya que no es dosis-dependiente, o ésta es muy alta (79,143). Además, la mayoría de los mAbs terapéuticos están diseñados para neutralizar de manera continua sus antígenos diana, lo que se consigue a partir de unas concentraciones mínimas ( $C_{min}$ ) (79). Todo ello, unido a su larga semivida, hace que las concentraciones valle en estado estacionario ( $C^{SS}_{min}$ ) tengan el potencial de representar adecuadamente la exposición sistémica (146). Por ello, la mayoría de los estudios con mAbs que miden exposición-respuesta han demostrado que la  $C_{min}$  era más relevante para predecir eficacia que la  $C_{max}$  o el ABC (156). Además, una adecuada estimación del ABC necesita de muchos datos de concentración a lo largo del intervalo posológico y es difícil de obtener en la práctica clínica.

Ya en 2005, la opinión de los expertos Ternant y Paintaud (51) era que los pacientes en tratamiento con mAbs se podrían beneficiar de ajustes de dosis a partir de la medida de sus concentraciones en sangre, debido a la variabilidad inter e intraindividual de su farmacocinética y sus largas semividas. Aunque para ello primero se debería obtener, de estudios PK-PD, la concentración objetivo.

En este contexto, la relación concentración-efecto puede ser estudiada usando un objetivo clínico o usando un marcador biológico (51). Los objetivos clínicos habituales son tasa de respuesta al tratamiento, duración de la respuesta o tiempo a la progresión. Para los marcadores biológicos debemos tener en cuenta el mecanismo de acción de los mAb: la unión a un antígeno específico con alta afinidad que desencadena un efecto terapéutico. Este efecto terapéutico puede ser (51): la lisis celular (por unión a un receptor de la superficie celular), neutralización de una molécula endógena o exógena, alteración de las funciones celulares o liberación de una sustancia activa (fármaco o radionúclido). Por esta razón, los biomarcadores se basan en el recuento de células diana o en la densidad de receptores de superficie celular, y son marcadores indirectos del efecto

farmacológico. Ambos tipos de respuesta sirven para crear modelos PK-PD (51,100), que permiten conocer la concentración objetivo a alcanzar para que un mAb sea efectivo en una enfermedad determinada (47,51).

También se ha sugerido que la dosificación actual de mAbs en oncología puede no ser óptima desde la perspectiva de la eficacia y el coste (144). Como el propósito de la monitorización es asegurar una exposición suficiente para el objetivo de eficacia, la reducción de dosis a partir de TDM estaría indicada tanto en el caso de pacientes con concentraciones tóxicas, como en el caso de que se disminuyera sustancialmente el coste sin impacto en la eficacia (143).

En relación a los mAbs oncológicos, Oude Munnink y cols. (79) plantearon que el mejor parámetro para validar las concentraciones objetivo es la supervivencia global (SG), complementado por la tasa de respuesta y la supervivencia libre de progresión (SLP).

Por otro lado, y como ya se ha comentado anteriormente, los mAbs cuya diana de acción es un antígeno en la superficie celular, a menudo presentan una farmacocinética no lineal y, los mAbs dirigidos contra un antígeno soluble, suelen tener una cinética lineal (60). Para los primeros, existen numerosos factores que influyen en su farmacocinética, como son los cambios en el número de receptores con el tiempo, receptores solubles, la indicación y el estatus de la enfermedad (60). En cambio, para los segundos, el principal factor que parece influir en el aclaramiento es el peso corporal (60).

Para los mAbs oncológicos con TMDD, su aclaramiento se ve aumentado con la carga tumoral, lo que puede resultar en una dosificación subóptima (48,143,157). También hay que tener en cuenta que este aclaramiento puede variar con el tiempo, unido a los cambios en la carga tumoral y la expresión antigénica (156).

Caulet y cols. (98) pusieron de manifiesto que parte de la variabilidad en los resultados clínicos en el tratamiento con bevacizumab de pacientes con CCRm puede deberse a diferencias en la exposición al fármaco. En la misma línea, Azzopardi y cols. (158) afirmaron que parte de la variabilidad interindividual en la respuesta a cetuximab podía explicarse por la propia variabilidad interindividual en su farmacocinética. Sin embargo, Le Louedec y cols. (159) también

observaron influencia del estado general del paciente en la eficacia de este tratamiento en tumores de cabeza y cuello.

Los principales estudios farmacocinéticos poblacionales llevados a cabo en población oncológica en tratamiento con cetuximab (131,134,141,158,159) o bevacizumab (93,98,112), describen sus parámetros farmacocinéticos, la variabilidad interindividual y las covariables. No obstante, son escasas las publicaciones que han estudiado la relación entre la respuesta clínica y la exposición a cetuximab (131,135,141,158–161) o bevacizumab (98,119,162,163).

En pacientes con CCRm KRAS nativo existen tres estudios con cetuximab que relacionan exposición y respuesta clínica. El estudio de Azzopardi y cols. (158), encontró relación entre el aclaramiento global de cetuximab y la concentración valle a día 14 con la SLP ( $p=0,013$  y  $p=0,03$ , respectivamente). Jiang y cols. (135) tras un análisis farmacocinético poblacional con datos de un estudio fase III aleatorizado, concluyeron que las dosis estándar de cetuximab no son óptimas para todos los pacientes, puesto que aquellos con un aclaramiento menor tienen mejores SLP y SG. Por último, en el estudio EVEREST (160), los pacientes KRAS nativo que recibieron dosis semanales mayores a  $250 \text{ mg/m}^2$  en mantenimiento (hasta  $500 \text{ mg/m}^2$ ) tuvieron mayores concentraciones séricas, mayores tasas de respuesta global y mayor SLP, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

También hay datos en pacientes con CCyC tratados con cetuximab: el estudio de Pointreau y cols. (141), en el que se observó una relación inversa y estadísticamente significativa entre el aclaramiento global y la supervivencia; el estudio de Becher y cols. (161), en el que la Cmin superior a  $33,8 \text{ mg/L}$  se asoció con beneficio clínico; y el estudio PK-PD de Le Louedec y cols. (159), que mostró que los pacientes con respuesta tumoral tuvieron una concentración valle más alta que los pacientes con progresión, tanto en el día 7 de tratamiento ( $42,6$  vs  $18,8 \text{ mg/L}$ ,  $P = 0,03$ ), como en el día 21 ( $47,4$  vs  $19,0 \text{ mg/L}$ ,  $P = 0,04$ ), aunque no pudieron concluir que una baja exposición fuera responsable de una menor SLP.

Fracasso y cols. (131) también advirtieron, en pacientes tratados en monoterapia con cetuximab para distintos tipos de tumores en los que no se estudió el estado del EGFR (KRAS mutado o no mutado), que los respondedores tenían Cmin mayores que los no respondedores. Observaron una Cmin media en suero

de 60,742 mg/L en pacientes con respuesta parcial o enfermedad estable, frente a 33,208 mg/L en pacientes con progresión de la enfermedad ( $p=0,002$ ), en 33 pacientes con dosis de mantenimiento semanales de 250 mg/m<sup>2</sup> y niveles determinados mediante ELISA.

En el caso de bevacizumab, el estudio de Nugue y cols. (162) llevado a cabo en 13 pacientes con glioma, concluyó que la relación máxima eficacia del tratamiento/efectos adversos se observó para concentraciones entre 200-250 mg/L. En CCRm, Caulet y cols. (98) asociaron una concentración valle de bevacizumab el día 14 superior a 15,5 mg/L con una mayor SG ( $p=0,006$ ) y una mayor SLP ( $p=0,0039$ ). También a día 14, Akbulut y cols. (119), observaron que los pacientes con  $C_{min} > 25$  mg/L tuvieron una mayor SG ( $p = 0,0198$ ). En cambio, en el estudio de Papachristos y cols. (163), fueron las  $C^{SS}_{min} \geq 87,9$  mg/L las que se relacionaron con mayores SG ( $p=0,0003$ ).

Como ya se hace con otros mAbs o proteínas de fusión, como adalimumab, infliximab y etanercept (164–169), la monitorización farmacocinética de bevacizumab y cetuximab podría servir de herramienta para predecir la eficacia y, en el caso de una exposición insuficiente, adaptar la posología del paciente. Si bien, aún existe poca evidencia científica que soporte la monitorización terapéutica de los mAbs oncológicos (146,151,153).

Diferentes estudios farmacocinéticos poblacionales en oncología han demostrado una variabilidad interindividual en la farmacocinética de bevacizumab y de cetuximab. Además, se ha sugerido que esta variabilidad farmacocinética puede ser responsable de la respuesta al tratamiento. Basándonos en estos estudios previos, esta Tesis Doctoral está dirigida a seguir estudiando la relación exposición-respuesta y la concentración mínima objetivo, en pacientes con cáncer colorrectal metastásico en tratamiento con bevacizumab o cetuximab y en pacientes con cáncer de cabeza y cuello en tratamiento con cetuximab, ambos en práctica clínica habitual.

# Hipótesis y objetivos



## Hipótesis

Existe una relación entre la concentración valle plasmática en estado estacionario ( $C^{ss}_{min}$ ) de bevacizumab y su efectividad en el tratamiento del cáncer colorrectal, y de cetuximab y su efectividad en el tratamiento del cáncer colorrectal o del cáncer de cabeza y cuello.

## Objetivos

### *Objetivo principal*

Estudiar la relación entre la  $C^{ss}_{min}$  y la tasa de control de la enfermedad o tasa de beneficio clínico, evaluada radiológicamente según criterios RECIST (TAC, RM o PET/TAC perivalle).

### *Objetivos secundarios*

1. Investigar la relación entre  $C^{ss}_{min}$  y la supervivencia medida como supervivencia libre de progresión y supervivencia global.
2. Estudiar si existe una  $C^{ss}_{min}$  límite que se pueda asociar con la probabilidad de beneficio clínico.
3. Investigar la relación entre  $C^{ss}_{min}$  y efectos adversos de los mAb.
4. Investigar si existe relación entre la  $C^{ss}_{min}$  y el nivel de funcionalidad del paciente medido según la escala ECOG PS (170).
5. Analizar la relación entre la posología y la primera  $C^{ss}_{min}$  por paciente.
6. Estudiar la asociación entre las características individuales y la supervivencia.

La consecución de estos objetivos supondrá un mayor conocimiento en la relación exposición-respuesta de estos fármacos en condiciones de uso habituales y el avance en el desarrollo de la monitorización terapéutica de mAbs oncológicos, como herramienta para la optimización de tratamientos.



# Material y métodos



## Diseño del estudio

Estudio observacional prospectivo, en pacientes con CCRm en tratamiento con bevacizumab, o con CCRm o CCyC en tratamiento con cetuximab, en el que se analizó la relación entre las C<sup>SS</sup>min de estos fármacos y la respuesta al tratamiento.

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario Severo Ochoa (Leganés, Madrid) y fue diseñado de acuerdo con los requisitos de la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética de dicho hospital. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio y en todo momento se respetó la confidencialidad de los pacientes y se cumplió con la Ley de Protección de Datos Personales.

Previo al comienzo del estudio se realizó una reunión con todos los investigadores para explicarles el procedimiento para el reclutamiento de pacientes, el circuito de obtención y almacenamiento de muestras y el envío de éstas para su determinación analítica.

Se identificó a los pacientes candidatos a participar en el estudio dentro del grupo de pacientes oncológicos que estaban recibiendo tratamiento activo en el Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Severo Ochoa. Para ello se utilizó el programa de prescripción electrónica asistida (Farhos<sup>®</sup>, Visual Limes) y el sistema de información clínica y administrativa (Selene Hospitales<sup>®</sup>, Cerner) del hospital. Un investigador explicó a cada paciente candidato la naturaleza del estudio, sus propósitos, procedimientos y duración prevista, tanto de manera verbal como por escrito, a través de la hoja de información. Aquellos que decidieron formar parte del estudio entregaron el consentimiento informado a su oncólogo médico (también investigador), con el que pudieron resolver las dudas que les hubieran surgido posteriormente. Los consentimientos informados firmados fueron archivados convenientemente, bajo la responsabilidad de un investigador del estudio y siguiendo los procedimientos de ensayos clínicos oncológicos del centro.

Los pacientes incluidos en el estudio fueron pseudoanonimizados con un número correlativo (código) según su orden de inclusión.

Las muestras se recogieron prospectivamente entre febrero de 2018 y enero de 2020 y, posteriormente, se recogieron de forma retrospectiva las variables individuales.

Los tubos para la extracción de las muestras fueron etiquetados indicando la codificación del estudio ("*TDM mAbs Oncología HUSO*"), el fármaco mAb y el código del paciente y número de extracción.

Las muestras de sangre periférica de los pacientes se obtuvieron en Hospital de Día, en tubos de EDTA de 3 mL, se dejaron en reposo y, dentro de las 2 horas posteriores a la extracción, se centrifugaron a 1000 x g durante 10 minutos. A continuación, el plasma obtenido se separó en dos alícuotas que se almacenaron a -20°C en dos congeladores distintos del Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Severo Ochoa, para asegurar la conservación de la muestra. Una alícuota se utilizó para la determinación de las concentraciones plasmáticas y otra se almacenó hasta fin del estudio.

Las muestras se obtuvieron en concentración valle (antes de la administración de la siguiente dosis de bevacizumab o cetuximab) en el estado estacionario ( $C^{SSmin}$ ) y en el momento más cercano a una evaluación de la respuesta al tratamiento, mediante la realización de una prueba de imagen radiológica (TAC, RM o PET/TAC). Se obtuvieron  $C^{SSmin}$  consecutivas de cada paciente desde su inclusión en el estudio hasta fin de tratamiento, fallecimiento o cierre del estudio. La primera extracción programada en cualquier paciente fue tras, al menos, 3 meses de tratamiento con el mAb; puesto que, por un lado, la evaluación de la respuesta al tratamiento no se suele realizar en un intervalo menor de tiempo y, por otro, se aseguraba la extracción en el estado estacionario ( $5-7 t_{1/2}$ ). Las semividas de eliminación según sus fichas técnicas son 70-100 horas para cetuximab (12) y 432-480 horas para bevacizumab (9).

Las muestras fueron enviadas a la Unidad de Investigación del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias (Santa Cruz de Tenerife) para la determinación de las concentraciones plasmáticas de bevacizumab y cetuximab. Se realizaron 2 envíos en octubre de 2018 y en enero de 2020. En ambos envíos se aseguró la conservación de la muestra a -80°C durante el transporte.

Los datos de los pacientes y las variables de estudio fueron recopilados en un cuaderno de recogida de datos en Excel y analizados por los investigadores del Hospital Universitario Severo Ochoa en colaboración con el Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Segovia de Arana.

Las muestras fueron custodiadas, en todo momento, bajo la responsabilidad de un investigador del estudio, siguiendo los procedimientos convencionales de los centros participantes. Todas las muestras fueron destruidas al finalizar el estudio.

## **Población de estudio**

Se reclutaron pacientes entre febrero de 2018 y enero de 2020. El fin de seguimiento fue el 31 de enero de 2020.

Los criterios de inclusión fueron:

- Pacientes de ambos sexos con una edad  $\geq 18$  años.
- Pacientes en tratamiento con cetuximab o bevacizumab en monoterapia o combinados con quimioterapia y/o radioterapia en las indicaciones de CCRm o CCyC.
- Existencia de enfermedad medible que permita evaluación mediante criterios RECIST.
- Esperanza de vida mayor de 12 semanas.
- Consentimiento informado por escrito del paciente de acuerdo con la normativa vigente.

Los criterios de exclusión fueron:

- Dificultad de un acceso adecuado de vía periférica para la extracción sanguínea.
- Cualquier trastorno o situación patológica en el paciente que impida la comprensión de su participación en el estudio.

A los pacientes tratados con cetuximab se les realizó, previamente al inicio del tratamiento con este fármaco en pacientes con CCRm, el test farmacogenómico para determinar el estado nativo del KRAS y NRAS.

## Tratamientos

Los pacientes fueron tratados de acuerdo a las guías estándar y a la rutina de la institución. Todos recibieron cetuximab o bevacizumab con o sin quimioterapia concomitante.

Cetuximab fue administrado según práctica clínica habitual: sin diluir, en una infusión de dos horas de duración para la dosis de carga de 400 mg/m<sup>2</sup>, segunda dosis en una hora de duración para las dosis semanales de 250 mg/m<sup>2</sup> y de hora y media para las bisemanales de 500 mg/m<sup>2</sup>, y terceras dosis y sucesivas a 10 mg/minuto.

Bevacizumab fue administrado como perfusión intravenosa una vez cada 2 semanas a 5 mg/kg o una vez cada 3 semanas a 7,5 mg/kg. La dosis inicial se administró en 90 minutos, la segunda en 60 minutos y, si hubo buena tolerancia, todas las perfusiones siguientes en 30 minutos.

Los esquemas de quimioterapia, concomitante con bevacizumab, que recibieron los pacientes como parte de su tratamiento estándar fueron:

- mFOLFOX 6: bevacizumab 5 mg/kg, oxaliplatino 85 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas.
- FOLFIRI: bevacizumab 5 mg/kg, irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas.
- Bevacizumab y capecitabina: bevacizumab 7,5 mg/kg día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas en días 1–14 cada 3 semanas.
- XELOX: bevacizumab 7,5 mg/kg día 1, oxaliplatino 130 mg/m<sup>2</sup> día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas días 1-14 cada 3 semanas.

Para cetuximab, los esquemas de tratamiento quimioterápico fueron:

- Cetuximab monoterapia: cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup> semanal.
- FOLFIRI: cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup> (o 250 mg/m<sup>2</sup> días 1 y 8), irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas.

- Cetuximab e irinotecán: cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup>, irinotecán 180 mg/m<sup>2</sup> cada 2 semanas.
- Cetuximab, paclitaxel y carboplatino: cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup>, paclitaxel 60 mg/m<sup>2</sup>, carboplatino AUC 2 días 1, 8, 15 y 22 cada 28 días.
- mFOLFOX 6: cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup>, oxaliplatino 85 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas.
- XELOX: cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup> días 1, 8 y 15, oxaliplatino 130 mg/m<sup>2</sup> día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas días 1-14 cada 3 semanas.

## Determinación de las concentraciones de bevacizumab y cetuximab

La cuantificación de las concentraciones de mAbs fue llevada a cabo en la Unidad de Investigación del Complejo Hospitalario Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife, en mayo de 2020.

Las concentraciones de bevacizumab y cetuximab libres se determinaron en plasma EDTA mediante una técnica validada de ELISA: kit SHIKARI<sup>®</sup> Q-BEVA y kit SHIKARI<sup>®</sup> Q-CET (Matriks Biotek<sup>®</sup> Laboratories), respectivamente. Para ello se empleó el analizador automatizado TRITURUS (Grifols<sup>®</sup>) y se siguieron las especificaciones del fabricante.

Para bevacizumab, el volumen requerido de muestra fueron 5 µL. Para las muestras diluidas 1/300, el límite de detección fue 30 ng/mL (sensibilidad) y los límites inferior y superior de cuantificación fueron 30 ng/mL y 1.000 ng/mL, respectivamente, con un coeficiente de variación intra e interensayo (precisión) <15%. La exactitud estuvo entre 85-115% con muestras de plasma humano de concentraciones conocidas. Además, el fabricante del kit declara que no existen reacciones cruzadas con Ig séricas humanas (especificidad).

Para cetuximab, el volumen requerido de muestra fue de 10 µL. Para las muestras diluidas 1/100, el límite de detección fue 100 ng/mL (sensibilidad) y los

límites inferior y superior de cuantificación fueron 100 ng/mL y 3.000 ng/mL, respectivamente, con un coeficiente de variación intra e interensayo (precisión) <15%. La exactitud estuvo entre 85-115% con muestras de plasma humano de concentraciones conocidas. Tampoco existen reacciones cruzadas con Ig séricas humanas (especificidad).

Las concentraciones de bevacizumab y cetuximab se obtuvieron expresadas en µg/mL, y fueron transformadas posteriormente a mg/L, para poder comparar los resultados con los de otros estudios.

Para minimizar la variabilidad interna del procedimiento cada muestra se analizó por duplicado y se obtuvo la media como resultado. Se estableció repetir el análisis de aquellas muestras con una diferencia entre los dos valores superior al 5%.

## Variables recogidas

Las variables individuales, con potencial relevancia en la farmacocinética o en la supervivencia, estuvieron constituidas por datos demográficos, de laboratorio, clínicos y de tratamiento.

Dichas variables se registraron en un cuaderno de recogida de datos en Excel diseñado para tal fin, en el que se incluyeron los datos de cada paciente. La información se recopiló a partir de los datos consignados en el programa de prescripción electrónica asistida (Farhos®, Visual Limes) y el sistema de información clínica y administrativa (Selene Hospitales®, Cerner) del hospital. El registro se realizó codificando las variables. Las variables categóricas fueron codificadas con valores numéricos. Las variables dicotómicas sí/no se codificaron con 1/0, respectivamente. Las variables cuantitativas peso, talla, dosis y fosfatasa alcalina se registraron con números enteros (redondeados en el caso del peso y la dosis), la albúmina se registró con un decimal y la variable concentración se incluyó con dos decimales. En ausencia del dato de una variable se dejó en blanco.

Algunas de las variables recogidas en el estudio se atienen a criterios estándar:

- *Escala ECOG PS (170)*: mide el nivel de funcionalidad del paciente en términos de su capacidad de cuidado, actividad diaria y actividad física. Es una escala desarrollada por el Eastern Cooperative Oncology Group y publicada en 1982.
- *Estadio*: definido por el sistema TNM de la *American Joint Committee on Cancer* y el *International Union for Cancer Control (171)*.
- *Comorbilidad*: el índice de comorbilidad de Charlson (172) se desarrolló para clasificar el pronóstico de muerte al año atribuible a la comorbilidad en estudios longitudinales y sirve para estratificar a los pacientes y controlar el efecto de confusión de la comorbilidad sobre la supervivencia u otros resultados (173). La adaptación de Deyo (174) incluye los códigos ICD-9-CM de Clasificación Internacional de Enfermedades (175), que es la que se ha utilizado en este estudio.
- *Respuesta observada*: la respuesta al tratamiento de los tumores sólidos se basa en los cambios de tamaño. RECIST<sup>23</sup> (176) es el método para monitorizar el tratamiento mediante medidas unidimensionales de los tumores, obtenidas con técnicas de imagen reproducibles como son el TAC, la RM y la PET (177). Para ello, en el estudio inicial se definen las lesiones diana representativas y reproducibles durante el seguimiento. Puede haber 4 tipos de respuesta (177):
  - Respuesta completa (RC): cuando desaparecen la enfermedad medible y la evaluable, sin que aparezcan nuevas lesiones, con ausencia de síntomas y normalización de marcadores, durante al menos 4 semanas.
  - Respuesta parcial (RP): cuando se reduce al menos un 30% la suma de los diámetros de las lesiones diana.
  - Progresión de la enfermedad (PE): cuando aumenta el 20%, se produce un incremento absoluto de al menos 5 mm en la suma de los diámetros de las lesiones diana, o aparecen nuevas metástasis o progresan las lesiones no diana.

---

<sup>23</sup> Del inglés *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*

- Enfermedad estable (EE): significa que no hay suficiente reducción o suficiente incremento para considerarla RP o PE, respectivamente.

El resto de las variables recopiladas en el estudio, su definición y codificación en el mismo se recogen en el Anexo I.

## Criterios de valoración clínicos

La evaluación de la respuesta mediante criterios RECIST versión 1.1 se realizó cada 12 semanas o cuando estuvo clínicamente indicada. Las respuestas tumorales de los pacientes se clasificaron en 2 categorías: beneficio clínico (EE + RP + RC) o progresión (PE).

La SLP se definió como el tiempo transcurrido entre la primera administración del mAb y la progresión de la enfermedad confirmada por criterios RECIST v1.1 o fallecimiento por cualquier causa, lo primero que ocurra. Y la SG se definió como el tiempo transcurrido entre la primera administración del mAb y el fallecimiento por cualquier causa. Los pacientes que no experimentaron ninguno de los dos eventos fueron censurados en la fecha de último contacto.

## Preprocesamiento de datos

Previo al análisis estadístico se procedió a la validación de los datos para garantizar la calidad de éstos. Por un lado, se completaron registros incompletos, se identificaron y corrigieron o eliminaron datos erróneos y se resolvieron los datos inconsistentes. Por otro, se llevó a cabo un análisis exploratorio de los datos que sirvió para mejorar la base de datos:

- Se añadió una variable transformada a partir de otras, denominada *Posología*, que recogió la posología de bevacizumab y cetuximab para el primer nivel de cada paciente, codificada como: bevacizumab 5 mg/Kg cada 2 semanas (0), bevacizumab 7,5 mg/Kg cada 3 semanas (1), cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup> semanal (2) o cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup> cada 2 semanas (3).

- Se eliminaron los niveles de fármaco ( $C^{SS}_{min}$ ) y sus variables asociadas en los casos en los que, a pesar de continuar con el mAb de estudio, había ocurrido una progresión de la enfermedad (PE) en el  $C^{SS}_{min}$  previo.
- Se eliminaron pacientes con CCR que no eran metastásicos a la inclusión.
- Se eliminaron pacientes con nivel de fármaco no extraído en el estado estacionario teórico.

Se validó una desviación del protocolo: inclusión de 2 pacientes con cáncer de esófago clasificados como CCyC. Puesto que su tratamiento fue similar, se consideraron válidos para la evaluación de los objetivos del estudio, excepto los relacionados con la supervivencia, ya que ambas enfermedades tienen distinto pronóstico.

Para el preprocesamiento de los datos se emplearon los programas Microsoft Office Excel 365 y Knime Analytics Platform versión 4.2.1.

## Análisis estadístico

Las variables numéricas se muestran como medianas y percentiles 25 y 75 (P25; P75) y las variables categóricas se presentan como frecuencias absolutas y relativas.

Para evaluar la asociación entre el  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab y el beneficio clínico, se realizó un análisis de regresión de ecuaciones de estimación generalizadas (GEE<sup>24</sup>) (178) para cada fármaco. Este análisis tiene en cuenta la correlación de las diferentes medidas de  $C^{SS}_{min}$  a lo largo del tiempo para un mismo paciente. La variable dependiente fue el beneficio clínico (sí o no) en cada punto temporal de la evaluación del tumor. La función de enlace fue *logit* y la estructura de covarianza fue intercambiable. Como variable independiente se introdujo la  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab en cada punto temporal. La odds ratio (OR) muestra la asociación por cada mg/L adicional de  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab con la probabilidad de tener beneficio clínico. También se obtuvieron los correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC 95%). De

---

<sup>24</sup> Del inglés *Generalized Estimating Equations*

igual forma se evaluó la relación entre el  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab o cetuximab y los efectos adversos y el nivel de funcionalidad del paciente.

La mediana de seguimiento se estimó mediante el método de Kaplan-Meier inverso (179). Se evaluaron la SG y la SLP. Para cada fármaco, se desarrollaron cuatro modelos univariados de riesgos proporcionales de Cox, para evaluar la asociación entre la mediana de  $C^{SS}_{min}$  (mg/L) o la última medida de  $C^{SS}_{min}$  con cada uno de los resultados (SG y SLP, en cada patología). Las curvas de supervivencia se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier. Se evaluó la asunción de riesgos proporcionales mediante los residuos de Schoenfeld.

Se estimó, por fármaco y patología, el área bajo la curva de características operativas del receptor (AUC-ROC<sup>25</sup>) tiempo-dependiente a 9 y 12 meses para la SLP y a 24 meses para la SG con la  $C^{SS}_{min}$  mediana y última de cada paciente. También se llevó a cabo el AUC-ROC con todas las concentraciones de bevacizumab y cetuximab, respectivamente. Si el AUC-ROC obtenido era superior a 0,7, se estimó un punto de corte óptimo con el método de Youden y de Liu.

Asimismo, se analizó con la prueba U de Mann-Whitney la relación entre la posología de cada mAb y la primera  $C^{SS}_{min}$  obtenida por paciente.

Por último, también se desarrollaron modelos univariados de riesgos proporcionales de Cox, para evaluar la asociación entre los factores individuales con una influencia potencial en la farmacocinética de estos mAbs o en la supervivencia de los pacientes, con cada uno de los resultados (SG y SLP): sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), ECOG al diagnóstico, comorbilidad, metástasis, principal efecto adverso de cada mAb (hipertensión arterial en el caso de bevacizumab y toxicidad cutánea en el caso de cetuximab), posología, tratamientos quimioterápicos previos, mediana de concentración de fosfatasa alcalina (para incrementos de 10 en 10 U/L) y mediana de concentración de albúmina.

El nivel de significación se estableció en 0,05. El software utilizado fue Stata/IC v.16. (StataCorp. 2019. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LLC).

---

<sup>25</sup> Del inglés *Area Under the Curve of Receiver Characteristic Operator*

## Fuentes de información y estrategia de búsqueda bibliográfica

Para la búsqueda del estado del arte sobre la exposición-respuesta o la monitorización de niveles plasmáticos de bevacizumab y cetuximab y su correlación con la respuesta clínica en CCRm y CCyC, se buscó información científica usando la metodología PICO, identificando:

- P (de paciente/problema/población): pacientes con CCR o CCyC en tratamiento con cetuximab y pacientes con CCR en tratamiento con bevacizumab.
- I (de intervención): medida de niveles plasmáticos o parámetros farmacocinéticos de cetuximab o bevacizumab.
- C (de comparación): en nuestro caso sin fármaco comparador.
- O (de Outcome): resultados clínicos o relación dosis-respuesta.

La búsqueda se llevó a cabo en las siguientes bases de datos de literatura médica:

- Base de datos especializada en revisiones sistemáticas: Cochrane Library (Wiley).
- Bases de datos generales: Medline (PubMed) y Embase (OVID).

Se realizó una búsqueda en lenguaje controlado, utilizando descriptores, a partir de los siguientes términos: cetuximab, bevacizumab, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, farmacocinética, farmacodinamia, aclaramiento de fármaco, modelo compartimental, monitorización terapéutica de fármacos, concentración del fármaco en sangre, exposición de fármaco, supervivencia libre de progresión, supervivencia global, relación exposición-respuesta, relación dosis-respuesta, resultado clínico, eficacia del fármaco, respuesta al fármaco.

Para hacer una búsqueda más exhaustiva, también se incorporaron términos libres para “cetuximab” y “bevacizumab” en el título de los artículos. En el caso del término “farmacodinamia”, cuando no existía dicho descriptor, se incluyó la búsqueda del término libre en título, resumen y/o abstract.

La estrategia de búsqueda se adaptó a cada una de las bases de datos y se incluyeron todo tipo de publicaciones (artículos, resúmenes de congresos, editoriales, etc.), en inglés o en español y sin restricción de año. Ver Anexo I.

Además, se obtuvieron artículos adicionales de las listas de referencias de artículos seleccionados o de la revisión continua de la literatura, para localizar aquellas publicaciones que no se recuperaron con las búsquedas automatizadas. Por otro lado, se eliminaron las referencias duplicadas.

Para identificar las publicaciones potencialmente relevantes y seleccionar aquellas para su lectura a texto completo, los criterios de inclusión establecidos fueron:

- Fármaco de estudio: bevacizumab y cetuximab.
- Patología estudiada: cáncer colorrectal o cáncer de cabeza y cuello.
- Referencia a alguno de los siguientes conceptos: niveles de cetuximab o bevacizumab en sangre; relación entre el nivel de cetuximab o bevacizumab en sangre y los resultados clínicos; parámetros farmacocinéticos de cetuximab o bevacizumab.

La última revisión de la evidencia científica a través de una búsqueda bibliográfica estructurada se realizó el 12/01/2021. En la Figura 9 y Figura 10 se muestran los diagramas de flujo seguidos para bevacizumab y cetuximab, respectivamente.

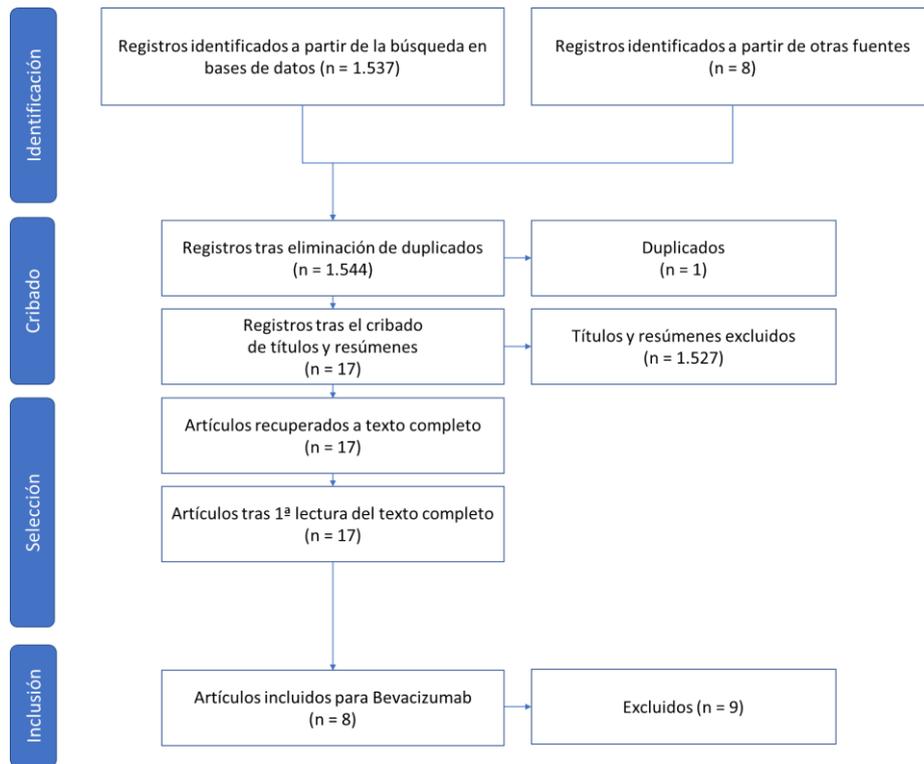


Figura 9. Diagrama de flujo de la revisión de la bibliografía de bevacizumab.

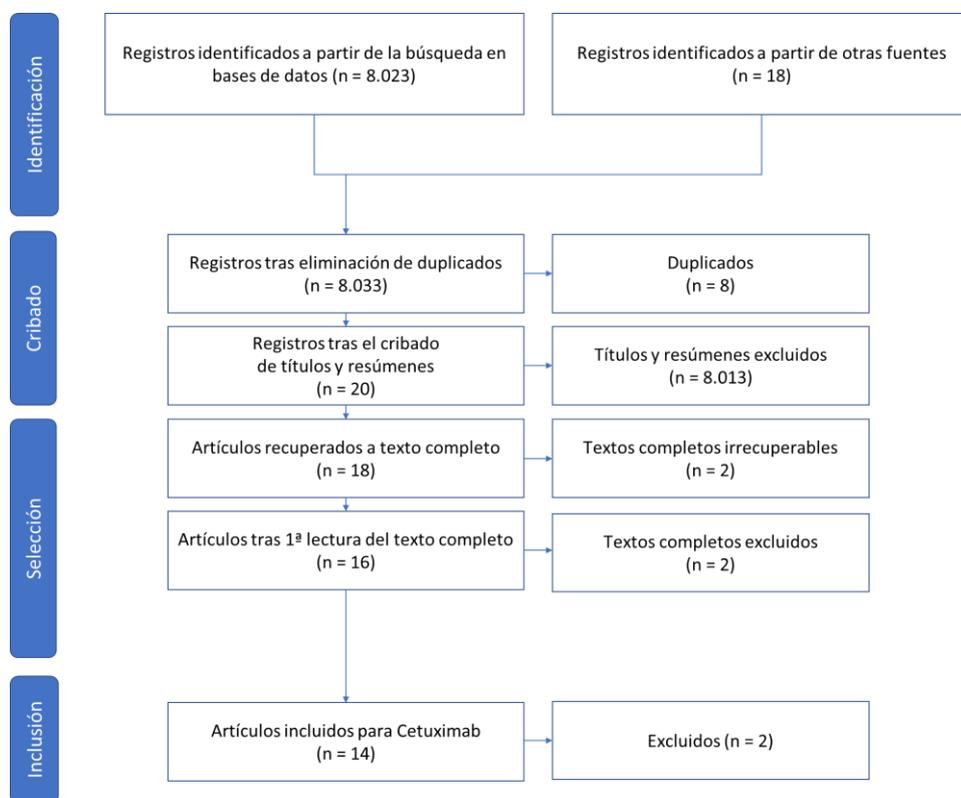


Figura 10. Diagrama de flujo de la revisión de la bibliografía de cetuximab.



# Resultados



Firmaron el consentimiento informado 57 pacientes. De ellos, 2 pacientes recibieron ambos fármacos en líneas sucesivas de tratamiento y a 11 pacientes no se les llegó a realizar extracción por diversas causas (no recogidas).

Se realizó una primera determinación de concentraciones en enero de 2019 con las muestras disponibles, para un primer corte de datos. Posteriormente, en mayo de 2020, se analizaron todas las muestras simultáneamente y no hubo ninguna cuyo análisis por duplicado tuviera una diferencia entre los dos valores superior al 5%.

Como se ha expuesto previamente, y dadas las particularidades de cada fármaco, se presentan sus resultados por separado.

## **Bevacizumab**

De los 31 pacientes en tratamiento con bevacizumab, se eliminaron tres en el preprocesamiento de los datos, dos porque no estaban en estadio metastásico y uno porque no había alcanzado el estado estacionario teórico definido previamente.

### ***Análisis descriptivo de pacientes y $C^{ss}$ min del grupo de tratamiento con bevacizumab***

Las características basales de la población de pacientes con bevacizumab se recogen en la Tabla 1. Todos los pacientes en tratamiento con bevacizumab fueron diagnosticados de CCR con histología de adenocarcinoma, el 75% de los pacientes con estadio IV al diagnóstico y el 100% metastásicos a la inclusión. Solo 9 pacientes a la inclusión (32%) se encontraban en primera línea para la enfermedad metastásica (mediana de 1 línea previa, máximo 5 líneas previas). Ninguno se encontraba en tratamiento radioterápico, aunque 6 (21,43%) pacientes habían recibido radioterapia previa y 16 (57,14%) pacientes habían recibido tratamiento quirúrgico.

Característica	Mediana	Rango intercuartílico
<b>Variables continuas</b>		
Edad a la inclusión, años	75	69-78
Peso, Kg	70	58-79
Altura, cm	162	155-168
IMC, Kg/m <sup>2</sup>	26	23-29
	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Variables categóricas</b>		
Sexo		
Hombre	17	60,71
Mujer	11	39,29
Localización tumor primario		
Colon	17	60,71
Recto	11	39,29
ECOG PS al diagnóstico		
0	14	50
≥1	14	50
Metástasis pulmonares a la inclusión	15	53,57
Metástasis peritoneales a la inclusión	7	25
Metástasis hepáticas a la inclusión	20	71,43
Otra localización de las metástasis a la inclusión	7	25
N.º de órganos afectados		
1	13	46,43
≥2	15	53,57
N.º metástasis		
1-5	13	46,43
6-10	9	32,14
>10	6	21,43
Comorbilidades		
0	16	57,14
≥1	12	42,86
Esquema de QT a la inclusión (+ bevacizumab)		
XELOX	4	14,29
mFOLFOX 6	5	17,85
FOLFIRI	7	25,00
Capecitabina	12	42,86
Posología Bevacizumab		
5 mg/kg/2sem	11	39,29
7,5 mg/kg/3sem	17	60,71

**Tabla 1. Características basales de la población de pacientes con bevacizumab.** **IMC:** Índice de Masa Corporal; **ECOG PS:** Eastern Cooperative Oncology Group Scale of Performance Status; **QT:** quimioterapia; **XELOX:** bevacizumab 7,5 mg/kg día 1, oxaliplatino 130 mg/m<sup>2</sup> día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas días 1-14 cada 3 semanas; **mFOLFOX 6:** bevacizumab 5 mg/kg, oxaliplatino 85 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas; **FOLFIRI:** bevacizumab 5 mg/kg, irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas; **Capecitabina:** bevacizumab 7,5 mg/kg día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas en días 1–14 cada 3 semanas.

Se eliminó un paciente por presentar una concentración de 198,68 mg/L, que fue considerada como valor fuera de rango, al superar 1,5 veces el valor absoluto del rango intercuartílico.

Se analizaron 50 muestras de 27 pacientes con CCRm (mínimo 1 concentración por paciente y máximo 6, media de 1,9), la  $C^{ss}_{min}$  media de bevacizumab fue  $42,42 \pm 36,37$  mg/L (coeficiente de variación, CV: 86%, rango 1,76 - 171,4 mg/L), mediana de 32,28 mg/L.

Analizando las concentraciones por pauta posológica, el régimen de dosificación que alcanzó concentraciones medianas más altas (41,3 mg/L) fue el de 7,5 mg/kg cada 3 semanas, el más frecuente en la población de estudio (Tabla 2).

Posología de bevacizumab	Conc. media (mg/L)	DE (mg/L)	Conc. mediana (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)
5 mg/kg cada 2 semanas	27,56	19,40	26,30	1,76	72,03
7,5 mg/kg cada 3 semanas	53,19	41,96	41,3	2,03	171,4

**Tabla 2. Descripción de las concentraciones valle en estado estacionario de bevacizumab según posología. Conc.:** concentración; **DE:** desviación estándar.

## Análisis descriptivo de las $C^{ss}$ min de bevacizumab según tasa de control de la enfermedad

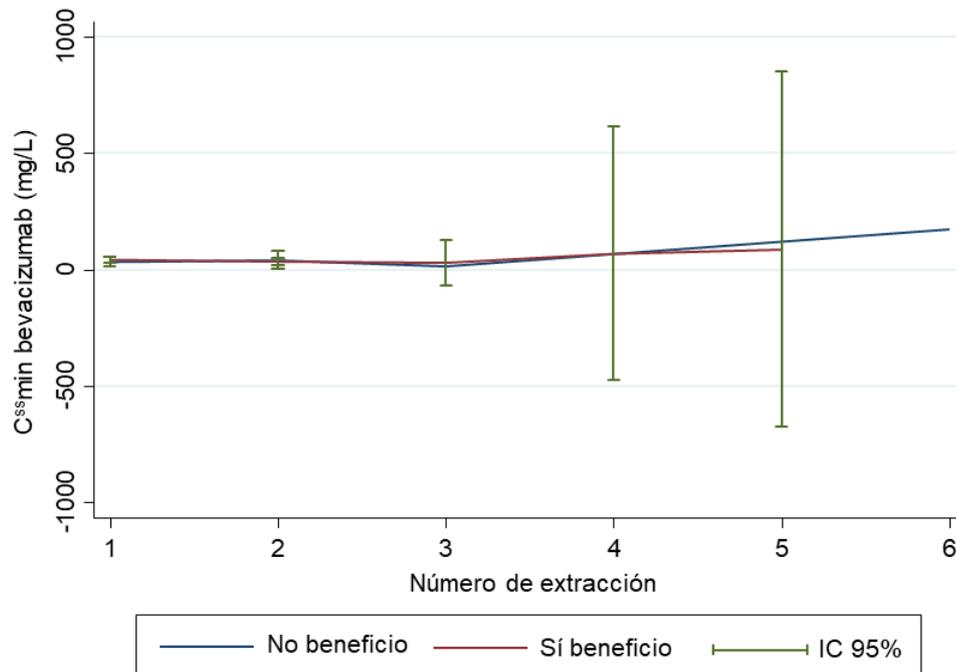
Las  $C^{ss}$  min de bevacizumab, con relación al beneficio clínico, no fueron uniformes según el orden de extracción de las muestras en cada paciente, como puede observarse en la Tabla 3.

Orden extracción	Beneficio clínico	N	Conc. media (mg/L)	DE (mg/L)	P50 (mg/L)	P25 (mg/L)	P75 (mg/L)
Primera	No	7	33,63	20,79	35,85	16,49	38,01
	Sí	20	40,32	27,49	37,90	19,95	51,17
	<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>38,59</b>	<b>25,71</b>	<b>35,85</b>	<b>18,14</b>	<b>48,90</b>
Segunda	No	6	39,96	35,98	30,75	11,92	71,40
	Sí	8	33,00	20,14	27,24	25,46	42,27
	<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>35,98</b>	<b>27,00</b>	<b>27,24</b>	<b>16,10</b>	<b>45,39</b>
Tercera	No	1	15,58	NA	15,58	15,58	15,58
	Sí	3	26,92	39,16	6,96	1,76	72,03
	<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>24,08</b>	<b>32,47</b>	<b>11,27</b>	<b>4,36</b>	<b>43,81</b>
Cuarta	Sí	2	67,54	60,74	67,54	24,59	110,49
	<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>67,54</b>	<b>60,74</b>	<b>67,54</b>	<b>24,59</b>	<b>110,49</b>
Quinta	Sí	2	86,40	84,99	86,40	26,30	146,49
	<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>86,40</b>	<b>84,99</b>	<b>86,40</b>	<b>26,30</b>	<b>146,49</b>
Sexta	No	1	171,40	NA	171,40	171,40	171,40
	<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>171,40</b>	<b>NA</b>	<b>171,40</b>	<b>171,40</b>	<b>171,40</b>

**Tabla 3. Características de las concentraciones valle en estado estacionario de bevacizumab según el orden de extracción y la evaluación RECIST. Beneficio clínico: EE + RP + RC; Conc.:** concentración; **DE:** desviación estándar.

## Relación exposición-respuesta

Las concentraciones plasmáticas por orden de extracción se mantuvieron constantes independientemente de la respuesta al tratamiento, como se observa en la Figura 11.



**Figura 11. Concentraciones plasmáticas de bevacizumab (medias e IC95%) en función la respuesta al tratamiento según el orden de extracción de la muestra en cada paciente.** Los valores negativos son debidos a la estimación del IC95% y deben interpretarse como valores iguales a 0.

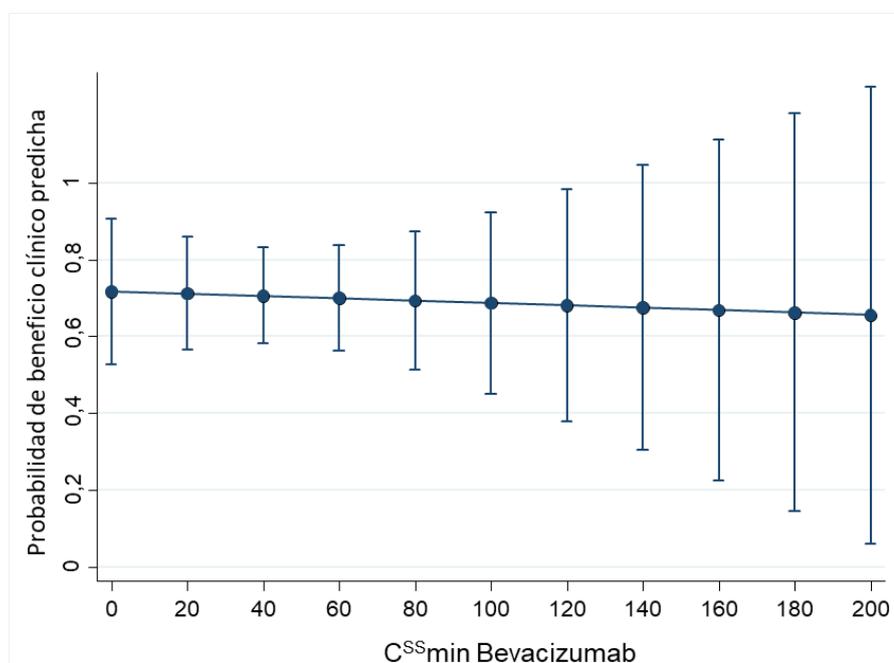
No se encontró asociación entre la exposición a bevacizumab y la respuesta clínica. El modelo de GEE no sugirió ninguna asociación positiva entre  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab y el beneficio clínico (OR 0,99; IC 95%: 0,98-1,02,  $p=0,863$ ). Es más, la OR fue contraintuitiva: por cada mg/L adicional, menor probabilidad de respuesta (como se ha visto en la descriptiva de las concentraciones), aunque sin significación estadística.

Se obtuvo la probabilidad de beneficio clínico predicha por el modelo (IC 95%) respecto a incrementos de 20 mg/L de  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab (Tabla 4, Figura 12). Como puede apreciarse en la Figura 12, la probabilidad de respuesta

permanece prácticamente constante alrededor del 70% independientemente de la concentración.

$C^{SSmin}$ (mg/L)	Probabilidad	p-valor	IC 95%	
0	0,717	$\leq 0,001$	0,53	0,91
20	0,711	$\leq 0,001$	0,56	0,86
40	0,705	$\leq 0,001$	0,58	0,83
60	0,699	$\leq 0,001$	0,56	0,84
80	0,693	$\leq 0,001$	0,51	0,87
100	0,687	$\leq 0,001$	0,45	0,92
120	0,681	$\leq 0,001$	0,38	0,98
140	0,675	$\leq 0,001$	0,30	1,05
160	0,668	0,003	0,22	1,11
180	0,662	0,012	0,14	1,18
200	0,655	0,031	0,06	1,25

**Tabla 4. Método Delta para la predicción de probabilidad de beneficio clínico en función de la  $C^{SSmin}$  de bevacizumab.**

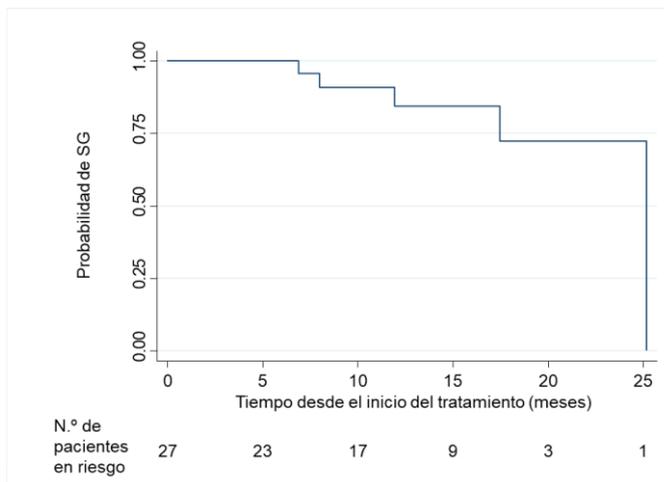


**Figura 12. Probabilidad de beneficio clínico predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{SSmin}$  de bevacizumab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).**

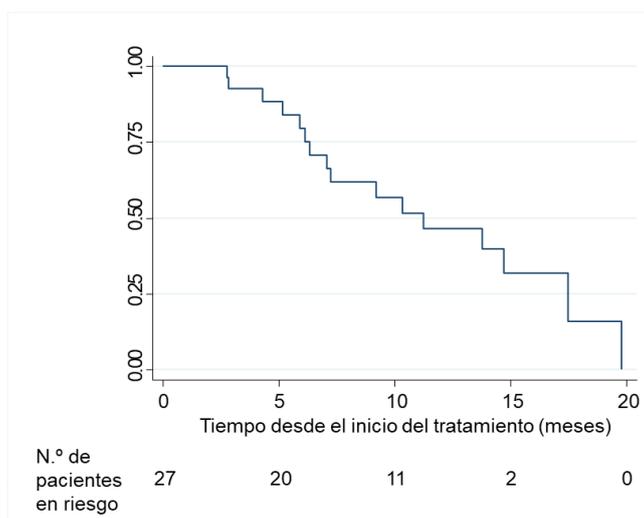
## Relación entre la C<sup>SS</sup>min y la supervivencia

La mediana de seguimiento de los 27 pacientes en tratamiento con bevacizumab fue de 14 meses (IC 95%: 9,30-16,47). La mediana de SG fue de 25 meses (IC95%: 17,47- no estimable) (Figura 13). La regresión de Cox mostró que mayores C<sup>SS</sup>min medianas estaban asociadas con mejores SG (HR 0,86, IC 95%: 0,73-1,01, p=0,060). También se observó esta relación con la última C<sup>SS</sup>min de cada paciente (HR=0,87, IC 95%: 0,74-1,01, p=0,064).

La mediana de SLP fue de 11 meses (IC 95% 6,33-17,47) (Figura 14). Por el contrario, no se observó ninguna asociación entre la mediana de las C<sup>SS</sup>min de cada paciente (HR 0,98, IC 95%: 0,96-1,01, p=0,213) con la SLP, ni con la última C<sup>SS</sup>min (HR 0,99, IC 95%: 0,98-1,01, p=0,312).



**Figura 13. Curva de Kaplan-Meier de SG para los pacientes con CCRm en tratamiento con bevacizumab.**



**Figura 14. Curva de Kaplan-Meier de SLP para los pacientes con CCRm en tratamiento con bevacizumab.**

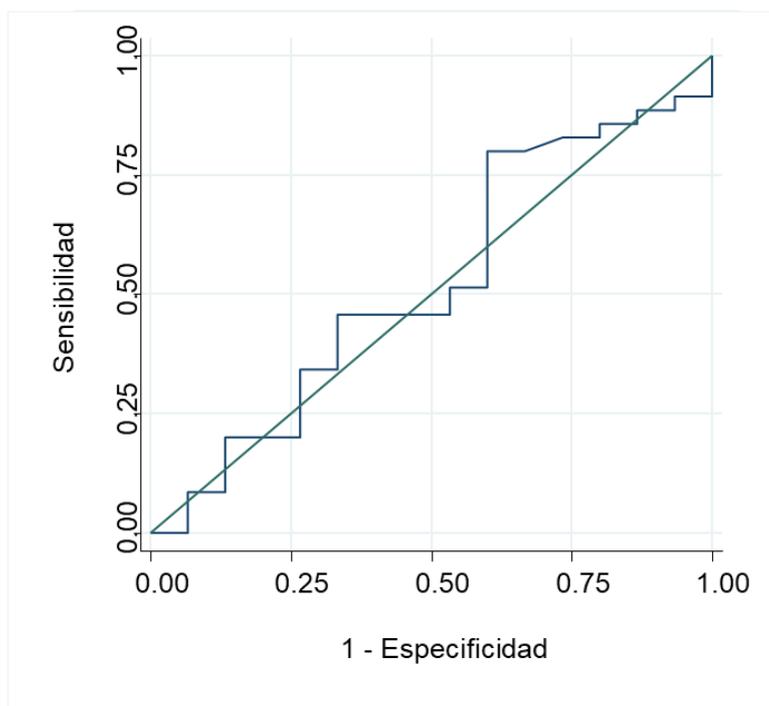
## Valor de $C^{SS}$ min con mayor probabilidad de beneficio clínico

Se estimó el AUC-ROC tiempo-dependiente con la  $C^{SS}$  min mediana y última, tanto para la SG (a 24 meses) como para la SLP (a 9 y 12 meses), pero ningún valor alcanzó un valor  $\geq 0,7$  para considerarlo buen biomarcador (Tabla 5). Por tanto, no se buscó punto de corte óptimo.

	SG (24 meses)	SLP (12 meses)	SLP (9 meses)
$C^{SS}$ min mediana	0,255	0,395	0,351
$C^{SS}$ min última	0,120	0,418	0,415

**Tabla 5.** Área bajo la curva ROC para SG y SLP a 24, 12 y 9 meses, con el método de Kaplan Meier, para bevacizumab en CCRm.

El análisis de la curva de ROC (n=50) tuvo poca capacidad discriminatoria (AUC-ROC 0,521, IC 95%: 0,34-0,71) y, por tanto, no se estimó punto de corte (Figura 15).



**Figura 15.** Curva ROC para  $C^{SS}$  min de bevacizumab.

## Relación entre la $C^{ss}_{min}$ y los efectos adversos

No se observó relación entre las  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab en cada muestreo y los efectos adversos en ese momento (cualquier efecto adverso) (OR 1,00; IC 95%= 0,99-1,02,  $p=0,633$ ). Ni, más concretamente, con hipertensión, principal toxicidad de clase observada con el fármaco (OR 1,00, IC95%= 0,99-1,02,  $p=0,862$ ), como se puede observar en la Figura 16.

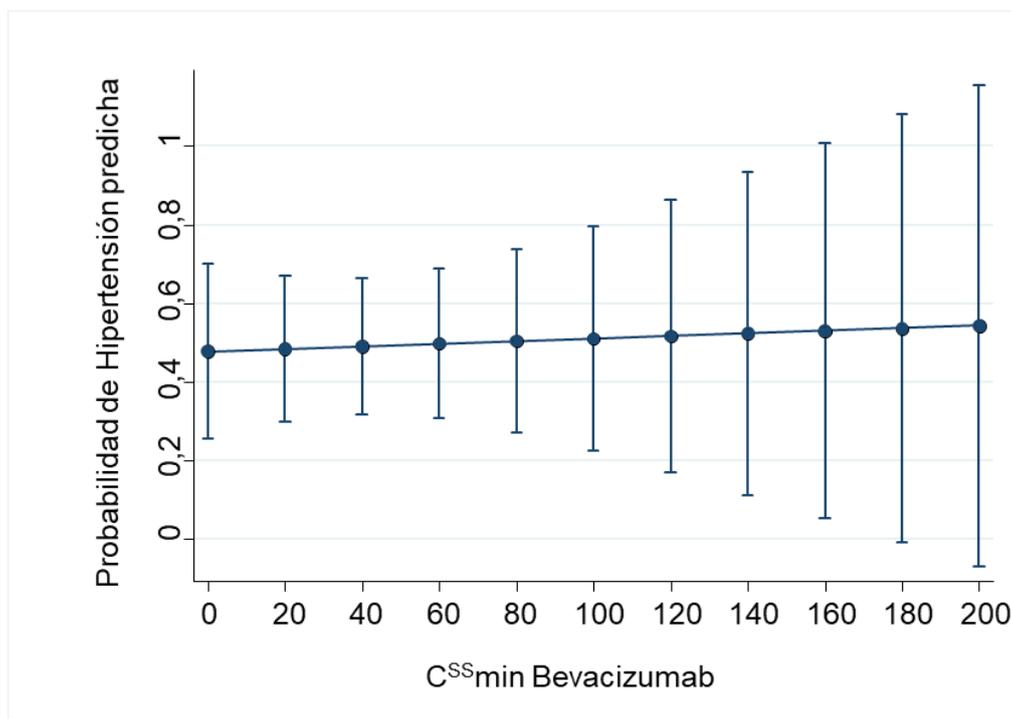


Figura 16. Probabilidad de hipertensión predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).

## Relación entre la $C^{ss}_{min}$ y el nivel de funcionalidad

No se observó relación entre la  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab en cada muestreo y el ECOG en ese momento (OR 0,99; IC 95%= 0,97-1,02,  $p=0,837$ ) (Figura 17).

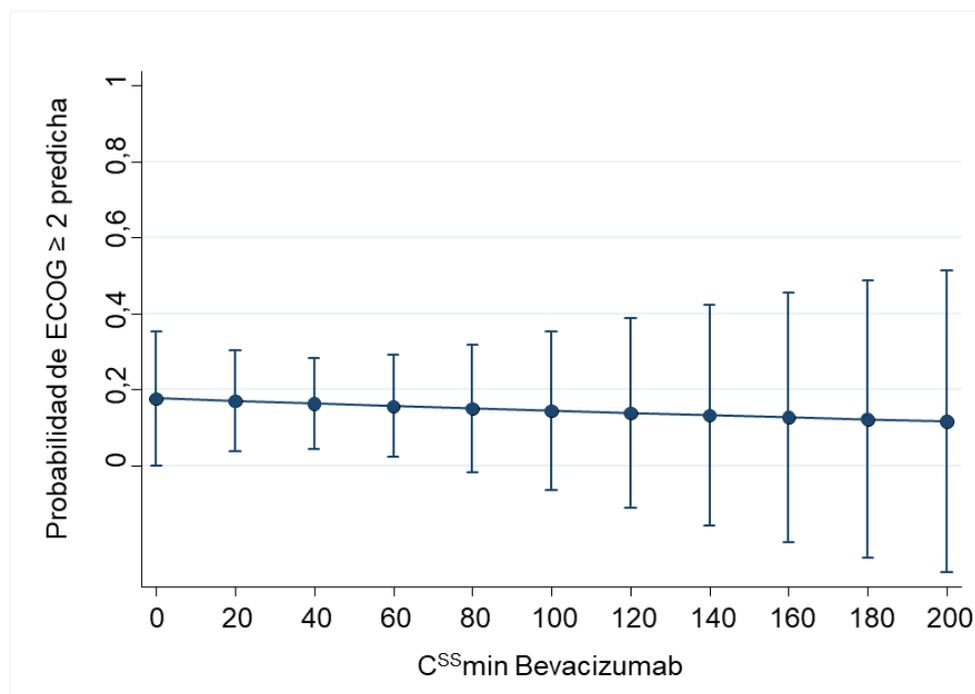


Figura 17. Probabilidad de ECOG PS  $\geq 2$  predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).

## Relación entre la primera $C^{ss}_{min}$ y la posología

Para la primera  $C^{ss}_{min}$  obtenida por paciente, se obtuvieron  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab más elevadas con la administración cada 3 semanas (7,5 mg/kg) que con la administración cada 2 semanas (5 mg/kg) ( $p=0,030$ ) (Tabla 6).

Posología de bevacizumab	N	Media (mg/L)	DE (mg/L)	P50 (mg/L)	P25 (mg/L)	P75 (mg/L)
5 mg/kg cada 2 semanas	11	26,54	18,86	23,22	12,64	43,09
7,5 mg/kg cada 3 semanas	16	46,86	27,01	42,93	28,66	62,52

Tabla 6. Características de la primera  $C^{ss}_{min}$  en función de la posología de bevacizumab. DE: desviación estándar.

## Análisis univariable de Cox

El análisis de regresión de Cox no encontró asociación entre la SG y ninguna de las variables predictoras evaluadas (Tabla 7). Sin embargo, sí que identificó la edad ( $p=0,029$ ), la mediana de concentraciones de FA ( $p=0,049$ ) y la mediana de concentraciones de albúmina ( $p=0,059$ ) como factores de riesgo de progresión (Tabla 8).

Variable	Hazard ratio	IC 95%	p-valor
Sexo (hombre)	0,63	0,09-4,56	0,648
Edad	1,02	0,89-1,18	0,754
IMC	0,88	0,68-1,15	0,346
Comorbilidad (0 vs 1)	0,52	0,05-4,98	0,568
Metástasis (1-5 vs 6-10)	2,47	0,22-28,01	0,466
Hipertensión arterial (sí vs no)	1,73	0,18-16,78	0,638
Posología (7,5 mg/kg cada 3 semanas)	0,62	0,09-4,42	0,634
Tratamientos QT previos	0,72	0,29-1,81	0,486
Mediana concentración FA	1,02	0,99-1,06	0,229
Mediana concentración Albúmina	0,33	0,02-4,52	0,405

**Tabla 7. Análisis univariable de Cox de los factores de riesgo para SG para bevacizumab (n=27).** IMC: Índice de Masa Corporal; QT: quimioterapia; FA: Fosfatasa Alcalina.

Variable	Hazard ratio	IC 95%	p-valor
Sexo (hombre)	0,46	0,16-1,34	0,154
<b>Edad</b>	<b>1,09</b>	<b>1,01-1,18</b>	<b>0,029</b>
IMC	1,03	0,90-1,17	0,701
Comorbilidad (0 vs 1)	1,54	0,52-4,53	0,436
Metástasis (1-5 vs 6-10)	1,11	0,37-3,31	0,857
Hipertensión arterial (sí vs no)	1,18	0,39-3,53	0,771
Posología (7,5 mg/kg cada 3 semanas)	1,59	0,52-4,83	0,412
Tratamientos QT previos	1,05	0,71-1,56	0,799
<b>Mediana concentración FA</b>	<b>1,03</b>	<b>1,00-1,06</b>	<b>0,049</b>
<b>Mediana concentración Albúmina</b>	<b>0,27</b>	<b>0,07-1,05</b>	<b>0,059</b>

**Tabla 8. Análisis univariable de Cox de los factores de riesgo para SLP para bevacizumab (n=27).** IMC: Índice de Masa Corporal; QT: quimioterapia; FA: Fosfatasa Alcalina.

## Cetuximab

De los 17 pacientes en tratamiento con cetuximab incluidos en el estudio, se han evaluado a 16. En el preprocesamiento de los datos se eliminó un paciente con CCR porque no estaba en estadio metastásico. Dos pacientes en el grupo de CCyC tuvieron diagnóstico histológico de cáncer de esófago y se mantuvieron en la valoración de la respuesta, pero se excluyeron de los análisis de supervivencia por la posibilidad de presentar diferente pronóstico.

### ***Análisis descriptivo de pacientes y C<sup>SS</sup>min de los grupos de tratamiento con cetuximab***

De los pacientes evaluados, siete (43,75%) estaban diagnosticados de CCRm y nueve (56,25%) de CCyC. Todos los pacientes en tratamiento con cetuximab para CCRm eran Wild Type para RAS, según protocolo del centro.

Las características basales de la población de pacientes con cetuximab se recogen en la Tabla 9. Nueve de los pacientes (56,25%) en tratamiento con cetuximab tuvieron histología epidermoide y siete (43,75%) adenocarcinoma. El 56,25% de los pacientes fueron estadio IV al diagnóstico y el 100% a la inclusión, aunque cuatro (25%) no presentaron metástasis a distancia (pacientes con CCyC).

Siete pacientes a la inclusión (43,75%) se encontraban en primera línea para la enfermedad metastásica (mediana de 1 línea previa, máximo 3 líneas previas) y ninguno se encontraba en tratamiento radioterápico. Ocho pacientes (50%) habían recibido radioterapia previa y 10 (62,5%) había recibido tratamiento quirúrgico.

Característica	Mediana	Rango intercuartílico
<b>VARIABLES CONTINUAS</b>		
Edad a la inclusión, años	73	69-75
Peso, Kg	65	58-71
Altura, cm	160	158-163
Superficie corporal, cm <sup>2</sup>	1,69	1,59-1,74
	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>VARIABLES CATEGÓRICAS</b>		
Sexo		
Hombre	12	75
Mujer	4	25
Localización tumor primario		
Colorrectal	7	43,75
Colon	4	-
Recto	3	-
Cabeza y cuello	9	56,25
Orofaringe	4	-
Laringe	4	-
Faringe	1	-
ECOG PS al diagnóstico		
0	4	25,00
≥1	12	75,00
Metástasis pulmonares a la inclusión		
Metástasis peritoneales a la inclusión	6	37,50
Metástasis hepáticas a la inclusión	4	25,00
Otra localización de las metástasis a la inclusión	5	31,25
N.º de órganos afectados		
0-1	10	62,50
≥2	6	37,50
N.º metástasis		
0	4	25,00
1-5	7	43,75
6-10	4	25,00
>10	1	6,25
Comorbilidades		
0	5	31,25
≥1	11	68,75
Esquema de QT a la inclusión (+ cetuximab)		
Cetuximab monoterapia	3	18,75
FOLFIRI	3	18,75
Irinotecán	1	6,25
Paclitaxel-carboplatino	7	43,75
mFOLFOX6	1	6,25
XELOX	1	6,25
Posología Cetuximab		
250 mg/m <sup>2</sup> /sem	11	68,75
500 mg/m <sup>2</sup> /2sem	5	31,25

**Tabla 9. Características basales de la población de pacientes con cetuximab.** ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group Scale of Performance Status; QT: quimioterapia; **Cetuximab monoterapia:** cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup> semanal; **FOLFIRI:** cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup> (o 250 mg/m<sup>2</sup> días 1 y 8), irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas; **Irinotecán:** cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup>, irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup> cada 2 semanas; **Paclitaxel-carboplatino:** cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup>, paclitaxel 60 mg/m<sup>2</sup>, carboplatino AUC 2 días 1, 8, 15 y 22 cada 28 días; **mFOLFOX 6:** cetuximab 500 mg/m<sup>2</sup>, oxaliplatino 85 mg/m<sup>2</sup>, folinato cálcico 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracilo 400 mg/m<sup>2</sup> en bolo, fluorouracilo 2.400 mg/m<sup>2</sup> en perfusión de 46 horas cada 2 semanas; **XELOX:** cetuximab 250 mg/m<sup>2</sup> días 1, 8 y 15, oxaliplatino 130 mg/m<sup>2</sup> día 1, capecitabina 1.000 mg/m<sup>2</sup> cada 12 horas días 1-14 cada 3 semanas.

## Resultados

No se encontró ningún valor fuera de rango por la regla de 1,5 x el valor absoluto del rango intercuartílico. Se analizaron 30 muestras de 16 pacientes con CCRm y CCyC (mínimo 1 concentración por paciente y máximo 4, media de 1,9), la  $C^{ss}_{min}$  media de cetuximab fue  $43,18 \pm 35,73$  mg/L (CV: 83%, rango 0 – 107,4 mg/L), mediana de 26,86 mg/L.

Analizando las concentraciones por pauta posológica, el régimen de dosificación que alcanzó concentraciones medianas más altas (75,08 mg/L) fue el de 500 mg/m<sup>2</sup> cada 2 semanas, el menos frecuente en la población de estudio (Tabla 10).

Posología de cetuximab	Conc. media (mg/L)	DE (mg/L)	Conc. mediana (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)
250 mg/m <sup>2</sup> cada semana	32,06	30,38	19,21	0	107,40
500 mg/m <sup>2</sup> cada 2 semanas	65,44	36,61	75,08	3,10	103,97

**Tabla 10. Descripción de las concentraciones valle en estado estacionario de cetuximab según posología. Conc.:** concentración; **DE:** desviación estándar.

## **Análisis descriptivo de las $C^{ss}$ min de cetuximab según tasa de control de la enfermedad**

Las  $C^{ss}$  min de cetuximab, con relación al beneficio clínico, fueron uniformes según el orden de extracción de las muestras en cada paciente, como puede observarse en la Tabla 11.

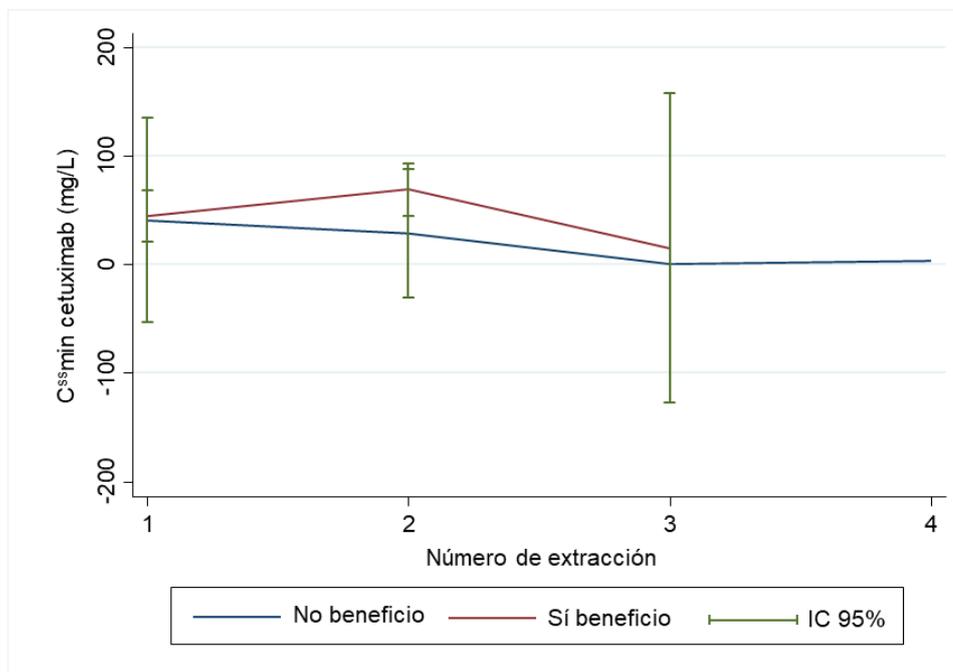
Orden extracción	Beneficio clínico	N	Conc. media (mg/L)	DE (mg/L)	P50 (mg/L)	P25 (mg/L)	P75 (mg/L)
Primera	No	3	40,61	37,92	19,12	18,31	84,39
	Sí	13	44,21	39,00	25,00	15,62	79,38
	<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>43,53</b>	<b>37,55</b>	<b>22,15</b>	<b>16,97</b>	<b>81,89</b>
Segunda	No	3	28,48	23,83	27,43	5,19	52,81
	Sí	7	68,63	26,61	66,54	53,55	95,80
	<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>56,59</b>	<b>31,22</b>	<b>59,83</b>	<b>27,43</b>	<b>70,78</b>
Tercera	No	1	0	-	0	0	0
	Sí	2	15,08	15,86	15,08	3,86	26,29
	<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>10,05</b>	<b>14,20</b>	<b>3,86</b>	<b>0</b>	<b>26,29</b>
Cuarta	No	1	3,03	-	3,03	3,03	3,03
	<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>3,03</b>	<b>-</b>	<b>3,03</b>	<b>3,03</b>	<b>3,03</b>

**Tabla 11. Características de las concentraciones valle en estado estacionario de cetuximab según el orden de extracción y la evaluación RECIST. Beneficio clínico: EE + RP + RC; Conc.: concentración; DE: desviación estándar.**

## Relación exposición-respuesta

Para el objetivo principal, se analizaron conjuntamente las 30 muestras de 16 pacientes con CCRm y CCyC: 14 muestras de 7 pacientes con CCRm y 16 muestras de 9 pacientes con CCyC.

Al igual que con bevacizumab, las concentraciones plasmáticas por orden de extracción se mantuvieron estables independientemente de la respuesta al tratamiento, como se observa en la Figura 18.



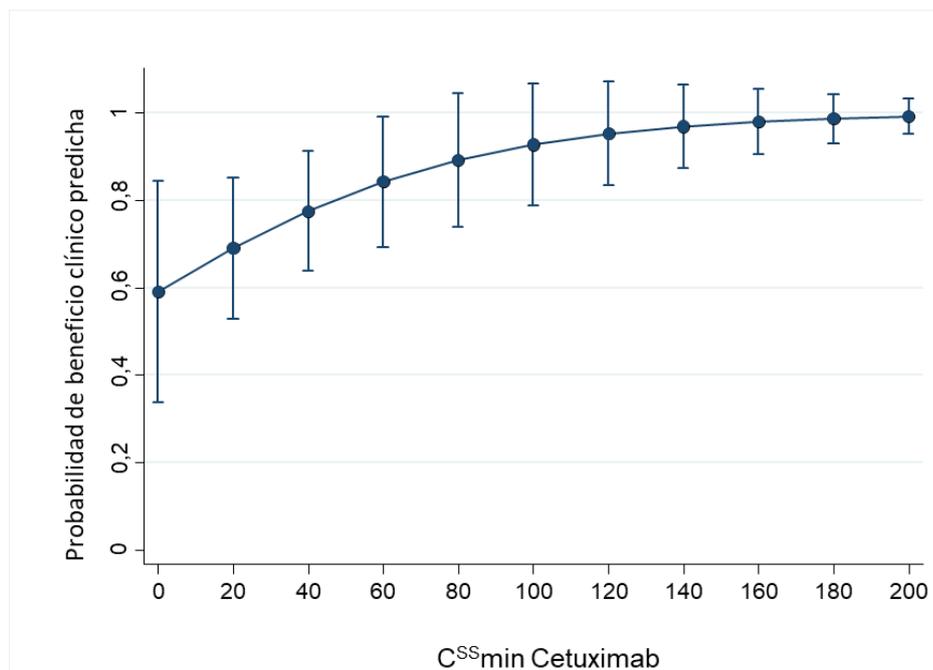
**Figura 18. Concentraciones plasmáticas de cetuximab (medias e IC95%) en función la respuesta al tratamiento según el orden de extracción de la muestra en cada paciente.** Los valores negativos son debidos a la estimación del IC95% y deben interpretarse como valores iguales a 0.

En este caso tampoco se encontró asociación entre la C<sup>SS</sup>min de cetuximab y la respuesta clínica. Sin embargo, para el mAb cetuximab, el modelo de GEE sugirió una asociación positiva entre la C<sup>SS</sup>min y el beneficio clínico (OR 1,02; IC 95%: 0,99-1,05, p=0,113), aunque no alcanzara significación estadística. A mayor concentración, mayor probabilidad de respuesta (como ya se ha visto en la descriptiva de las concentraciones).

Tanto en la Tabla 12, como en la Figura 19, se muestra la probabilidad de beneficio clínico predicha por el modelo a intervalos de  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab de 20 mg/L.

$C^{SS}_{min}$ (mg/L)	Probabilidad	p-valor	IC 95%	
0	0,59	$\leq 0,001$	0,34	0,84
20	0,69	$\leq 0,001$	0,53	0,85
40	0,77	$\leq 0,001$	0,64	0,91
60	0,84	$\leq 0,001$	0,69	0,99
80	0,89	$\leq 0,001$	0,74	1,04
100	0,93	$\leq 0,001$	0,79	1,07
120	0,95	$\leq 0,001$	0,83	1,07
140	0,97	$\leq 0,001$	0,87	1,06
160	0,98	$\leq 0,001$	0,91	1,05
180	0,99	$\leq 0,001$	0,93	1,04
200	0,99	$\leq 0,001$	0,95	1,03

**Tabla 12. Método Delta para la predicción de probabilidad de beneficio clínico en función de la  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab.**



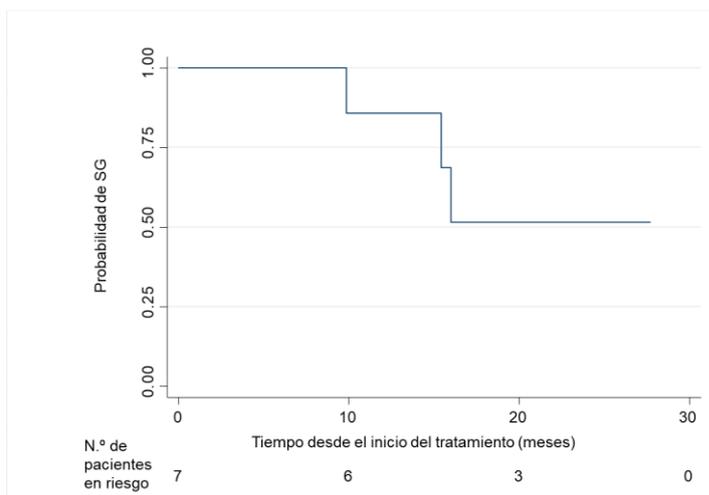
**Figura 19. Probabilidad de beneficio clínico predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).**

## Relación entre la $C^{SS}_{min}$ y la supervivencia

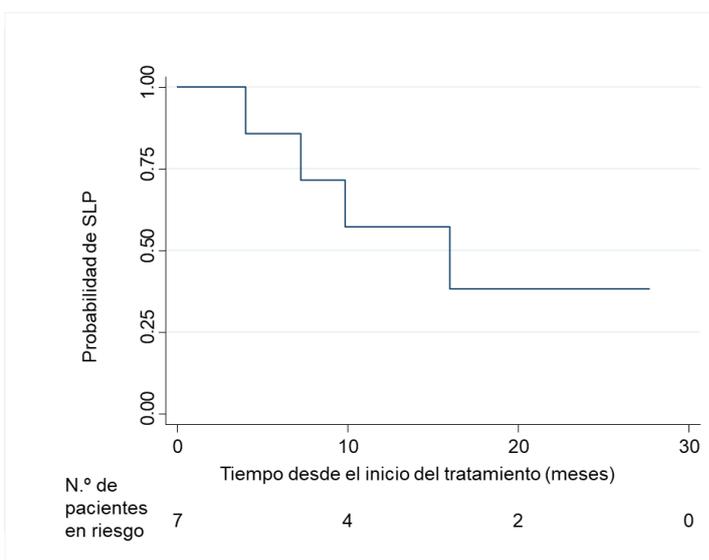
### Cetuximab en CCRm

La mediana de seguimiento de los 7 pacientes en tratamiento con cetuximab para CCRm fue de 27 meses (IC 95%: 11,13- no estimable) y no se alcanzó la mediana de SG (Figura 20). La regresión de Cox no mostró asociación entre la mediana de las  $C^{SS}_{min}$  (HR 0,99, IC 95%: 0,95-1,05,  $p=0,938$ ) o la última  $C^{SS}_{min}$  (HR=1,04, IC 95%: 0,98-1,11,  $p=0,212$ ) con la SG.

La mediana de SLP fue de 16 meses (IC 95% 4,03- no estimable) (Figura 21). En este caso tampoco se observó asociación entre la mediana de las  $C^{SS}_{min}$  (HR 0,96, IC 95%: 0,92-1,01,  $p=0,152$ ) con la SLP, ni con la última  $C^{SS}_{min}$  (HR 1,02, IC 95%: 0,97-1,07,  $p=0,442$ ).



**Figura 20. Curva de Kaplan-Meier de SG para los pacientes con CCRm en tratamiento con cetuximab.**

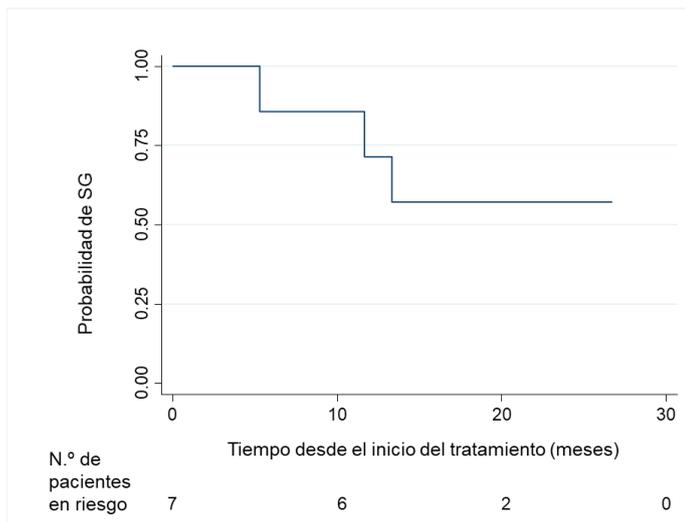


**Figura 21. Curva de Kaplan-Meier de SLP para los pacientes con CCRm en tratamiento con cetuximab.**

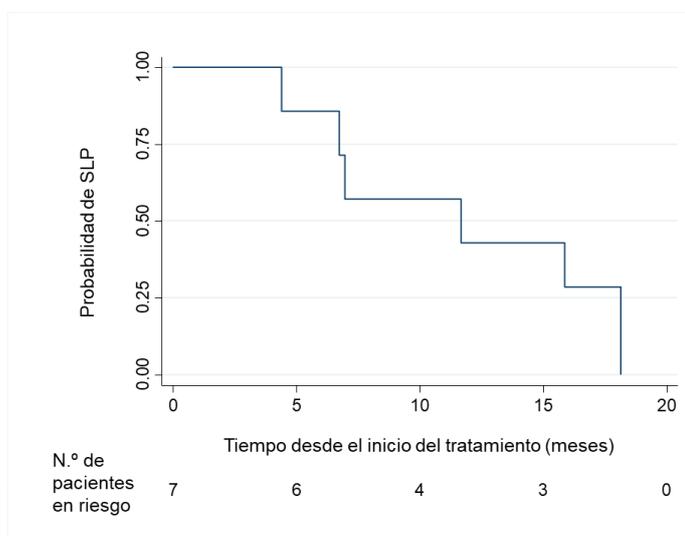
## Cetuximab en CCyC

La mediana de seguimiento de los 7 pacientes en tratamiento con cetuximab para CCyC fue de 19 meses (IC 95%: 17- no estimable) y tampoco se alcanzó la mediana de SG (Figura 22). La regresión de Cox no mostró asociación entre la mediana de las  $C^{SS}_{min}$  (HR 0,99, IC 95%: 0,91-1,07,  $p=0,746$ ) o la última  $C^{SS}_{min}$  (HR=1,04, IC 95%: 0,94-1,16,  $p=0,416$ ) con la SG.

La mediana de SLP fue de 12 meses (IC 95% 4,4- no estimable) (Figura 23). No se observó asociación entre la mediana de las  $C^{SS}_{min}$  (HR 1,02, IC 95%: 0,95-1,08,  $p=0,616$ ) con la SLP, ni con la última  $C^{SS}_{min}$  (HR 1,12, IC 95%: 0,99-1,27,  $p=0,063$ ).



**Figura 22. Curva de Kaplan-Meier de SG para los pacientes con CCyC en tratamiento con cetuximab.**



**Figura 23. Curva de Kaplan-Meier de SLP para los pacientes con CCyC en tratamiento con cetuximab.**

## Valor de $C^{SS}_{min}$ con mayor probabilidad de beneficio clínico

Aunque ninguno de los valores alcanzó un valor  $\geq 0,7$  en el AUC-ROC tiempo-dependiente para considerarlo buen biomarcador, se exploró un punto de corte (Tabla 13 y Tabla 14). Se encontraron dos puntos de corte que se aproximaron con buena sensibilidad y especificidad:

- En CCRm: el punto de corte para la última  $C^{SS}_{min}$  a 24 meses fue 66,5 mg/L (88% de sensibilidad y 100% de especificidad).
- En CCyC: el punto de corte para la última  $C^{SS}_{min}$  a 12 meses fue 3,1 mg/L (100% de sensibilidad y 100% de especificidad).

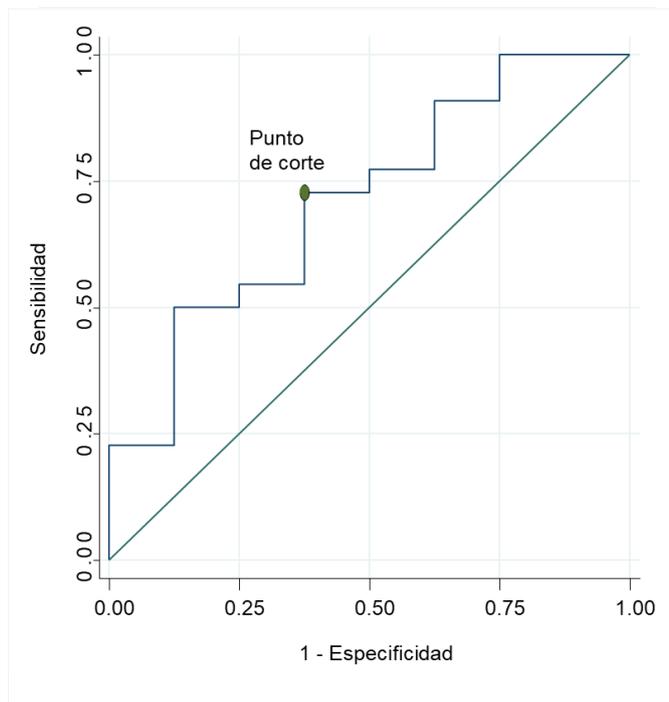
	SG (24 meses)	SLP (12 meses)	SLP (9 meses)
$C^{SS}_{min}$ mediana	0,393	0,167	0,300
$C^{SS}_{min}$ última	<b>0,624</b>	0,167	0,300

Tabla 13. Área bajo la curva ROC para SG y SLP a 24, 12 y 9 meses, con el método de Kaplan Meier, para cetuximab en CCRm.

	SG (24 meses)	SLP (12 meses)	SLP (9 meses)
$C^{SS}_{min}$ mediana	0,250	0,417	0,417
$C^{SS}_{min}$ última	0,500	<b>0,667</b>	0,583

Tabla 14. Área bajo la curva ROC para SG y SLP a 24, 12 y 9 meses, con el método de Kaplan Meier, para cetuximab en CCyC.

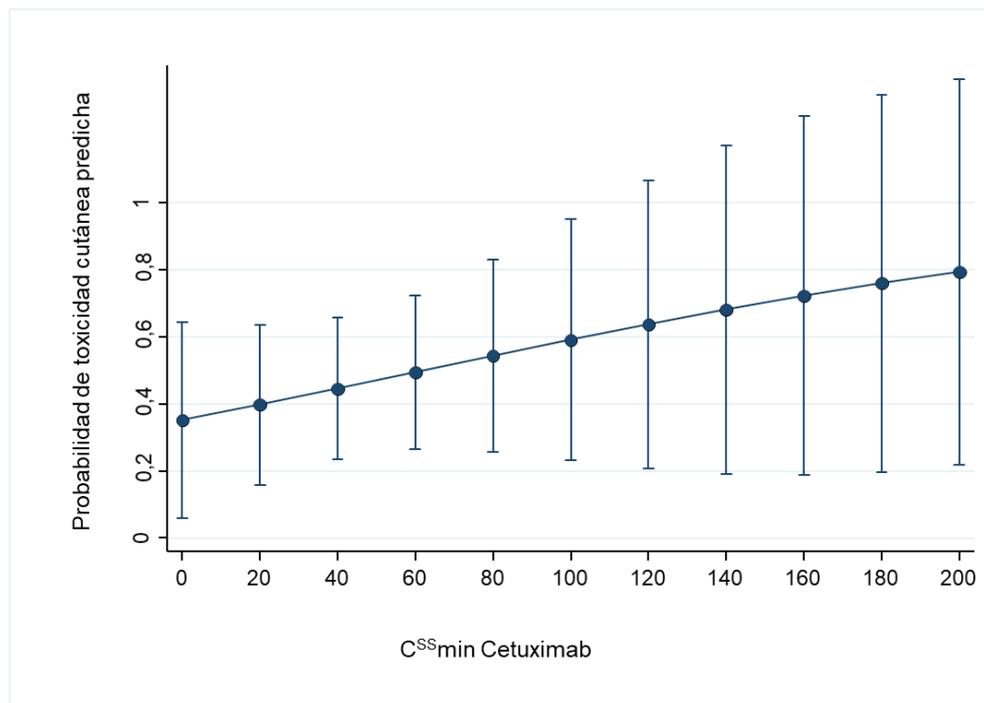
El análisis de la curva de ROC de todas las concentraciones (n=30) tuvo mejor capacidad discriminatoria (AUC-ROC 0,710, IC 95%: 0,49-0,93). El punto de corte con mayor probabilidad de beneficio clínico estimado, mayor sensibilidad (0,73) y especificidad (0,63), fue de 19,12 mg/L (Figura 24).



**Figura 24. Curva ROC para C<sup>ss</sup>min de cetuximab.**

## Relación entre la $C^{ss}_{min}$ y los efectos adversos

No se observó relación entre las  $C^{ss}_{min}$  de cetuximab en cada muestreo y los efectos adversos en ese momento (cualquier efecto adverso) (OR 1,00; IC 95%= 0,98-1,03,  $p=0,773$ ). Ni, más concretamente, con toxicidad cutánea (OR 1,00, IC 95%= 0,99-1,03,  $p=0,378$ ) como se puede observar en la Figura 25.



**Figura 25.** Probabilidad de toxicidad cutánea predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{ss}_{min}$  de cetuximab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).

## Relación entre la $C^{SS}_{min}$ y el nivel de funcionalidad

No se observó relación entre la  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab en cada muestreo y el ECOG en ese momento (OR 0,99; IC 95%= 0,96-1,02,  $p=0,653$ ) (Figura 26).

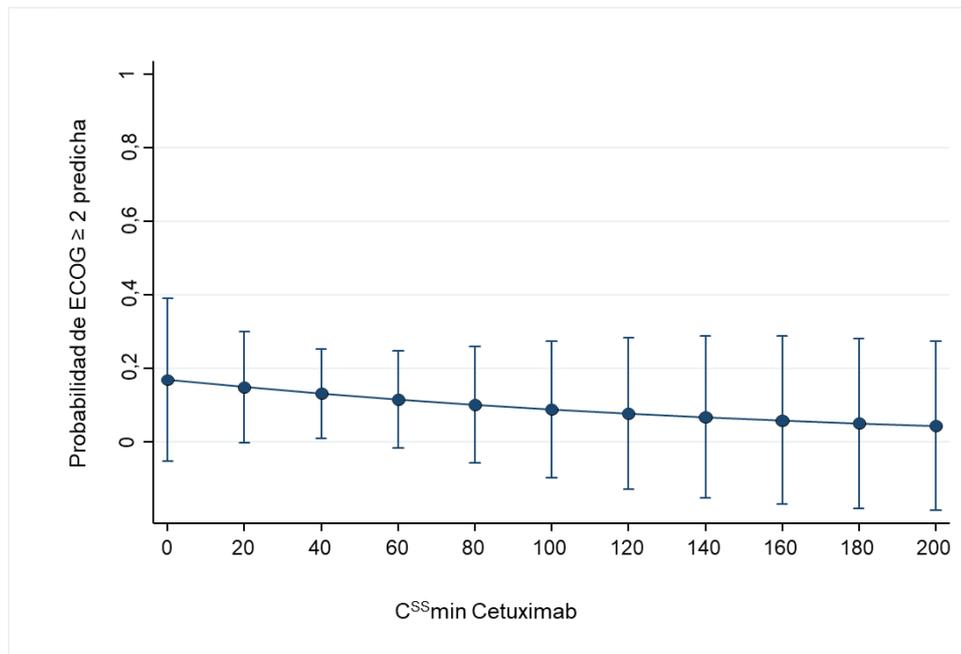


Figura 26. Probabilidad de ECOG PS  $\geq 2$  predicha por el modelo, a intervalos de  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab de 20 mg/L. Las líneas verticales representan los intervalos de confianza al 95% (IC 95%).

## Relación entre la primera $C^{SS}_{min}$ y la posología

Para la primera  $C^{SS}_{min}$  obtenida por paciente, se obtuvieron  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab más elevadas con la administración cada 2 semanas (500 mg/m<sup>2</sup>) que con la administración semanal (250 mg/m<sup>2</sup>) ( $p=0,335$ ) (Tabla 15).

Posología de bevacizumab	N	Media (mg/L)	DE (mg/L)	P50 (mg/L)	P25 (mg/L)	P75 (mg/L)
250 mg/m <sup>2</sup> cada semana	11	35,61	33,32	19,12	15,62	58,62
500 mg/m <sup>2</sup> cada 2 semanas	5	60,96	44,27	79,38	25,00	95,73

Tabla 15. Características de la primera  $C^{SS}_{min}$  en función de la posología de cetuximab. DE: desviación estándar.

## Análisis univariable de Cox

El análisis de regresión de Cox encontró asociación entre la SG y una puntuación de 1 en el índice de comorbilidad ( $p=0,048$ ) y también con la toxicidad cutánea ( $p=0,045$ ) (Tabla 16). Sin embargo, no identificó ninguna de las variables predictoras evaluadas como factores de riesgo de progresión (Tabla 17).

Variable	Hazard ratio	IC 95%	p-valor
Sexo (hombre)	2,19	0,26-18,19	0,470
Edad	0,93	0,82-1,06	0,264
Superficie corporal	0,22	0,00-252,26	0,670
<b>Comorbilidad (0 vs 1)</b>	<b>0,17</b>	<b>0,03-0,98</b>	<b>0,048</b>
Metástasis (1-5 vs 6-10)	1,46	0,24-8,99	0,681
<b>Toxicidad cutánea</b>	<b>0,18</b>	<b>0,03-0,96</b>	<b>0,045</b>
Posología (500 mg/m <sup>2</sup> c/ 2 semanas)	0,30	0,04-2,49	0,263
Tratamientos QT previos	0,56	0,22-1,39	0,210
Mediana concentración FA	1,05	0,96-1,16	0,267
Mediana concentración Albúmina	1,53	0,63-3,73	0,347

**Tabla 16. Análisis univariable de Cox de los factores de riesgo para SG para cetuximab (n=16).** QT: quimioterapia; FA: Fosfatasa Alcalina.

Variable	Hazard ratio	IC 95%	p-valor
Sexo (hombre)	1,28	0,27-6,00	0,752
Edad	0,92	0,81-1,03	0,152
Superficie corporal	24,83	0,08-773,54	0,273
Comorbilidad (0 vs 1)	0,50	0,13-1,87	0,301
Metástasis (1-5 vs 6-10)	1,23	0,26-5,89	0,794
Toxicidad cutánea	0,86	0,26-2,82	0,801
Posología (500 mg/m <sup>2</sup> c/2 semanas)	0,34	0,07-1,61	0,175
Tratamientos QT previos	0,76	0,43-1,33	0,340
Mediana concentración FA	1,04	0,99-1,01	0,317
Mediana concentración Albúmina	1,04	0,71-1,53	0,841

**Tabla 17. Análisis univariable de Cox de los factores de riesgo para SLP para cetuximab (n=16).** QT: quimioterapia; FA: Fosfatasa Alcalina.

# Discusión



A pesar del conocimiento que existe hoy en día sobre las covariables que influyen en los parámetros farmacocinéticos de bevacizumab y cetuximab, la herramienta de monitorización de estos mAbs oncológicos no se ha implantado en la práctica clínica. Esta situación es debida, en parte, a la falta de concentraciones objetivo en los diferentes tumores donde tienen indicación.

Para ampliar el conocimiento de la relación entre la exposición a bevacizumab y cetuximab y su efectividad en el tratamiento del CCRm o del CCyC, seleccionamos la  $C^{ss}_{min}$  y la tasa de respuesta al tratamiento, la SLP y la SG. Esta concentración, además de representar la exposición sistémica y correlacionar con el efecto (100,146), nos permitió realizar varias mediciones exposición-respuesta por paciente y de esta manera aumentar el número de datos.

Como hemos hecho en anteriores apartados, comentaremos los resultados de ambos mAbs por separado para, posteriormente, comentar las limitaciones, fortalezas e implicaciones del estudio realizado.

## Bevacizumab

No se encontró relación entre las  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab y el beneficio clínico, objetivo principal de nuestro estudio. Sin embargo, una mayor exposición sí que se asoció a una mejor SG, aunque con un valor ligeramente significativo desde el punto de vista estadístico, debido probablemente al limitado tamaño de la muestra. En cambio, esta asociación no fue observada con la SLP, pudiendo ser debido a que 3 de los 16 pacientes (19%) que progresaron continuaron tratamiento con bevacizumab. Estudios previos (180–182) han mostrado que el uso de bevacizumab después de la progresión podría aumentar la supervivencia y esta situación ya se observó en el estudio de Caulet y cols. (98) tras 2 meses de tratamiento. En dicho estudio, el análisis univariable de Cox para la concentración de bevacizumab a los 2 meses de tratamiento en pacientes con CCRm, obtuvo un HR 1,64 (IC 95% 1,08-2,52,  $p=0,0249$ ) como factor de riesgo de muerte, y no fue significativo como factor de riesgo de progresión (HR 2,52, IC 95% 1,02-4,02,  $p=0,0551$ ). Si bien es cierto, la concentración a los 2 meses no resultó en un factor de riesgo independiente en los respectivos análisis multivariados.

La relación negativa que se observa entre la  $C^{SS}_{min}$  y la tasa de beneficio clínico pudo ser debida a la heterogeneidad de pacientes (esquemas quimioterápicos, posología de bevacizumab y líneas de tratamiento) que no se observa en otros estudios en pacientes con CCRm, en los que sí que encontraron relaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones y la SG o la SLP (98,119,163). Esta discrepancia con nuestros resultados puede deberse, además, a una escasa correlación entre las tasas de respuestas antitumorales y los beneficios en supervivencia.

El estudio de Akbulut y cols. (119), presentado en la reunión anual de la American Society of Clinical Oncology 2018, midió niveles valle de bevacizumab (5mg/kg cada 2 semanas) a día 14 en 88 pacientes con CCRm tratados en primera (35%) o segunda línea junto con irinotecán (51%) u oxaliplatino y observaron que los pacientes con valles  $\leq 25$  mg/L tuvieron una menor SG cuando se comparó con pacientes con niveles  $> 25$  mg/L (12 meses vs 24 meses,  $p = 0,0198$ ). Concluyeron que los niveles valle de bevacizumab tras el primer ciclo podrían ser un buen predictor de supervivencia para el tratamiento con bevacizumab en estos pacientes.

Caulet y cols. (98) llevaron a cabo un estudio multicéntrico con 137 pacientes con CCRm tratados en primera línea con un esquema de quimioterapia en combinación con bevacizumab. Los pacientes recibieron 4 ciclos de bevacizumab a 5 mg/kg cada 2 semanas (73% con FOLFIRI) y midieron las  $C_{min}$  de bevacizumab, entre otros. Evidenciaron, mediante un análisis multivariante, la relación entre la concentración valle de bevacizumab a día 14 (como factor de riesgo independiente) y la supervivencia. Así, concentraciones valle  $> 15,5$  mg/L se asociaron con una mayor SG (33,9 vs 17,3 meses,  $p=0,006$ ) y una mayor SLP (13,2 vs 8,7 meses,  $p=0,0039$ ).

No obstante, medir únicamente las concentraciones plasmáticas al inicio del tratamiento podría suponer una desventaja puesto que el tamaño o la carga tumoral pueden cambiar tras varias dosis de tratamiento (48).

Un estudio llevado a cabo con concentraciones en estado estacionario (163), investigó la relación entre la mediana de la  $C^{SS}_{min}$  y la SG en pacientes con CCRm tratados en primera línea. En pacientes tratados con bevacizumab a

5 mg/kg cada 2 semanas o 7,5 mg/kg cada 3 semanas en combinación con oxaliplatino o irinotecan y fluoropirimidinas. Establecieron 3 rangos de concentraciones y observaron que los pacientes con mayores SG tuvieron también exposiciones de bevacizumab ( $C^{SS}_{min}$  medianas  $\geq 87,9$  mg/L) significativamente mayores ( $p=0,0003$ ). La mediana de sus  $C^{SS}_{min}$  fue 74,6 mg/L (rango: 10,9-195,5), muy diferente a la de nuestro estudio: 32,28 mg/L (rango: 1,76-171,40). Es necesario remarcar que su población de pacientes fue tratada en primera línea del estadio metastásico.

Estas tres investigaciones, como en nuestro estudio, también realizaron la medición de niveles séricos de bevacizumab mediante ELISA y evaluaron la respuesta por criterios RECIST.

Son varios los estudios que se han llevado a cabo buscando biomarcadores predictivos de respuesta a bevacizumab en CCRm sin éxito (VEGF-A, mutaciones KRAS y BRAF o antígeno carcinoembrionario, entre otros) (183). De ahí la relevancia que podrían tener estudios como el nuestro que encontraran un punto de corte de concentración como predictor de respuesta. Sin embargo, y como consecuencia de los resultados de nuestro objetivo principal, la curva ROC no fue capaz de discriminar un punto de corte ( $C^{SS}_{min}$ ) predictor de beneficio clínico dado que el AUC-ROC fue de 0,521 y, habitualmente, se establece un valor  $\geq 0,7$  para considerarlo buen biomarcador (184,185). En este sentido, Papachristos y cols. (163) obtuvieron una AUC-ROC = 0,739 ( $p= 0,009$ ), aunque no reportaron el punto de corte óptimo obtenido mediante este método y señalaron concentraciones superiores a 87,9 mg/L como las asociadas a mayor supervivencia (163,186); si bien, en nuestro estudio, no pudimos estimar su validez porque solo 3 pacientes tuvieron una concentración por encima de este valor. Caulet y cols. (98), por su parte, establecieron un punto de corte superior a 16 mg/L, mediante el método de Hothorn-Zeileis, para la  $C_{min}$  a día 14.

En cuanto a la relación entre las concentraciones y la hipertensión arterial, aunque la ficha técnica (9) indica que “los datos de seguridad clínica sugieren que es probable que la incidencia de hipertensión sea dependiente de la dosis”, en nuestro estudio no se observó relación entre las  $C^{SS}_{min}$  y la hipertensión que provoca este fármaco. Tampoco se halló relación entre las  $C^{SS}_{min}$  y otros efectos

adversos. Probablemente en ambos casos fue debido al bajo registro de estos eventos en la historia clínica, al tratarse de un estudio en vida real.

Por otro lado, como previamente habían publicado Lu y cols. (93), no encontramos asociación entre mayores  $C^{SS}_{min}$  de bevacizumab y mejor estado general, aunque algunos autores lo habían sugerido (159,187). Ya que es más probable que el ECOG estuviera determinado por la quimioterapia concomitante.

La mediana de SG de los pacientes fue de 25 meses. Teniendo en cuenta que al diagnóstico el 75% eran metastásicos, esta supervivencia entra dentro de lo esperado (4) y está en línea con otras investigaciones (98).

Como se ha descrito previamente (93,111,112) existen distintas covariables que explican la variabilidad de la farmacocinética de bevacizumab, como son el sexo, el peso corporal, la albúmina, la fosfatasa alcalina o la quimioterapia. Para ilustrar este hecho, sirva como referencia el modelo farmacocinético poblacional de bevacizumab descrito por Lu y cols. (93,110) y realizado con datos de concentraciones de ocho ensayos clínicos fase I-III en diferentes tumores sólidos. En este estudio la variabilidad interindividual en el volumen de  $C_1$  y en el aclaramiento fue elevada, del 40% y el 60%, respectivamente, y las principales covariables que afectaron a estos parámetros farmacocinéticos fueron el peso corporal y el sexo.

En nuestro estudio, las concentraciones de bevacizumab fueron muy variables, obteniendo un coeficiente de variación del 70% para la pauta de 5 mg/kg cada 2 semanas y del 79% para la de 7,5 mg/kg cada 3 semanas. Datos alejados de los del estudio en CCRm de Zhi y cols. (188): CV 32% y 24%, respectivamente. Por otro lado, también nuestros niveles de exposición fueron más bajos. La media de las  $C^{SS}_{min}$  con la pauta de 5 mg/kg cada 2 semanas fue de 28 mg/L, y para 7,5 mg/kg cada 3 semanas de 53 mg/L. En el estudio de Zhi y cols. (188) fueron de 80 mg/L y 60 mg/L, respectivamente; y en las concentraciones simuladas en el estudio de Lu y cols. (93) fueron de 85 y 73 mg/L, respectivamente. Además, si comparamos la mediana de las  $C^{SS}_{min}$ , vemos que en nuestro subgrupo de pacientes con la pauta de 5 mg/kg cada 2 semanas, ésta fue de 26 mg/L, un dato bastante alejado de la mediana de 69 mg/L alcanzada por el bevacizumab de referencia en un estudio de bioequivalencia con 58 pacientes (189). Y también alejado de la mediana de concentraciones valle de 76,5 mg/L

del estudio de Akbulut y cols. (119), tras el 8º ciclo de bevacizumab en 88 pacientes. Ambos estudios para la misma indicación y posología que los 11 pacientes de nuestra muestra. Solo la mediana de concentración del estudio de Ternant y cols. (85) no tuvo un valor tan elevado, 47,2 mg/L (rango: 9,6-106,9), en 16 pacientes con CCRm que recibieron quimioterapia concomitante (aunque no se especificó el número de ciclos medios administrados).

Por ello, nos planteamos si pudo haber algún factor relacionado con la determinación analítica (59,84) que hubiera afectado a estos niveles tan bajos en nuestro estudio. Tales como la alteración en el equilibrio de unión entre el mAb y su diana, una transformación química o biológica durante la recogida de la muestra, el almacenamiento, el transporte o en los ciclos de congelación/descongelación, o incluso interferencias analíticas por ADA. Hay que tener en cuenta que el equilibrio de unión entre un mAb y su diana se puede alterar durante la determinación lo que puede llevar a una infra o sobre estimación de la concentración de fármaco. El grado en que esto se altere va a depender de la afinidad de unión antígeno-mAb, de las concentraciones de mAb y de antígeno, de las condiciones de incubación y de la dilución de las muestras (59). Otras variables que cabría estudiar son que los péptidos y proteínas en un medio acuoso tienden a adherirse a las superficies de plástico (84), o que la unión de ADA como resultado de administraciones repetidas puede también causar interferencia analítica y alterar los perfiles PK-PD de la proteína terapéutica (84). En nuestro caso seguimos las recomendaciones generales (84) (preferencia por el plasma EDTA al suero o al plasma heparinizado, procesar rápidamente las muestras y almacenarlas a -70°C) aunque no estrictamente las indicadas en el kit SHIKARI® Q-BEVA (Matriks Biotek® Laboratories), puesto que indicaba un almacenamiento del plasma EDTA a -20°C durante 6 meses y evitar ciclos de congelación-descongelación. En nuestro estudio en todo momento se mantuvieron condiciones de congelación por debajo de -20°C (hasta -80°C en el transporte) pero se analizaron tras una conservación superior a 6 meses y hubo 2 momentos en los que se llevó a cabo el análisis de las muestras (enero 2019 y mayo 2020).

Estadísticamente significativa fue la relación entre la primera C<sup>SS</sup>min obtenida por paciente y la posología, alcanzándose mayores concentraciones con la pauta de 7,5 mg/kg cada 3 semanas. Un dato no esperado si tenemos en

cuenta los resultados previos de Zhi y cols. (188) y Lu y cols. (93) comentados previamente.

Los resultados de la regresión de Cox mostraron una asociación positiva entre la SLP y la fosfatasa alcalina ( $p=0,049$ ) y negativa con albúmina ( $p=0,059$ ), es decir, que cada incremento de fosfatasa alcalina en 10 U/L estaba relacionado con un riesgo de progresión del 3% y aumentos de 1 g/dL de albúmina con una reducción en el riesgo de progresión del 73%. Este hecho se ha visto previamente con los aclaramientos de bevacizumab en estudios farmacocinéticos poblacionales, como el estudio de Lu y cols. (93), en el que el aclaramiento aumentó un 20% con el aumento de la fosfatasa alcalina ( $\geq 483$  U/L) y la disminución de la albúmina ( $\leq 29$  g/dL) comparado con un paciente típico; o el de Han y cols.(112), en el que el aclaramiento disminuyó al aumentar la albúmina y disminuir la fosfatasa alcalina basales. Las razones de un aclaramiento más rápido de las IgG en pacientes con albúmina sérica baja es, por un lado, porque el nivel de albúmina correlaciona con el estatus de la enfermedad y, por otro lado, el reciclaje que hace el FcRn de la albúmina y las IgG (39,190). Por lo tanto, estas covariables podrían estar relacionadas con la gravedad de la enfermedad o con la carga tumoral. En nuestro estudio, estas variables, además, deberían ser significativas en un análisis Cox multivariable para poder asociarlas con SLP. Por último, aunque la edad también estuvo relacionada con SLP ( $p=0,029$ ) parece que ésta no altera la farmacocinética de los mAbs (35,38).

## Cetuximab

Nuestro estudio no ha podido probar relación entre las  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab y el beneficio clínico en pacientes con CCRm o CCyC. El resultado del modelo de GEE asoció, por cada mg/L adicional de cetuximab, una probabilidad del 2% de respuesta, aunque sin significación estadística, probablemente debido al tamaño muestral. Esta tendencia en el control de la enfermedad no se reflejó en la supervivencia puesto que, por patología, tampoco se encontró asociación, ni entre la mediana de las  $C^{SS}_{min}$  con la SG o la SLP, ni con la última  $C^{SS}_{min}$ . Es más, en el caso del grupo de pacientes con CCyC se invierte la relación observada en el objetivo principal, puesto que se advierte una tendencia a mayor

riesgo de progresión con concentraciones últimas mayores, rozando la significación estadística ( $p=0,063$ ).

En este sentido, Becher y cols. (161) evaluaron la relación entre las concentraciones en estado estacionario y la eficacia del tratamiento quimioterápico a los 3 meses del inicio de cetuximab, en 25 pacientes con CCyC KRAS y NRAS nativos y en condiciones de práctica clínica habitual. Encontraron diferencias estadísticamente significativas en las  $C^{SS}_{min}$  de pacientes con beneficio clínico (EE, RP, RC) frente a los no respondedores (PE) ( $49,0 \pm 16,3$  mg/L vs  $25,8 \pm 17$  mg/L,  $p < 0,01$ , t test), según criterios RECIST 1.0. Por otro lado, en el estudio retrospectivo de Pointreau (141) llevado a cabo en 34 pacientes con carcinoma de células escamosas de CCyC tratados en monoterapia o con quimioterapia y/o radioterapia, se observó una relación estadísticamente significativa entre el aclaramiento global y la supervivencia, medida como SLP y SG. La SLP fue mayor en pacientes con un aclaramiento global de cetuximab menor que la mediana de  $0,747$  L/día (14,1 meses vs 11,6 meses,  $p=0,037$ ) y la SG también (16,56 meses vs 6,34 meses,  $p=0,007$ ), lo que podría reflejar que una mayor exposición a cetuximab proporciona mayor SLP y SG, premisa no probada en dicho estudio. Adicionalmente, en el estudio PK-PD de Le Louedec y cols. (159) se obtuvieron datos de 16 pacientes con concentraciones valle y respuesta tumoral. Dicho estudio formó parte de un ensayo clínico multicéntrico, prospectivo, no aleatorizado y abierto, realizado en pacientes con carcinoma de células escamosas de CCyC metastásico o recurrente en el que fueron tratados con platino, fluorouracilo y cetuximab como primera línea. Los pacientes fueron clasificados en 2 grupos según su respuesta tumoral medida por criterios RECIST 1.1: respuesta al tratamiento (EE y RP) y progresión (PE). Se observó que los pacientes con respuesta tumoral tuvieron una concentración valle más alta que los pacientes con progresión, tanto en el día 7 ( $42,6$  vs  $18,8$  mg/L,  $p=0,03$ ) como en el día 21 ( $47,4$  vs  $19,0$  mg/L,  $p=0,04$ ). Aunque también encontraron esta relación para el ECOG PS: las concentraciones mínimas el día 7 y 21 fueron más altas en pacientes con una puntuación de ECOG PS=0, en comparación con los pacientes con ECOG PS 1 o 2 ( $p=0,03$  y  $0,01$ , respectivamente,  $n=23$ ) lo que parece sugerir que los pacientes con un ECOG PS favorable son los que responden al tratamiento. La SLP fue mayor en pacientes con ECOG PS=0 vs ECOG PS $\geq$ 1 ( $p=0,011$ ,  $n=27$ ),

y en pacientes con ECOG PS  $\leq 1$  vs ECOG PS=2 ( $p < 10^{-4}$ ,  $n=27$ ). Al estratificar a los pacientes de acuerdo con su  $C_{min}$  el día 7, con la mediana como valor de corte (29 mg/L), la mediana de SLP fue de 194 días en pacientes con una  $C_{min}$  mayor frente a 106 días en pacientes con una  $C_{min}$  menor ( $p=0,0503$ ,  $n=23$ ). En este estudio, como concentraciones bajas de cetuximab se asociaron con peor ECOG PS, los autores no pudieron concluir que una baja exposición, en lugar del ECOG PS del paciente, fuera responsable de una menor SLP. En nuestro caso, no encontramos asociación entre las  $C^{SS}_{min}$  y el estado general de los pacientes.

En lo que respecta a la  $C^{SS}_{min}$  objetivo, Robert y cols. (132), plantearon que la dosis óptima biológica de cetuximab es la dosis más baja necesaria para mantener una eliminación de orden cero de manera continua. Esta saturación se ha demostrado que se alcanza con dosis de mantenimiento de 250 mg/m<sup>2</sup> (128). Sin embargo, en el informe de autorización de comercialización de la EMA (136) se argumentó que la dosificación basada en superficie corporal no estaba respaldada por el análisis farmacocinético poblacional, puesto que, tanto el peso como la superficie corporal, fueron covariables del volumen de distribución pero no del aclaramiento. Así, en las simulaciones de concentraciones plasmáticas en pacientes con diferente superficie corporal, los pacientes con mayor superficie corporal alcanzaron mayores concentraciones en estado estacionario. Sin embargo, las  $C_{min}$  no se correlacionaron con la superficie corporal. Concluyendo, por tanto, que en pacientes con una superficie corporal pequeña no se puede excluir por completo el riesgo de subexposición. Por otro lado, en el estudio de CCyC de Becher y cols. (161), se apuntó que la  $C_{min}$  era más relevante que la  $C_{max}$  en relación con la eficacia, lo que reflejaría la necesidad de una inhibición constante de la diana EGFR con niveles de cetuximab mantenidos hasta la siguiente administración. Teniendo en cuenta este contexto, parece primordial disponer de un biomarcador predictivo de eficacia. En nuestro estudio buscamos como biomarcador una  $C^{SS}_{min}$  de cetuximab mínima relacionada con beneficio clínico. El AUC-ROC tuvo una moderada capacidad discriminadora (AUC-ROC 0,710, IC 95%: 0,49-0,93), y se obtuvo un punto de corte de 19,12 mg/L (63% de especificidad y 73% de sensibilidad). Aunque se trata de un punto de corte obtenido con datos de concentraciones en dos tumores distintos. En el estudio de

Becher y cols. (161), en 25 pacientes con CCyC KRAS y NRAS, el umbral de  $C^{SS}min$  asociado con beneficio clínico fue 33,8 mg/L (curva ROC: 78% de especificidad y 87% de sensibilidad; prueba exacta de Fisher: OR 18,6, IC95%=1,9-327,8,  $p=0,003$ ), medido mediante LC-MS/MS. En nuestro caso, obtuvimos también puntos de corte para la última  $C^{SS}min$  en CCRm y en CCyC con buena sensibilidad y especificidad, aunque estos resultados deben ser interpretados con cautela por el reducido número de pacientes en cada grupo.

Por otro lado, la relación entre la primera  $C^{SS}min$  de cetuximab obtenida por paciente y la posología no fue estadísticamente significativa, a diferencia de lo que vimos con bevacizumab.

Tampoco encontramos asociación entre las  $C^{SS}min$  y los efectos adversos, ni siquiera los relacionados con toxicidad cutánea. No obstante, la regresión de Cox mostró una asociación entre la toxicidad cutánea y la SG (reducción de un 82% en el riesgo de muerte,  $p=0,045$ ) aunque ésta debería ser también significativa en un análisis Cox multivariable para poder asociarla definitivamente con SG. Se ha visto que las reacciones cutáneas pueden aparecer en más del 80 % de los pacientes y que se manifiestan principalmente como erupción acnei-forme y/o, con menor frecuencia, prurito, sequedad cutánea, descamación, hipertrichosis o trastornos ungueales (12). Asimismo, y en relación con la dosificación, también se ha observado una tendencia a mayor incidencia de reacciones cutáneas en pacientes con mayor superficie corporal (136). Recordemos que el EGFR se expresa de manera constitutiva en muchos tejidos epiteliales, como los folículos pilosos (121,191), y que la toxicidad cutánea es un efecto que caracteriza a las sustancias dirigidas al EGFR (192). El hecho de que la mayor parte de ellas aparezcan durante las primeras tres semanas de tratamiento (12), pudo repercutir en la ausencia de relación en nuestro estudio con las  $C^{SS}min$ , puesto que éstas se obtuvieron tras al menos tres meses de tratamiento. Del mismo modo, las reacciones cutáneas repetidas y no graves pudieron no haberse recogido en la historia clínica de los pacientes. Investigaciones previas habían señalado el grado de toxicidad cutánea como biomarcador predictor de eficacia, por lo que se llevaron a cabo estudios para determinar los biomarcadores moleculares predictores de toxicidad cutánea grave (191). Al mismo tiempo se estudió si el incremento de dosis de cetuximab en aquellos pacientes con CCRm que no

habían desarrollado reacciones cutáneas o éstas habían sido leves en las tres primeras semanas de tratamiento (estudio EVEREST) (160) tenía algún efecto. Este estudio prospectivo y aleatorizado, comparó la dosis de 250 mg/m<sup>2</sup> semanal con incrementos de hasta 500 mg/m<sup>2</sup>. En el subgrupo de pacientes KRAS nativo, los pacientes con incremento de dosis tuvieron una tendencia a mayor tasa de respuesta global (43% vs 30%, respectivamente) y a mayor tasa de control de la enfermedad (83% vs 70%, respectivamente) pero no hubo diferencias claras en la SLP o la SG. Otro estudio (EVEREST 2) (193), diseñado específicamente para CCRm KRAS nativo, no pudo demostrar eficacia con el incremento de dosis en pacientes sin toxicidad cutánea en las primeras semanas de tratamiento, debido a que la mayoría de los pacientes tuvieron toxicidad cutánea en las tres primeras semanas. Por otro lado, en el estudio poblacional de cetuximab en pacientes CCRm de Azzopardi y cols. (158), no se observó relación estadísticamente significativa entre la toxicidad cutánea y el aclaramiento de cetuximab. Sin embargo, en los pacientes del subgrupo KRAS nativo estudiado retrospectivamente, la SLP se vio aumentada con la disminución del aclaramiento global de cetuximab ( $p=0,013$ ). Por último, Fracasso y cols. (131) no hallaron relación entre las concentraciones valle de cetuximab y el rash, en pacientes con distintos tipos de tumores tratados en monoterapia (en los que no se estudió el estado del EGFR), pero sí entre las concentraciones valle de cetuximab y la respuesta al tratamiento ( $p=0,002$ ) y entre la respuesta y el rash ( $p=0,032$ ).

Nuestros resultados de la regresión de Cox también mostraron una asociación entre la SG y una puntuación de 1 en el índice de comorbilidad de Charlson ( $p=0,048$ ). Dicha asociación no tendría el sentido esperado puesto que se trata de un índice que sirve para clasificar el pronóstico de muerte al año y, en nuestro caso, un incremento de un punto supuso una reducción del 83% en el riesgo de muerte. Aunque no hay que olvidar que también debería ser significativo en un análisis Cox multivariable para poder asociarlo definitivamente con la SG.

Nuestros datos de concentración tuvieron un CV del 95% para la pauta aprobada en ficha técnica, variabilidad muy alta que también fue observada en el estudio de Tan y cols. (133) (72% CV para valles séricos medios en mantenimiento de 54,8 mg/L [4,3-157]) a partir de datos de 24 pacientes con distintos

tipos de tumores y concentraciones medidas mediante ELISA. Esta variabilidad también se observó en el estudio de Le Louedec y cols. (159), aunque se trató de un estudio fase I en monoterapia en el que no se estudió el estado del EGFR. A día 7 (n=23), 21 (n=21) y 42 (n=18) los CV fueron de 67%, 90% y 61%, respectivamente. En este caso los niveles de cetuximab fueron analizados con LC-MS/MS.

Adicionalmente, si comparamos los resultados de las  $C^{SSmin}$  de cetuximab de nuestra investigación con otros publicados con anterioridad, vemos que, para la pauta de 250 mg/m<sup>2</sup> semanal, nuestra  $C^{SSmin}$  media fue menor (32,06 mg/L). En ficha técnica (12) indican: “las concentraciones séricas de cetuximab alcanzaron niveles estables al cabo de tres semanas de monoterapia con cetuximab. Las medias de las concentraciones máximas de cetuximab fueron de 155,8 mg/L en la semana 3 y 151,6 mg/L en la semana 8, mientras que las medias correspondientes a las concentraciones mínimas fueron de 41,3 y 55,4 mg/L, respectivamente. En un ensayo en el que cetuximab se administró en combinación con irinotecán, las medias de los niveles mínimos de cetuximab fueron de 50,0 mg/L en la semana 12, y 49,4 mg/L en la semana 36”. Además, los informes de evaluación de Erbitux<sup>®</sup> (cetuximab) de la FDA (137) y de la EMA (136) señalan concentraciones valle medias en estado estacionario, con la dosis de 400 mg/m<sup>2</sup> seguida de 250 mg/m<sup>2</sup> (a partir de la tercera infusión semanal), entre 54-64 mg/L y, en pacientes con CCRm en combinación con irinotecan, entre 46-66 mg/L, concluyendo que la exposición a cetuximab en monoterapia fue similar a cuando se administró en combinación con irinotecán (137). Por último, Becher y cols. (161) midieron la  $C^{SSmin}$  (tras 2 meses de tratamiento) y obtuvieron una media de 40,3 ± 20,3 mg/L (CV: 51%, 0–74,6 mg/L).

En lo que respecta a la mediana de  $C^{SSmin}$  de nuestra muestra con la posología de 250 mg/m<sup>2</sup> (19,21 mg/L), nuestros datos muestran aún mayores diferencias con respecto a otros estudios, causado por la gran variabilidad observada. Así, en el estudio de Cézé y cols. (86), en el que 16 pacientes (15 con CCRm) recibieron irinotecán junto con cetuximab (400 mg/m<sup>2</sup> seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> por semana), la mediana de las concentraciones valle de cetuximab fue de 49,6 mg/L (rango: 5,8-105,4), aunque no se especificó el número de ciclos medios administrados y tampoco se evaluó el estado del EGFR. En el estudio

fase II de Lenz y cols. (142) llevado a cabo en 346 pacientes con CCRm, se midieron, mediante un ensayo de resonancia de plasmón de superficie, las concentraciones valle tras la cuarta y sexta dosis de un esquema de 400mg/m<sup>2</sup> seguido de 250 mg/m<sup>2</sup> por semana, obteniendo una mediana (rango) de 92 mg/L (0-194 mg/L) y 108 mg/L (0-291 mg/L), respectivamente.

Las suposiciones realizadas previamente para bevacizumab y sus concentraciones, recogida de muestras y modo de conservación de las mismas, se pueden aplicar también a cetuximab. Si bien, en el estudio de Shibata y cols. (194) observaron que la estabilidad de cetuximab en suero no se vio alterada tras conservarse a temperatura ambiente durante 24 horas y tampoco observaron diferencias significativas con hasta tres ciclos de congelación y descongelación. En esta línea se encuentra un estudio llevado a cabo con el mAb trastuzumab, que demostró estabilidad de la muestra en plasma almacenada durante un año a -20°C (195). Tampoco podemos olvidar que las medidas de las concentraciones de los estudios comentados se realizaron mediante distintas técnicas.

Por último, existen distintas covariables que influyen en la variabilidad farmacocinética de cetuximab (133,134,158), como son: la superficie corporal, el peso, los leucocitos o la albúmina. En los informes de evaluación de la EMA (136) y de la FDA (137) indican que a pesar de que el sexo fue identificado como una covariable significativa para el volumen de C<sub>1</sub> y el aclaramiento (V<sub>max</sub> y K<sub>m</sub>), su efecto no necesitó ajuste de dosis.

## Limitaciones, fortalezas e implicaciones

Hasta donde conocemos, este es el primer estudio que ha intentado relacionar las C<sup>SS</sup>min de bevacizumab con el control de la enfermedad en CCRm. Otros estudios previos publicados para esta indicación evaluaron la relación con concentraciones iniciales de bevacizumab a día 14 (98,119) o C<sup>SS</sup>min (163) con supervivencia. En el caso de cetuximab, solo Becher y cols. (161) habían evaluado previamente la relación entre la C<sup>SS</sup>min con el beneficio clínico en pacientes con CCyC KRAS y NRAS nativos.

En nuestro estudio, el hecho de no encontrar relación estadísticamente significativa entre la exposición y la respuesta a estos mAbs, puede ser debido

a las limitaciones que, en el reclutamiento de pacientes, tiene ser un único centro. También a la alta variabilidad inter e intraindividual encontrada en las concentraciones, a la pobre correlación entre la tasa de respuesta y la supervivencia o a las diferencias en los regímenes posológicos, esquemas quimioterápicos y líneas de tratamiento, como estudio en práctica clínica que es. Por otro lado, para identificar concentraciones diana de mAbs oncológicos, aunque comparar la exposición con el control de la enfermedad puede ser razonable, quizás no es la mejor opción (79). Todo ello podría haber contribuido a que no se evaluara adecuadamente el efecto.

En cuanto al seguimiento de los pacientes del estudio, consideramos que fue adecuado, puesto que el intervalo de tiempo entre la concentración (factor predictor) y la respuesta RECIST (resultado) fue de días.

La variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas de bevacizumab y cetuximab, con una dosificación basada en el peso o en la superficie corporal, la disponibilidad de test comerciales para medir niveles plasmáticos y la ausencia de biomarcadores predictores de la respuesta al tratamiento, hacen necesario el avance en la evaluación de la relación exposición-respuesta de estos mAbs. Esta relación podría ser más fuerte con cetuximab, puesto que encontramos un mayor número de estudios publicados, tanto en CCRm como en CCyC, con similar número de pacientes y diferentes grupos de pacientes (131,141,159,161), como en nuestro estudio.

En la era de la medicina personalizada ésta debe ir unida a una adecuada exposición a los fármacos para obtener el mayor beneficio posible. El TDM de los mAbs oncológicos constituye una herramienta de individualización posológica. Por ello es importante generar conocimiento en este campo, especialmente a partir de estudios que evalúen la efectividad y seguridad de los mAbs antitumorales, su impacto en los resultados clínicos y en la sostenibilidad del sistema de salud. Estos estudios, junto con los test diagnósticos, deberían contribuir a la mejora de la eficiencia de los diferentes tratamientos oncológicos.

Desde el punto de vista meramente económico, dado que los mAbs son fármacos caros, evitar concentraciones plasmáticas por encima de lo necesario para conseguir eficacia, podría reducir un gasto innecesario.

Otro motivo para medir niveles plasmáticos en sangre de los mAbs utilizados en oncología, podría ser el que ha llevado al hospital The Netherlands Cancer Institute, en Amsterdam, a utilizar dosis fijas de algunos mAbs (196). Su argumentación se basa en que una dosificación por peso proporciona concentraciones mayores en pacientes obesos y menores en pacientes con bajo peso, puesto que el cambio en el volumen plasmático no sigue la misma proporción que el cambio en el peso corporal en estos pacientes. Sin embargo, en su justificación no hacen referencia al volumen del líquido extracelular, donde también se distribuyen los mAbs. Además, aconsejan dosis fijas para la dosificación de bevacizumab y cetuximab, a pesar de que no lo han implementado en su práctica clínica.

No obstante, previamente a la implementación del TDM es necesario que, para cada grupo de pacientes e indicaciones, se establezca, tanto la relación exposición-respuesta, como un valor límite de concentraciones valle por encima del cual se demuestre eficacia. Ya que, al cambiar de indicación terapéutica, puede haber diferente densidad de receptores y puede resultar en un aclaramiento diferente (60). Además, es preciso acreditar beneficio tras el aumento de dosis en pacientes con concentraciones bajas, así como desarrollar algoritmos de tratamiento basados en TDM que ayuden a guiar las decisiones clínicas. Todos estos avances deberían provenir, idealmente, de grandes ensayos prospectivos multicéntricos.

# Conclusiones



De acuerdo con los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral, y como consecuencia de los resultados obtenidos y de la discusión desarrollada, hemos llegado a las siguientes conclusiones:

1. No podemos confirmar una relación entre la exposición a bevacizumab y el control de la enfermedad en CCRm, puesto que la  $C^{ss}_{min}$  se mantuvo estable independientemente de la respuesta.
2. En el caso de cetuximab, a pesar de encontrar una tendencia positiva en el beneficio clínico con el aumento de la  $C^{ss}_{min}$ , tampoco podemos confirmar una relación entre la exposición a cetuximab y el control de la enfermedad en el CCRm o en el CCyC.
3. Los resultados obtenidos sugieren que mayores  $C^{ss}_{min}$  de bevacizumab se asocian con mayor SG pero no se ha encontrado esta asociación con la SLP.
4. No se ha hallado asociación entre la  $C^{ss}_{min}$  de cetuximab con la supervivencia ni en CCRm ni en CCyC, aunque se desconoce si el pequeño tamaño muestral es el responsable de la ausencia de relación. Sin embargo, agrupando ambas patologías, parece que el punto de corte de mayor probabilidad de beneficio clínico se sitúa en concentraciones en torno a 19 mg/L de cetuximab.
5. En ninguno de los dos fármacos estudiados se halló relación entre las  $C^{ss}_{min}$  y los efectos adversos o el nivel de funcionalidad del paciente.
6. La pauta posológica de 7,5 mg/kg cada 21 días de bevacizumab resultó en una primera  $C^{ss}_{min}$  por paciente más elevada que la administración de 5 mg/kg cada 14 días.
7. La asociación positiva encontrada entre el riesgo de progresión y la fosfatasa alcalina y negativa con la albúmina vista en los pacientes en tratamiento con bevacizumab, así como la asociación entre la SG y la toxicidad cutánea de cetuximab, deben ser respaldadas en un análisis multivariable.



# Anexo I

**AUTORIZACIÓN DEL CEIC, VARIABLES DEL CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS Y  
ESTRATEGIAS DE BÚSQUEDA POR BASE DE DATOS.**



## Autorización del Comité de Ética



C.E.I.C

D. Ricardo Díaz Abad, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Severo Ochoa,

### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado el Estudio Observacional con título:

*“Determinación de niveles plasmáticos de trastuzumab, cetuximab, bevacizumab. Correlación con la evolución clínica”*

y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité ha valorado la Enmienda propuesta y acepta en su reunión de fecha 20 de diciembre de 2017, que sea llevada a cabo por la Dra. Ana López Martín, del servicio de Oncología, en el Hospital Universitario Severo Ochoa, como investigadora principal.

Además, se hace constar que:

1º. El CEIC, tanto en su composición, como en los PNTs cumple las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la Orden SAS 3470/2009, de 16 de diciembre.

2º. La composición actual del CEIC es la siguiente:

D. Adolfo Ramos Luengo	Presidente, adjunto del Servicio de Anestesiología
D. Carlos González Juárez	Vicepresidente, adjunto de Psiquiatría
D. Ricardo Díaz Abad	Secretario Técnico, adjunto de Medicina Intensiva
D <sup>a</sup> . Ana López Martín	Vocal, adjunta del servicio de Oncología.
D <sup>a</sup> Amparo Lucena Campillo	Vocal, adjunta del servicio de Farmacia
D <sup>a</sup> Beatriz Medina Bustillo	Vocal, Farmacéutica Atención Primaria Dirección Asistencial Sur
D. Miguel Cervero Jiménez	Vocal, Presidente de la Comisión de Investigación
D. Sergio Quevedo Teruel	Vocal, adjunto de Pediatría y Áreas Específicas.
D. Daniel Ordorica Rubiano	Vocal, enfermero, Especialista en Geriatria.
D <sup>a</sup> . Lucía Llanos Jiménez	Vocal, Farmacóloga Clínica
D <sup>a</sup> . M <sup>a</sup> Teresa Rodríguez Monje	Vocal, médico de Atención Primaria.
D <sup>a</sup> Isabel Herranz Lama Noriega	Vocal lego, Lda. en Derecho, Especialista en Derecho sanitario.
D <sup>a</sup> Ana Isabel Martín Cuesta	Vocal, miembro lego, administrativa del CEIC
D. Mamel Martínez Domínguez	Vocal, miembro lego representante de los pacientes

*Durante la evaluación de la enmienda se ausentó D<sup>a</sup>. Ana López Martín, miembro del CEIC, al ser investigadora principal del estudio.*

Leganés, 27 de diciembre de 2017

Fdo.: Ricardo Díaz Abad

## Variables del cuaderno de recogida de datos

Variables individuales recopiladas en el cuaderno de recogida de datos. Las variables con casilla verde son las relacionadas con una C<sup>SS</sup>min.

Variable	Definición de la variable de estudio y codificación
Año nacimiento	Año de nacimiento.
Sexo	Mujer (0) u hombre (1).
ECOG diagnóstico	ECOG Performance Status al diagnóstico (0-5).
Enfermedad neoplásica	Cáncer colorrectal (0) o Cáncer de cabeza y cuello (1).
Enfermedad neoplásica subtipo	Subtipo de CCR y de CCYC: colon (0) o recto (1) u orofaringe (2), laringe (3) o faringe (4), respectivamente.
Fecha diagnóstico inicial	Fecha del primer diagnóstico histológico. <i>Si no se conoce el día concreto del mes por defecto se indica el día 15.</i>
Fecha diagnóstico enfermedad avanzada	Fecha del diagnóstico de enfermedad avanzada.
Estadio diagnóstico	Estadio al diagnóstico según el sistema TNM (0, I-IV).
Fecha inclusión	Fecha de inclusión en el estudio.
Estadio inclusión	Estadio según el sistema TNM (0, I-IV) en el momento de la inclusión en el estudio.
Histología	Epidermoide o escamoso (0) o adenocarcinoma (1).
Metástasis	Hallazgos de metástasis en el momento de la inclusión en el estudio (sí/no).
Localización de las metástasis	Metástasis pulmón, peritoneal, hepática u otra. <i>Codificadas como variables independientes (sí/no).</i>
N.º órganos afectados	Suma del número de órganos afectados.
N.º metástasis	Número de lesiones metastásicas: 0, 1-5, 6-10 y $\geq 11$ , como reflejo de la carga tumoral. Codificadas como 0, 1, 2 y 3, respectivamente.
Comorbilidades	Suma del número de enfermedades presentes en un individuo. Clasificado, según el índice de comorbilidad de Charlson, en 3 grupos: 0, 1 o $\geq 2$ .
Tratamiento quimioterápico previo	El paciente ha tenido tratamiento quimioterápico previo (sí/no).

Variable	Definición de la variable de estudio y codificación
N.º Tratamientos quimioterápicos previos	Número de esquemas quimioterápicos previos distintos al administrado en el momento de la inclusión en el estudio.
Tratamiento radioterápico previo	El paciente ha tenido tratamiento radioterápico previo (sí/no).
N.º Tratamiento radioterápico previo	Número de tratamientos radioterápicos diferentes previos a la inclusión en el estudio.
Cirugías previas	El paciente ha tenido tratamiento quirúrgico para el tumor (sí/no).
N.º cirugías previas	Número de cirugías oncológicas previas a la inclusión en el estudio.
Tratamiento radioterápico inclusión	El paciente estaba en tratamiento con radioterapia en el momento de la inclusión en el estudio (sí/no).
Tratamiento quimioterápico inclusión	El paciente estaba en tratamiento con quimioterapia en el momento de la inclusión en el estudio (sí/no).
Quimioterapia inclusión	Esquema de quimioterapia en el momento de la inclusión en el estudio.
Fecha inicio tratamiento quimioterápico inclusión	Fecha de inicio del esquema de tratamiento quimioterápico administrado en el momento de la inclusión en el estudio.
Fecha fin tratamiento quimioterápico inclusión	Fecha de fin del esquema de tratamiento quimioterápico administrado en el momento de la inclusión en el estudio.
Quimioterapia sucesiva	Cambio de esquema de quimioterapia que contiene el mAb con el que se había incluido al paciente en el estudio. <i>En el caso de varios cambios de esquema, éstos son codificados de manera independiente.</i>
Fecha inicio tratamiento quimioterápico sucesivo	Fecha de inicio del esquema de tratamiento quimioterápico sucesivo.
Fecha fin tratamiento quimioterápico sucesivo	Fecha de fin del esquema de tratamiento quimioterápico sucesivo.
Fecha inicio mAb	Fecha de inicio del tratamiento con el mAb de estudio, tanto si forma parte de un esquema de quimioterapia como si se administra en monoterapia.

Variable	Definición de la variable de estudio y codificación
Fecha inicio mantenimiento mAb	Fecha en la que el mAb de estudio comienza a administrarse en monoterapia como mantenimiento hasta progresión de la enfermedad.
Fecha fin tratamiento mAb	Fecha del último día de la administración del mAb de estudio.
Mantenimiento mAb	Durante el estudio se ha administrado el mAb como tratamiento de mantenimiento (sí/no).
mAb	mAb de estudio: cetuximab (1) o bevacizumab (0).
Peso	Peso corporal del paciente (redondeado a Kg) a la inclusión en el estudio, registrado en el programa de prescripción de oncología.
Talla	Talla del paciente (cm) a la inclusión en el estudio, registrado en el programa de prescripción de oncología.
Fecha respuesta previa observada	Fecha de la 1º evaluación RECIST tras inicio con el mAb.
Respuesta previa observada	1º evaluación RECIST tras inicio con el mAb (RC, RP, PE, EE).
Periodicidad mAb	Periodicidad pautada de administración del mAb (días).
Fecha Concentración N	Fecha de extracción de la N (1º, 2º, 3º, ...) C <sup>SS</sup> min de mAb del paciente.
Dosis N	Cantidad de mAb por ciclo (redondeado a mg) previo a la extracción del N C <sup>SS</sup> min del paciente.
Concentración N	Concentración de la N C <sup>SS</sup> min (µg/mL).
Fecha respuesta observada N	Fecha evaluación RECIST vinculada con la extracción de la N C <sup>SS</sup> min.
Respuesta observada N	Evaluación RECIST vinculada con la extracción de la N C <sup>SS</sup> min (RC, RP, PE, EE).
ECOG N	ECOG Performance Status perivalle N (0-5).
Toxicidad N	Toxicidades del mAb detectadas peri-valle N (sí/no).
Tipo toxicidad N	Toxicidad cutánea, diarrea, hipertensión arterial, Mg < 1,58 mg/dL u otras, detectadas peri-valle N. <i>Codificadas como variables independientes (sí/no).</i>

Variable	Definición de la variable de estudio y codificación
Albúmina sérica N	Concentración de albúmina (g/dL) peri-valle N.
Fosfatasa alcalina N	Concentración de fosfatasa alcalina (U/L) peri-valle N.
Interacción fármacos	Detección de interacción farmacológica peri-valle N entre el tratamiento habitual del paciente y el mAb.
Reducción dosis N	Detección de reducción de dosis de mAb por ciclo respecto a la dosis por ciclo N-1.
Exitus	Fecha del fallecimiento del paciente.
Fecha último seguimiento	Fecha del último seguimiento del paciente en el estudio.
Motivo fin tratamiento mAb	Progresión (0), toxicidad quimioterapia (1), decisión del paciente (2), otros motivos de fin de tratamiento con mAb (3) o ausencia de enfermedad (4).

## Estrategias de búsqueda por base de datos

### *Bevacizumab*

#### Estrategia de búsqueda en Cochrane

ID	Search	Hits
#1	MeSH descriptor: [Colorectal Neoplasms] explode all trees	8252
#2	MeSH descriptor: [Metabolic Clearance Rate] explode all trees	1858
#3	MeSH descriptor: [Half-Life] explode all trees	3474
#4	MeSH descriptor: [Pharmacokinetics] explode all trees	15443
#5	(Pharmacodynamics):ti,ab,kw	9715
#6	MeSH descriptor: [Drug Monitoring] explode all trees	1796
#7	MeSH descriptor: [Blood Specimen Collection] explode all trees	683
#8	MeSH descriptor: [Progression-Free Survival] explode all trees	461
#9	MeSH descriptor: [Disease Progression] explode all trees	7362
#10	MeSH descriptor: [Treatment Outcome] explode all trees	139925
#11	MeSH descriptor: [Dose-Response Relationship, Drug] explode all trees	30272
#12	MeSH descriptor: [Bevacizumab] explode all trees	1936
#13	(Bevacizumab):ti	4147
#14	#12 or #13	4657
#15	#14 and #1	447
#16	#2 or #3 or #4 or #5 or #6 or #7	27495
#17	#8 or #9 or #10 or #11	164177
#18	#15 and #16 and #17	2

#### Estrategia de búsqueda en Pubmed

((("bevacizumab"[MeSH Terms] OR "bevacizumab"[Title]) AND "colorectal neoplasms"[MeSH Terms]) AND (((("metabolic clearance rate"[MeSH Terms]

OR "half-life"[MeSH Terms]) OR "pharmacokinetics"[MeSH Terms]) OR "pharmacodynamics"[Title/Abstract]) OR "drug monitoring"[MeSH Terms]) OR "blood specimen collection"[MeSH Terms]) AND (((("progression-free survival"[MeSH Terms] OR "disease progression"[MeSH Terms]) OR "treatment outcome"[MeSH Terms]) OR "dose-response relationship, drug"[MeSH Terms])

## Estrategia de búsqueda en Embase

('bevacizumab'/exp OR bevacizumab:ti) AND 'colon cancer'/exp AND ('pharmacokinetic parameters'/exp OR 'pharmacokinetics'/exp OR 'pharmacodynamics'/exp OR 'drug monitoring'/exp OR 'blood sampling'/exp OR 'drug determination'/exp OR 'drug blood level'/exp OR 'drug exposure'/exp OR 'compartment model'/exp OR 'clearance'/exp) AND ('cancer survival'/exp OR 'progression free survival'/exp OR 'overall survival'/exp OR 'exposure response relationship'/exp OR 'clinical outcome'/exp OR 'drug efficacy'/exp OR 'drug response'/exp OR 'dose response'/exp) AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim) AND ([english]/lim OR [spanish]/lim) AND [humans]/lim

## Cetuximab

### Estrategia de búsqueda en Cochrane

ID	Search Hits
#1	MeSH descriptor: [Cetuximab] explode all trees 593
#2	(cetuximab):ti 1511
#3	MeSH descriptor: [Head and Neck Neoplasms] explode all trees 5886
#4	MeSH descriptor: [Colorectal Neoplasms] explode all trees 8252
#5	MeSH descriptor: [Metabolic Clearance Rate] explode all trees 1858
#6	MeSH descriptor: [Half-Life] explode all trees 3474
#7	MeSH descriptor: [Pharmacokinetics] explode all trees 15443
#8	(pharmacodynamics):ti,ab,kw 9715
#9	MeSH descriptor: [Drug Monitoring] explode all trees 1796
#10	MeSH descriptor: [Blood Specimen Collection] explode all trees 683
#11	MeSH descriptor: [Progression-Free Survival] explode all trees 461
#12	MeSH descriptor: [Disease Progression] explode all trees 7362
#13	MeSH descriptor: [Treatment Outcome] explode all trees 139925
#14	MeSH descriptor: [Dose-Response Relationship, Drug] explode all trees 30272
#15	#1 or #2 1661
#16	#3 or #4 14044
#17	#5 or #6 or #7 or #8 or #9 or #10 27495
#18	#11 or #12 or #13 or #14 164177
#19	#15 and #16 446
#20	#19 and #17 and #18 3

## Estrategia de búsqueda en Pubmed

((("cetuximab"[MeSH Terms] OR "cetuximab"[Title]) AND ("head and neck neoplasms"[MeSH Terms] OR "colorectal neoplasms"[MeSH Terms])) AND (((("metabolic clearance rate"[MeSH Terms] OR "half-life"[MeSH Terms]) OR "pharmacokinetics"[MeSH Terms]) OR "pharmacodynamics"[Title/Abstract]) OR "drug monitoring"[MeSH Terms]) OR "blood specimen collection"[MeSH Terms]) AND (((("progression-free survival"[MeSH Terms] OR "disease progression"[MeSH Terms]) OR "treatment outcome"[MeSH Terms]) OR "dose-response relationship, drug"[MeSH Terms]))

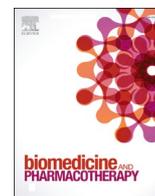
## Estrategia de búsqueda en Embase

((('cetuximab'/exp OR cetuximab:ti) AND 'head and neck tumor'/exp OR 'colon cancer'/exp) AND ('pharmacokinetic parameters'/exp OR 'pharmacokinetics'/exp OR 'pharmacodynamics'/exp OR 'drug monitoring'/exp OR 'blood sampling'/exp OR 'drug determination'/exp OR 'drug blood level'/exp OR 'drug exposure'/exp OR 'compartment model'/exp OR 'clearance'/exp) AND ('cancer survival'/exp OR 'progression free survival'/exp OR 'overall survival'/exp OR 'exposure response relationship'/exp OR 'clinical outcome'/exp OR 'drug efficacy'/exp OR 'drug response'/exp OR 'dose response'/exp) AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim) AND ([english]/lim OR [spanish]/lim) AND [humans]/lim



# Anexo II

**ARTÍCULOS CIENTÍFICOS ELABORADOS HASTA LA FECHA, RELACIONADOS CON LA  
PRESENTE TESIS DOCTORAL**



## Assessment of exposure-response relationship for bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer

Silvia Peña-Cabía<sup>a,\*</sup>, Ana Royuela Vicente<sup>b</sup>, Ruth Ramos Díaz<sup>c</sup>, Fernando Gutiérrez Nicolás<sup>d</sup>, Ángela Peñalver Vera<sup>e</sup>, Isabel Siso García<sup>f</sup>, Ricardo Hitt Sabag<sup>f</sup>, Concepción García Lacalle<sup>g</sup>, Ana Peña-Cabía<sup>h</sup>, Irene Iglesias-Peinado<sup>i</sup>, Benito García Díaz<sup>a</sup>, Ana López-Martín<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Pharmacy Unit, Severo Ochoa University Hospital, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Biostatistics Unit, Puerta de Hierro Biomedical Research Institute (IDIPHISA), CIBERESP, Madrid, Spain

<sup>c</sup> Foundation Health Research Institute of Canary (FIISC), University Hospital Complex of Canary (CHUC), Tenerife, Spain

<sup>d</sup> Research Unit, University Hospital Complex of Canary (CHUC), Tenerife, Spain

<sup>e</sup> Clinical Trial Unit, Severo Ochoa University Hospital, Madrid, Spain

<sup>f</sup> Medical Oncology Unit, Severo Ochoa University Hospital, Madrid, Spain

<sup>g</sup> Biochemistry Unit, Severo Ochoa University Hospital, Madrid, Spain

<sup>h</sup> Medical Laboratory Unit, Virgen de la Luz Hospital, Cuenca, Spain

<sup>i</sup> Department of Pharmacology, Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Bevacizumab  
Colorectal neoplasms  
Drug monitoring  
Exposure-response relationship  
Treatment outcome

### ABSTRACT

Limited literature is available for bevacizumab exposure-response relationship and there is not a concentration threshold associated with an optimal disease control. This prospective observational study in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) aims to evaluate, in a real-life setting, the relationship between bevacizumab through concentrations at steady state ( $C_{\text{trough, SS}}$ ) and disease control.  $C_{\text{trough, SS}}$  were drawn, coinciding with the radiological evaluation of the response (progression or clinical benefit). Generalized estimating equations (GEE) analysis was performed. To test the association between  $C_{\text{trough, SS}}$  in each patient with overall survival (OS) or progression-free survival (PFS), Cox proportional hazard models were developed. Data included 50 bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  from 27 patients. The GEE model did not suggest any positive association between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit (OR 0.99, 95% CI: 0.98–1.02,  $p = 0.863$ ). The Cox regression showed association between higher median  $C_{\text{trough, SS}}$  with better OS (HR 0.86, 95% CI: 0.73–1.01,  $p = 0.060$ ), but not with PFS. We cannot confirm a relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit but this is the first real-world study trying to show a relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and disease control in mCRC. It was conducted in a small sample size which reduces the level of evidence. Further controlled randomized studies with a sufficient number of patients are required.

### 1. Introduction

Colorectal cancer is the second most diagnosed cancer in women and the third most diagnosed cancer in men worldwide [1]. It has a high mortality rate [1], because 25% of patients are metastatic on diagnosis and 50% develop metastatic disease [2].

One of the treatments used in the metastatic setting is the monoclonal antibody (mAb) bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) humanized mAb [3]. VEGF is essential for physiologic vascular homeostasis but also in the pathogenesis of tumor

growth and metastasis [4].

Dosing of mAbs is often based on body surface area or weight, because of the general perception that dosing based on patients' body size reduces inter-subject variability in distribution and elimination. However, this has recently been challenged [5,6].

Furthermore, it is suggested that the current dosing of cancer mAbs may not be optimal from an efficacy-cost perspective [7]. This is explained, considering no impact in efficacy, when dose reductions would substantially decrease the cost of treatment or in patients with very high drug concentrations [8]. Moreover, in oncology dose

\* Correspondence to: Hospital Universitario Severo Ochoa, Avda. Orellana s/n 28914, Leganés, Madrid, Spain.

E-mail address: [silviapcacia@gmail.com](mailto:silviapcacia@gmail.com) (S. Peña-Cabía).

<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2021.111827>

Received 6 April 2021; Received in revised form 7 June 2021; Accepted 11 June 2021

Available online 18 June 2021

0753-3322/© 2021 The Author(s).

Published by Elsevier Masson SAS. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

modifications are usually reductions due to toxicity, but rarely is the dose increased in the absence of efficacy or toxicity [9,10].

Therapeutic drug monitoring (TDM) has the potential in oncology to optimize drug use in clinical practice. However, TDM in oncology is less developed than in other areas, like infectious diseases, psychiatry, neurology, etc. [9]. Despite the fact that mAbs have many of the requisites for TDM [8,11,12] – exposure-response relationship, no direct clinical measurement of drug effect, interindividual pharmacokinetic (PK) variability, flexibility in dosing and the availability of quantitative and reliable clinical testing – there is a limited number of studies in oncology supporting TDM of mAbs [5,12]. One of the reasons is the lack of a target concentration to be effective in each disease, information which is necessary for PK-Pharmacodynamic studies [13].

Important bevacizumab population PK research in oncology show its linearity, the PK parameters, the interindividual variability and the covariates [14–16]. Nevertheless, a limited number of studies making an association between clinical response and exposition for bevacizumab have been conducted so far [14,17–19]. A study performed on 13 glioma patients observed a treatment efficacy/side effects ratio with concentration between 200 and 250 mg/L [17]. In colorectal cancer, there are three studies: Caulet et al. [14] found a relationship between trough concentration ( $C_{\text{trough}}$ ) on 14 day > 15.5 mg/L with higher overall survival (OS) ( $p = 0.006$ ) and higher progression-free survival (PFS) ( $p = 0.0039$ ). Also, on 14 day, Akbulut et al. [18] observed that patients with  $C_{\text{trough}} > 25$  mg/L had higher OS ( $p = 0.0198$ ). And it was Papachristos et al. [19] who found an association between trough concentrations at steady state ( $C_{\text{trough, SS}} \geq 87.9$  mg/L with higher OS ( $p = 0.0003$ ).

The aim of the present study was to assess the relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit in a real-world setting.

## 2. Material and methods

### 2.1. Design

A prospective observational study in a real-life setting was conducted in a tertiary referral hospital to assess the relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and response in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). This study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the research ethics committee of Severo Ochoa University Hospital of Madrid (Spain). Prior to participating in this study, all patients provided signed informed consent. We complied with the law regarding patient confidentiality and data protection.

### 2.2. Participants

Patients were eligible, if they were over 18 years old with mCRC, measurable disease, receiving bevacizumab as part of their treatment and with a minimal life expectancy of three months after inclusion. Patients were enrolled between February 2018 and January 2020. The end of follow-up was 31 January 2020.

### 2.3. Treatment

Patients were treated according to standard guidelines and routine care of the institution. Bevacizumab was therefore administered following standard recommendations in patients with colorectal cancer, i.e., 5 mg/kg intravenously every 2 weeks or 7.5 mg/kg every 3 weeks in combination with chemotherapy or not (maintenance).

### 2.4. Bevacizumab concentration measurements

Blood samples (3 mL) to determine bevacizumab concentrations were collected after at least three months of treatment to ensure that steady state has been reached [3] and immediately before

administration of the next dose of bevacizumab ( $C_{\text{trough, SS}}$ ). Furthermore, blood samples were drawn, coinciding with the radiological evaluation of the response. Bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  were available across time (from one to six times according to tumor assessments and treatment discontinuation). Samples were collected in EDTA tubes and centrifuged at 1000 g for 10 min to obtain blood plasma. The samples were stored at  $-20$  °C and transported at  $-80$  °C for their analysis. Plasma concentrations were determined in University Hospital Complex of Canary (Tenerife, Spain) using an ELISA kit (SHIKARI Q-BEVA) with automated TRITURUS analysis system (Grifols). To minimize the inter-analytical variability of the procedure, each sample was analyzed in duplicate and the mean was used.

### 2.5. Clinical endpoints

Tumor assessments by radiological examination were performed every 12 weeks or when clinically indicated. The response was measured in accordance with Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) version 1.1 [20]. Patients responses were classified into 2 categories: progression or clinical benefit (complete response, partial response and stable disease).

At each time point alkaline phosphatase and serum albumin concentrations were measured.

PFS was defined as the time from first bevacizumab infusion to progressive disease or death from any cause or time of the last follow-up. OS was defined as the time from the first infusion of bevacizumab to death from any cause.

### 2.6. Statistical analysis

Numerical variables are shown as medians (percentiles 25 and 75) and categorical variables are presented as frequencies (percentages).

To assess the association between the bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  and clinical benefit, a generalized estimating equations (GEE) regression analysis was performed [21]. This analysis takes into account the correlation of the different measures of  $C_{\text{trough, SS}}$  throughout the study for each patient. A dependent variable was clinical benefit (proven or not) at each time point of tumor assessment. The link function was logit and the covariance structure was exchangeable. As an independent variable, bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  was introduced at each time point. The odds ratio (OR) shows the association for each additional mg/L of bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  with clinical benefit. The corresponding 95% confidence intervals (95% CI) were also obtained.

Median follow-up was estimated through the reverse Kaplan-Meier method [22]. OS and PFS were assessed. Four univariable Cox proportional hazard models were developed to test the association between the median bevacizumab  $C_{\text{trough, SS}}$  (mg/L) in each patient or the last measure with each one of the outcomes (OS and PFS, respectively). Survival curves were estimated by means of the Kaplan-Meier method.

In addition, univariable Cox proportional hazard models were developed to test the association between the patients' variables with each one of the outcomes.

Significance level was established at 0.05. Software used has been Stata/IC v.16. (StataCorp. 2019. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LLC.).

## 3. Results

### 3.1. Patients

A total of 31 patients provided signed informed consent. Two patients were excluded because they were not metastatic and one because the only concentration that had been determined for him was not in a steady state. Finally, 28 patients with mCRC were evaluated. Patients' baseline characteristics are shown in Table 1. Only 9 patients (32%) received bevacizumab in first-line treatment for metastatic disease.

**Table 1**

Patients' baseline characteristics. CAPECITABINE: bevacizumab 7.5 mg/kg d1, capecitabine 1000 mg/m<sup>2</sup> per 12 h d1–14 every 3 weeks; ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group Scale of Performance Status; FOLFIRI: bevacizumab 5 mg/kg, irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup>, calcium folinate 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracil 400 mg/m<sup>2</sup> bolus, fluorouracil 2400 mg/m<sup>2</sup> over 46 h every 2 weeks; mFOLFOX 6: bevacizumab 5 mg/kg, oxaliplatin 85 mg/m<sup>2</sup>, calcium folinate 400 mg/m<sup>2</sup>, fluorouracil 400 mg/m<sup>2</sup> bolus, fluorouracil 2400 mg/m<sup>2</sup> over 46 h every 2 weeks; XELOX: bevacizumab 7.5 mg/kg d1, oxaliplatin 130 mg/m<sup>2</sup> d1, capecitabine 1000 mg/m<sup>2</sup> per 12 h d 1–14 every 3 weeks.

Characteristic	Median	Interquartile range
Age at inclusion, years	75	69–78
Body weight, Kg	70	58–79
Height, cm	162	155–168
	n	%
Sex		
Male	17	60.71
Female	11	39.29
Primary tumor site		
Colon	17	60.71
Rectum	11	39.29
ECOG PS at diagnosis		
0	14	50
1	11	39.29
2	3	10.71
Disease extent at inclusion		
Pulmonary metastasis	15	53.57
Peritoneal metastasis	7	25
Hepatic metastasis	20	71.43
Other location metastasis	7	25
Number of metastases		
1–5	13	46.43
6–10	9	32.14
>10	6	21.43
Comorbidities		
0	16	57.14
≥1	12	42.86
Concomitant chemotherapy at inclusion		
XELOX	4	14.29
mFOLFOX 6	5	17.85
FOLFIRI	7	25.00
CAPECITABINA	12	42.86
Bevacizumab posology		
5 mg/kg/2sem	11	39.29
7.5 mg/kg/3sem	17	60.71

### 3.2. Concentrations and responses

For identifying outliers we applied the rule based on 1.5 x interquartile range (IQR): only one value (198.68 mg/L) was above >1.5×IQR. Subsequently, this patient's unique concentration was excluded from posterior analysis.

Finally, data included 50 bevacizumab C<sub>trough, SS</sub> from 27 adult patients with mCRC (minimum 1 concentration measured per patient and maximum 6, average 1.9). Mean C<sub>trough, SS</sub> was 42.42 ± 36.37 mg/L. The dosing regimen that reached higher median concentrations (41 mg/L) was 7.5 mg/kg every 3 weeks, the most frequent dosing regimens in the study population (Table 2).

It was found that the mean C<sub>trough, SS</sub> in accordance with tumor response or progression was not homogeneous from first to sixth extraction.

**Table 2**

Trough concentrations at steady state according to bevacizumab dosage (n = 50). Max: maximum; Min: minimum; SD: standard deviation.

Bevacizumab dosage	Mean (mg/L)	SD (mg/L)	Median (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)
5 mg/kg every 2 weeks	27.56	19.40	26.30	1.76	72.03
7.5 mg/kg every 3 weeks	53.19	41.96	41.3	2.03	171.4

### 3.3. Exposure-response relationship

We assessed if the drug exposure over time was associated with a clinical response. C<sub>trough, SS</sub> was measured more than once for each patient and was entered into the model as time 1, 2 and so on respectively for each patient. No relationship between drug exposure and clinical response was detected. The GEE model did not suggest any positive association between bevacizumab C<sub>trough, SS</sub> and clinical benefit (OR 0.99, 95%CI: 0.98–1.02, p = 0.863).

Therefore, a clinical benefit predicted probability plot (with 95% CI) versus C<sub>trough, SS</sub> at increments of 20 mg/mL was drawn (Fig. 1). As can be appreciated from this Figure, the predicted probability remained relatively constant around 70%, irrespective of the concentrations.

The median follow-up was 14 months (95% CI: 9–16 months). OS was 25 months (95% CI: 17.47– not estimable) (Fig. 2). The Cox regression showed that higher median C<sub>trough, SS</sub> was associated with better OS (HR 0.86, 95% CI: 0.73–1.01, p = 0.060) and this relationship was also found with last C<sub>trough, SS</sub> (HR 0.87, 95% CI: 0.74–1.01, p = 0.064).

The median PFS was 11 months (95% CI: 6.33–17.47 months). Conversely, no association was observed between median C<sub>trough, SS</sub> (HR 0.98, 95% CI: 0.96–1.01, p = 0.213) nor last C<sub>trough, SS</sub> (HR 0.99, 95% CI: 0.98–1.01, p = 0.312) with PFS.

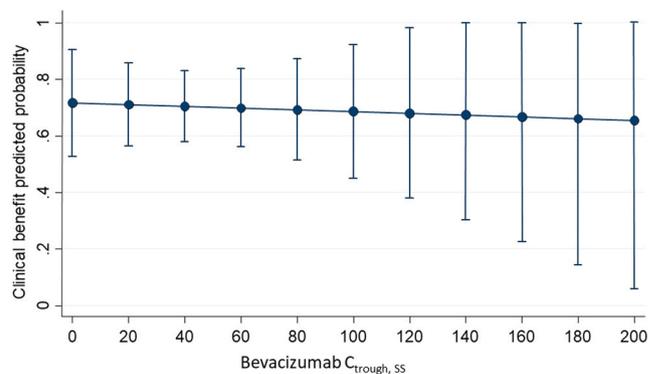
We assessed whether there was an association between the ECOG PS at each point in time (0–1 vs ≥2) and the C<sub>trough, SS</sub>. No association was found (OR 0.99, 95%CI: 0.97–1.02, p = 0.837).

The univariate analysis identified the age (HR 1.09, 95% CI: 1.01–1.18, p = 0.029), the median alkaline phosphatase concentration (HR 1.03, 95% CI: 1.00–1.06, p = 0.049) and the median serum albumin concentration (HR 0.27, 95% CI: 0.07–1.05, p = 0.059) as risk factors of progression.

## 4. Discussion

Unfortunately, the main outcome to assess the relationship between C<sub>trough, SS</sub> and clinical benefit was not found. Instead, exposure was associated with better OS with a slightly statistically significant value, probably due to the limited sample size. This association was not observed with PFS, a fact that may be explained by 3 of 16 patient progressions continuing treatment with bevacizumab. Previous studies, such as Bennouna et al. [23], have shown that the use of bevacizumab after disease progression could increase survival, a situation already observed by Caulet et al. [14] after two months of treatment.

Other studies found statistical relationship between exposure and response to bevacizumab treatment in mCRC [14,18,19]. This discrepancy with previous studies might be explained by the limitations in recruitment as unique center, differences in patient population (as study in clinical practice the patients were treated with different dosing



**Fig. 1.** Clinical benefit predicted probability plot (with 95% confidence intervals) versus bevacizumab trough concentrations at steady state (C<sub>trough, SS</sub>) at increments of 20 mg/mL.

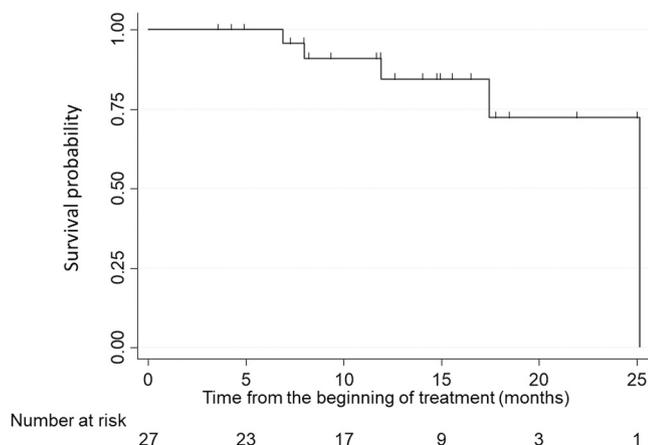


Fig. 2. Kaplan-Meier curve of overall survival.

regimens, chemotherapies and line treatment in metastatic disease), the high inter-individual variability in concentrations or poor correlation between response rate and survival. On the other hand, to validate target concentration of antitumor mAbs, comparing exposure with disease control, might be reasonable, but may not be the preferable outcome [11]. The effect cannot, therefore, be evaluated properly.

Previous studies differed about the threshold trough concentration which could predict efficacy. In a similar patient population, bevacizumab 5 mg/kg was administered intravenously every 2 weeks in combination with chemotherapy in mCRC, Akbulut et al. [18] proposed 25 mg/L and Caulet et al. [14] 15 mg/L as cut-off value at day 14 after the first infusion. Nevertheless, measuring only the initial plasma concentrations could be a disadvantage, because the tumor size may change after multiple dosing [24]. Only Papachristos et al. [19] investigated a threshold at steady state, however, despite having a good receiver operating characteristic curve, did not use it and patients were separated into three exposure groups depending on median bevacizumab  $C_{\text{trough, ss}}$ . They reported that median  $C_{\text{trough, ss}} \geq 87.9$  mg/L was associated with longer OS in first line treatment of mCRC. In our study, we could not use this threshold, because only 3 patients had concentrations above this level.

As previously published by Lu et al. [16], we did not find an association between higher bevacizumab concentration with better performance status as was suggested [25].

The results of the Cox regression showed an association between PFS and alkaline phosphatase ( $p = 0.049$ ) and negative with albumin ( $p = 0.059$ ), i.e., we found that per 10 unit increase in alkaline phosphatase was associated with a higher risk of progression of 3%. It may be explained by previous population PK investigations with bevacizumab [15,16], where an increased clearance with increasing baseline alkaline phosphatase and decreasing baseline albumin was observed. These covariates might be related to disease severity. In our case, they must also be significant in a multivariable Cox analysis to associate them with PFS. Even though age was also related with PFS ( $p = 0.029$ ), it does not seem to alter the pharmacokinetics of mAbs [26].

As previously described [15,16], there are several possible causes of variability in the PK of bevacizumab, including, sex, body weight, albumin, alkaline phosphatase or chemotherapy. We found that bevacizumab exposure levels were highly variable among patients (coefficient of variation of 79% for 7.5 mg/kg each 3 weeks and 70% for 5 mg/kg every 2 weeks) compared to Zhi et al. [27] (24% and 32%, respectively). Also exposure levels were lower compared to other investigations [18,27]. Other factors related to analytical determination [28], such as alteration of the binding equilibrium between the mAb and its target, biological and chemical transformation during blood collection, sample storage, transport or freeze/thaw cycles, and analytical interference from anti-drug antibodies, could also explain the

variability.

The inter-individual variability in plasma concentrations of bevacizumab with weight-based dosing, the availability of commercial tests to measure plasma levels and the absence of clinical biomarkers predicting treatment response demand further progress in assessing the exposure-response relationship of this mAb. This relationship might be stronger with others mAbs [8], such as cetuximab, as we found a greater number of studies published, even with a similar number of patients and different patient groups [29,30] to our research.

The era of precision medicine must be accompanied by adequate drug exposure to obtain the greatest possible benefit. A tool to guide individual patient dosing of antitumor mAbs is TDM. It is important to generate knowledge around it, especially through studies that assess effectiveness and safety of oncology mAbs, their impact on patients' outcomes and on economic sustainability. These studies, together with diagnostic tests, should help to ensure the efficiency of the different treatments.

Prior to the implementation of TDM of bevacizumab, it is necessary for each group of patients and indication to establish both the exposure-response relationship and a limit of trough concentrations above which efficacy is demonstrated. Demonstrating the benefit of dose escalation in patients with low concentrations should be accompanied by the development of TDM-based treatment algorithms to help guide clinical decisions, advances that must come from prospective large multicenter trials.

## 5. Conclusions

We cannot confirm a relationship between bevacizumab exposure and efficacy. It was found that  $C_{\text{trough, ss}}$  was stable regardless of response. To the best of our knowledge, this is the first real-world study trying to show a relationship between bevacizumab  $C_{\text{trough, ss}}$  and disease control in mCRC. It was conducted in a limited number of patients who are recruited from a single institution, which reduces the level of evidence.

Further controlled randomized studies with a sufficient number of patients with mCRC are required.

## Conflict of interest statement

None.

## Acknowledgements

This work was supported by Alfonso X el Sabio University's Foundation and Santander Group, VIII Call for grants for research, development and innovation groups [grant number 1.010.708].

## References

- [1] International Agency for Research on Cancer, WHO, GLOBOCAN 2020, Global Cancer Observatory, 2021. <https://gco.iarc.fr/> (Accessed 2 February 2021).
- [2] M.A. Gómez-España, J. Gallego, E. González-Flores, J. Maurel, D. Páez, J. Sastre, J. Aparicio, M. Benavides, J. Feliu, R. Vera, SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer (2018), Clin. Transl. Oncol. 21 (2019) 46–54, <https://doi.org/10.1007/s12094-018-02002-w>.
- [3] Avastin (bevacizumab) [prescribing information] Genentech, Inc., 2020. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/125085s337lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/125085s337lbl.pdf) (Accessed 6 March 2021).
- [4] R.S. Apte, D.S. Chen, N. Ferrara, VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development, Cell 176 (2019) 1248–1264, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.021>.
- [5] N. Widmer, C. Bardin, E. Chatelut, A. Paci, J. Beijnen, D. Levêque, G. Veal, A. Astier, Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part two – targeted therapies, Eur. J. Cancer 50 (2014) 2020–2036, <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.04.015>.
- [6] D.D. Wang, S. Zhang, H. Zhao, A.Y. Men, K. Parivar, Fixed dosing versus body size-based dosing of monoclonal antibodies in adult clinical trials, J. Clin. Pharmacol. 49 (2009) 1012–1024, <https://doi.org/10.1177/0091270009337512>.

- [7] A.S. Darwich, K. Ogungbenro, O.J. Hatley, A. Rostami-Hodjegan, Role of pharmacokinetic modeling and simulation in precision dosing of anticancer drugs, *Transl. Cancer Res.* 6 (2017) S1512–S1529, <https://doi.org/10.21037/17108>.
- [8] C.E. Knezevic, W. Clarke, Cancer chemotherapy: the case for therapeutic drug monitoring, *Ther. Drug Monit.* 42 (2020) 6–19, <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000701>.
- [9] J.H. Beumer, Without therapeutic drug monitoring, there is no personalized cancer care, *Clin. Pharmacol. Ther.* 93 (2013) 228–230, <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.243>.
- [10] J.H. Beumer, E. Chu, C. Allegra, Y. Tanigawara, G. Milano, R. Diasio, T.W. Kim, R. H. Mathijssen, L. Zhang, D. Arnold, K. Muneoka, N. Boku, M. Joerger, Therapeutic drug monitoring in oncology: International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology recommendations for 5-fluorouracil therapy, *Clin. Pharmacol. Ther.* 105 (2019) 598–613, <https://doi.org/10.1002/cpt.1124>.
- [11] T. Oude Munnink, M.J. Henstra, L.I. Segerink, K.L.L. Movig, P. Brummelhuis-Visser, Therapeutic drug monitoring of monoclonal antibodies in inflammatory and malignant disease: translating TNF- $\alpha$  experience to oncology, *Clin. Pharmacol. Ther.* 99 (2016) 419–431, <https://doi.org/10.1002/cpt.211>.
- [12] B. Gao, S. Yeap, A. Clements, B. Balakrishnar, M. Wong, H. Gurney, Evidence for therapeutic drug monitoring of targeted anticancer therapies, *J. Clin. Oncol.* 30 (2012) 4017–4025, <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.5362>.
- [13] D. Ternant, G. Paintaud, Pharmacokinetics and concentration-effect relationships of therapeutic monoclonal antibodies and fusion proteins, *Expert Opin. Biol. Ther.* 5 (2005) S37–S47, <https://doi.org/10.1517/14712598.5.1.S37>.
- [14] M. Caulet, T. Lecomte, O. Bouché, J. Rollin, V. Gouilleux-Gruart, N. Azzopardi, J. Léger, C. Borg, J.Y. Douillard, S. Manfredi, D. Smith, O. Capitain, A. Ferru, D. Moussata, E. Terrebone, G. Paintaud, D. Ternant, Bevacizumab pharmacokinetics influence overall and progression-free survival in metastatic colorectal cancer patients, *Clin. Pharmacokinet.* 55 (2016) 1381–1394, <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0406-3>.
- [15] K. Han, T. Peyret, M. Marchand, A. Quartino, N.H. Gosselin, S. Girish, D.E. Allison, J. Jin, Population pharmacokinetics of bevacizumab in cancer patients with external validation, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 78 (2016) 341–351, <https://doi.org/10.1007/s00280-016-3079-6>.
- [16] J.F. Lu, R. Bruno, S. Eppler, W. Novotny, B. Lum, J. Gaudreault, Clinical pharmacokinetics of bevacizumab in patients with solid tumors, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 62 (2008) 779–786, <https://doi.org/10.1007/s00280-007-0664-8>.
- [17] G. Nugue, M. Bidart, M. Arlotto, M. Mousseau, F. Berger, L. Pelletier, Monitoring monoclonal antibody delivery in oncology: the example of bevacizumab, *PLoS One* 8 (2013) 72021, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072021>.
- [18] H. Akbulut, M. Ocal, F.G. Sonugur, S. Abdi Abgarmi, C. Babahan, B. Akay, Ü. Yalçintas Arslan, M. Artac, M.A.N. Sendur, A. Demirkazik, The trough levels of bevacizumab significantly affect the outcome of treatment in patients with metastatic colorectal cancer: a Turkish Oncology Group study, in: 2018 ASCO Annu. Meet. 1, *J. Clin. Oncol.* 36 (2018), e15553, [https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.15\\_suppl.e15553](https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.15_suppl.e15553).
- [19] A. Papachristos, P. Kemos, H. Kalofonos, G. Sivolapenko, Correlation between bevacizumab exposure and survival in patients with metastatic colorectal cancer, *Oncologist* 25 (2020) 853–858, <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0835>.
- [20] L.H. Schwartz, S. Litière, E. De Vries, R. Ford, S. Gwyther, S. Mandrekar, L. Shankar, J. Bogaerts, A. Chen, J. Dancey, W. Hayes, F.S. Hodi, O.S. Hoekstra, E. P. Huang, N. Lin, Y. Liu, P. Therasse, J.D. Wolchok, L. Seymour, RECIST 1.1-update and clarification: from the RECIST Committee, *Eur. J. Cancer* 62 (2016) 132–137, <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.03.081>.
- [21] J. Hanley, A. Negassa, M. Edwardes, J. Forrester, Statistical analysis of correlated data using generalized estimating equations: an orientation, *Am. J. Epidemiol.* 157 (2003) 364–375, <https://doi.org/10.1093/aje/kwf215>.
- [22] T.G. Clark, M.J. Bradburn, S.B. Love, D.G. Altman, Survival analysis part I: basic concepts and first analyses, *Br. J. Cancer* 89 (2003) 232–238, <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601118>.
- [23] J. Bennouna, J. Sastre, D. Arnold, P. Österlund, R. Greil, E. Van Cutsem, R. von Moos, J.M. Viéitez, O. Bouché, C. Borg, C.C. Steffens, V. Alonso-Orduña, C. Schlichting, I. Reyes-Rivera, B. Bendahmane, T. André, S. Kubicka, Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial, *Lancet Oncol.* 14 (2013) 29–37, [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70477-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70477-1).
- [24] D. Ternant, N. Azzopardi, W. Raoul, T. Bejan-Angoulvant, G. Paintaud, Influence of antigen mass on the pharmacokinetics of therapeutic antibodies in humans, *Clin. Pharmacokinet.* 58 (2019) 169–187, <https://doi.org/10.1007/s40262-018-0680-3>.
- [25] F. Le Louedec, E. Chatelut, Correlation between bevacizumab exposure and survival does not necessarily imply causality, *Oncologist* 25 (2020) 2022, <https://doi.org/10.1002/onco.13564>.
- [26] N.L. Dirks, B. Meibohm, Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies, *Clin. Pharmacokinet.* 49 (2010) 633–659, <https://doi.org/10.2165/11535960-000000000-00000>.
- [27] J. Zhi, E. Chen, P. Major, I. Burns, B. Robinson, J. McKendrick, K. Rittweger, M. Abt, D. Goldstein, A multicenter, randomized, open-label study to assess the steady-state pharmacokinetics of bevacizumab given with either XELOX or FOLFOX-4 in patients with metastatic colorectal cancer, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 68 (2011) 1199–1206, <https://doi.org/10.1007/s00280-011-1606-z>.
- [28] B. Kuang, L. King, H.F. Wang, Therapeutic monoclonal antibody concentration monitoring: free or total? *Bioanalysis* 2 (2010) 1125–1140, <https://doi.org/10.4155/bio.10.64>.
- [29] F. Becher, J. Ciccolini, D.-C. Imbs, C. Marin, C. Fournel, C. Dupuis, N. Fakhry, B. Pourroy, A. Ghetas, A. Pruvost, C. Junot, F. Duffaud, B. Lacarelle, S. Salas, A simple and rapid LC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of cetuximab: a GPCO-UNICANCER proof of concept study in head-and-neck cancer patients OPEN, *Sci. Rep.* 7 (2017) 1–11, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02821-x>.
- [30] F. Le Louedec, C. Alix-Panabières, T. Lafont, B.C. Allal, R. Garrel, L. Digue, J. Guigay, D. Cupissol, J.P. Delord, B. Lallemand, M. Alfonsi, K. Aubry, M. Mazel, F. Becher, F. Perriard, E. Chatelut, F. Thomas, Cetuximab pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in advanced head and neck carcinoma patients, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 85 (2019) 1357–1366, <https://doi.org/10.1111/bcp.13907>.

# Bibliografía



1. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN). Estimaciones de la incidencia del cáncer en España. 2021.
2. International Agency for Research on Cancer 2021. WHO. GLOBOCAN 2020 [Internet]. Global Cancer Observatory. 2021 [cited 2021 Feb 2]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
3. Gómez-España MA, Gallego J, González-Flores E, Maurel J, Páez D, Sastre J, et al. SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer (2018). *Clin Transl Oncol*. 2019;21(1):46–54.
4. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019;394:1467–80.
5. East JE, Atkin WS, Bateman AC, Clark SK, Dolwani S, Ket SN, et al. British Society of Gastroenterology position statement on serrated polyps in the colon and rectum. *Gut*. 2017;66:1181–96.
6. Xie YH, Chen YX, Fang JY. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1).
7. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, De Reyniès A, Schlicker A, Sonesson C, et al. The Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350–6.
8. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right versus left colon cancer biology: Integrating the consensus molecular subtypes. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2017;15(3):411–9.
9. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica Avastin 25 mg/ml concentrado para solución para perfusión [Internet]. Centro de información de medicamentos (CIMA). 2021 [cited 2021 May 23]. p. 1–76. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avastin-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avastin-epar-product-information_en.pdf)
10. European Medicines Agency. Ficha técnica Zaltrap 25mg/ml concentrado para solución para perfusión [Internet]. 2019 [cited 2019 Dec 9]. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/112814001/FT\\_112814001.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/112814001/FT_112814001.html)
11. EMA - European Medicines Agency. Ficha técnica Cyramza 10 mg/ml concentrado para solución para perfusión. 2019.
12. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica de Erbitux 5 mg/mL solución para perfusión [Internet]. Centro de información de medicamentos (CIMA). 2020 [cited 2021 May 23]. p. 1–35. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/erbitux-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/erbitux-epar-product-information_en.pdf)
13. EMA - European Medicines Agency. Ficha técnica Vectibix 20 mg/ml concentrado para solución para perfusión. 2019.
14. EMA - European Medicines Agency. Ficha técnica Stivarga 40 mg comprimidos recubiertos con película. 2019.
15. EMA - European Medicines Agency. Ficha técnica Lonsurf comprimidos recubiertos con película. 2019.
16. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica Keytruda 25 mg/mL Concentrado para solución para perfusión [Internet]. Centro de información de medicamentos (CIMA). 2020 [cited 2021 Jun 14]. p. 1–169. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151024002/FT\\_1151024002.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151024002/FT_1151024002.html)

17. Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, Fruth B, Greene C, O'Neil BH, et al. Impact of primary (1°) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol*. 2016;34(15\_suppl):3504–3504.
18. Arnold D, Lueza B, Douillard J, Peeters M, Lenz H, Venook A, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol*. 2017;28:1713–29.
19. Holch JW, Ricard I, Stintzing S, Modest DP, Heinemann V. The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of first-line clinical trials. *Eur J Cancer*. 2017;70:87–98.
20. Wang Z-X, Wu H-X, He M-M, Wang Y-N, Luo H-Y, Ding P-R, et al. Chemotherapy With or Without Anti-EGFR Agents in Left- and Right-Sided Metastatic Colorectal Cancer: An Updated Meta-Analysis. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2019;17(7):805–11.
21. Al B. Benson III et al. Colon Cancer, version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2019. p. 1–187.
22. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(8):1386–422.
23. Heinemann V, von Weikerstha L, Decker T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(10):1065–75.
24. Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz H-J, Innocenti F, Fruth B, Meyerhardt JA, et al. Effect of First-Line Chemotherapy Combined With Cetuximab or Bevacizumab on Overall Survival in Patients With KRAS Wild-Type Advanced or Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017;317(23):2392–401.
25. Iglesias Docampo LC, Arrazubi Arrula V, Baste Rotllan N, Carral Maseda A, Cirauqui Cirauqui B, Escobar Y, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2017). *Clin Transl Oncol*. 2018;20(1):75–83.
26. Chow LQM. Head and Neck Cancer. *N Engl J Med*. 2020;382(1):60–72.
27. Machiels JP, René Leemans C, Golusinski W, Grau C, Licitra L, Gregoire V. Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHNS–ESMO–ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020 Nov 1;31(11):1462–75.
28. Taberna M, Mena M, Pavón MA, Alemany L, Gillison ML, Mesía R. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. *Ann Oncol*. 2017 Oct 1;28(10):2386–98.
29. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature*. 2015;517(7536):576–82.
30. Ang KK, Berkey BA, Tu X, Zhang H-Z, Katz R, Hammond EH, et al. Impact of Epidermal Growth Factor Receptor Expression on Survival and Pattern of Relapse in Patients With Advanced Head and Neck Carcinoma. *Cancer Res*. 2002;62(24):7350–6.
31. Echarri MJ, Lopez-Martin A, Hitt R. Targeted Therapy in Locally Advanced and Recurrent/Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (LA-R/M HNSCC). *Cancers (Basel)*. 2016;8(3):27.

32. Taberna M, Oliva M, Mesía R. Cetuximab-containing combinations in locally advanced and recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Front Oncol.* 2019;9:383.
33. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2006;354(6):567–78.
34. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):21–8.
35. Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(10):633–59.
36. Ryman JT, Meibohm B. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2017;6(9):576–88.
37. Peter J. Delves, Seamus Martin, Dennis Burton IMR. *Roitt's Essential Immunology.* 2017. 578 p.
38. Katharina Kuester y Charlotte Kloft. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. In: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biotech drugs: principles and case studies in drug development.* 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 45–92.
39. Dostalek M, Gardner I, Gurbaxani BM, Rose RH, Chetty M. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and physiologically-based pharmacokinetic modelling of monoclonal antibodies. Vol. 52, *Clinical Pharmacokinetics.* 2013. 83–124 p.
40. Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Immunobiology.* Fifth edit. New York: Garland Publishing; 2001. 884 p.
41. Mould DR, Sweeney KRD. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies - Mechanistic modeling applied to drug development. *Curr Opin Drug Discov Dev.* 2007;10(1):84–96.
42. Andersen DC, Reilly DE. Production technologies for monoclonal antibodies and their fragments. *Curr Opin Biotechnol.* 2004;15(5):456–62.
43. Comunidades Europeas. Reglamento (CEE) núm. 2309/93 del Consejo, de 22 de julio de 1993, por el que se establecen procedimientos comunitarios para la autorización y supervisión de medicamentos de uso humano y veterinario y por el que se crea la Agencia Europea para la Evaluación [Internet]. BOE; 1993. p. 1–21. Available from: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1993-81381>
44. Mould DR, Meibohm B. Drug Development of Therapeutic Monoclonal Antibodies. *BioDrugs.* 2016;30(4):275–93.
45. Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharm Sci.* 2004;93(11):2645–68.
46. Imai K, Takaoka A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. Vol. 6, *Nature Reviews Cancer.* 2006. p. 714–27.
47. Keizer RJ, Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical Pharmacokinetics of Therapeutic Monoclonal Antibodies. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(8):493–507.

48. Ternant D, Azzopardi N, Raoul W, Bejan-Angoulvant T, Paintaud G. Influence of Antigen Mass on the Pharmacokinetics of Therapeutic Antibodies in Humans. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(2):169–87.
49. Mould DR. Why therapeutic drug monitoring is needed for monoclonal antibodies and how do we implement this? *Clin Pharmacol Ther*. 2016;99(4):351–4.
50. Gill KL, Machavaram KK, Rose RH, Chetty M. Potential Sources of Inter-Subject Variability in Monoclonal Antibody Pharmacokinetics. Vol. 55, *Clinical Pharmacokinetics*. Springer International Publishing; 2016. p. 789–805.
51. Ternant D, Paintaud G. Pharmacokinetics and concentration-effect relationships of therapeutic monoclonal antibodies and fusion proteins. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5(SUPPL. 1):S37–47.
52. Bai S, Jorga K, Xin Y, Jin D, Zheng Y, Damico-Beyer LA, et al. A guide to rational dosing of monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet*. 2012;51(2):119–35.
53. De Jonge ME, Huitema ADR, Schellens JHM, Rodenhuis S, Beijnen JH. Individualised cancer chemotherapy: Strategies and performance of prospective studies on therapeutic drug monitoring with dose adaptation: A review. Vol. 44, *Clinical Pharmacokinetics*. *Clin Pharmacokinet*; 2005. p. 147–73.
54. Meibohm B, Tang L. Pharmacokinetics of peptides and proteins. In: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 17–43.
55. Wang EW and JB. Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;84(5):548–58.
56. Baxter LT, Zhu H, Mackensen DG JR. Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Specific and Nonspecific Monoclonal Antibodies and Fragments in Normal Tissues and Human Tumor Xenografts in Nude Mice. *Cancer Res*. 1994;54(6):1517–28.
57. Antohe F, Rădulescu L, Gafencu A, Gheție V, Simionescu M. Expression of functionally active FcRn and the differentiated bidirectional transport of IgG in human placental endothelial cells. *Hum Immunol*. 2001;62(2):93–105.
58. Ward ES, Zhou J, Ghetie V, Ober RJ. Evidence to support the cellular mechanism involved in serum IgG homeostasis in humans. *Int Immunol*. 2003;15(2):187–95.
59. Kuang B, King L, Wang HF. Therapeutic monoclonal antibody concentration monitoring: Free or total? Vol. 2, *Bioanalysis*. 2010. p. 1125–40.
60. Mould DR, Green B. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies: Concepts and lessons for drug development. *BioDrugs*. 2010;24(1):23–39.
61. Imamura CK. Therapeutic drug monitoring of monoclonal antibodies: Applicability based on their pharmacokinetic properties. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2019;34(1):14–8.
62. Mager DE, Jusko and WJ. General pharmacokinetic model for drugs exhibiting target-mediated drug disposition. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001;28(6):507–32.
63. Martins JP, Kennedy PJ, Santos HA, Barrias C, Sarmiento B. A comprehensive review of the neonatal Fc receptor and its application in drug delivery. *Pharmacology and Therapeutics Elsevier Inc.*; 2016 p. 22–39.
64. Ghetie V, Ward ES. FcRn: the MHC class I-related receptor that is more than an IgG transporter. *Immunol Today*. 1997;18(12):592–8.

65. Kontermann RE. Strategies for extended serum half-life of protein therapeutics. *Curr Opin Biotechnol.* 2011;22(6):868–76.
66. Awwad S, Angkawinitwong U. Overview of Antibody Drug Delivery. *Pharmaceutics.* 2018;10(3):1–24.
67. Levy G. Pharmacologic target-mediated drug disposition. *Clin Pharmacol Ther.* 1994;56(3):248–52.
68. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: Approximations, identifiability of model parameters and applications to the population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of biologics. Vol. 5, *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology.* 2009. p. 803–12.
69. Mohammad Tabrizi and Lorin K. Roskos. Exposure–Response Relationships for Therapeutic Biologic Products. In: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biotech drugs: principles and case studies in drug development.* 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 295–327.
70. Tabrizi MA, Tseng CML, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today.* 2006;11(1–2):81–8.
71. Nolting A, Fox FE, Kovar A. Clinical drug development of cetuximab, a monoclonal antibody. In: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development.* 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 353–70.
72. Sigal LH. Basic science for the clinician 47[corrected]: Fcγ receptors. *J Clin Rheumatol.* 2007;13(6):355–8.
73. Roskos LK, Kellermann SA FK. Human antiglobulin responses. In: Lotze M, Thomson A, editors. *Measuring immunity: basic science and clinical practice.* San Diego: Elsevier Academic Press; 2005. p. 172–86.
74. Brummelen EMJ, Ros W, Wolbink G, Beijnen JH, Schellens JHM. Antidrug Antibody Formation in Oncology: Clinical Relevance and Challenges. *Oncologist.* 2016;21(10):1260–8.
75. Gibert MC, Zamora NP, Juncosa ES. Farmacocinética de los anticuerpos monoclonales. *El Farm Hosp.* 2019;(215):15–21.
76. Chirmule N, Jawa V, Meibohm B. Immunogenicity to therapeutic proteins: Impact on PK/PD and efficacy. *AAPS J.* 2012;14(2):296–302.
77. Schellekens H. The immunogenicity of therapeutic proteins. *Discov Med.* 2010;9(49):560–4.
78. Seitz K, Zhou H. Pharmacokinetic drug-drug interaction potentials for therapeutic monoclonal antibodies: reality check. *J Clin Pharmacol.* 2007 Sep;47(9):1104–18.
79. Oude Munnink TH, Henstra MJ, Segerink LI, Movig KLL, Brummelhuis-Visser P. Therapeutic drug monitoring of monoclonal antibodies in inflammatory and malignant disease: Translating TNF-α experience to oncology. *Clin Pharmacol Ther.* 2016;99(4):419–31.
80. Committee for medicinal products for human use (CHMP). ICH guideline S6 (R1)-preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals [Internet]. 2011. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s6r1-preclinical-safety-evaluation-biotechnology-derived-pharmaceuticals-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s6r1-preclinical-safety-evaluation-biotechnology-derived-pharmaceuticals-step-5_en.pdf)

81. Shi S. Biologics: An Update and Challenge of Their Pharmacokinetics. *Curr Drug Metab.* 2014;15(3):271–90.
82. Zhou H, Davis HM. Risk-based strategy for the assessment of pharmacokinetic drug-drug interactions for therapeutic monoclonal antibodies. Vol. 14, *Drug Discovery Today.* 2009. p. 891–8.
83. Mahmood I, Green MD. Drug interaction studies of therapeutic proteins or monoclonal antibodies. Vol. 47, *Journal of Clinical Pharmacology.* 2007. p. 1540–54.
84. Lee J. Bioanalytical Methods Used for Pharmacokinetic Evaluations of Biotech Macromolecule Drugs: Issues, Assay Approaches, and Limitations. In: Meibohm B, editor. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development.* 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. p. 147–80.
85. Ternant D, Cézé N, Lecomte T, Degenne D, Duveau AC, Watier H, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay to study bevacizumab pharmacokinetics. *Ther Drug Monit.* 2010 Oct;32(5):647–52.
86. Cézé N, Ternant D, Piller F, Degenne D, Azzopardi N, Dorval E, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of cetuximab. *Ther Drug Monit.* 2009 Oct;31(5):597–601.
87. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2012;1(1):1–14.
88. Dua P, Hawkins E, Van Der Graaf PH. A tutorial on target-mediated drug disposition (TMDD) models. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2015;4(6):324–37.
89. Gill KL, Gardner I, Li L, Jamei M. A Bottom-Up Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic Model to Mechanistically Predict Tissue Distribution and the Rate of Subcutaneous Absorption of Therapeutic Proteins. *AAPS J.* 2016;18(1):156–70.
90. Wong H, Chow TW. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Therapeutic Proteins. *J Pharm Sci.* 2017;106(9):2270–5.
91. Shah DK, Betts AM. Towards a platform PBPK model to characterize the plasma and tissue disposition of monoclonal antibodies in preclinical species and human. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2012;39(1):67–86.
92. Guyton A, Hall J. Compartimientos del líquido corporal: líquidos extracelular e intracelular; edema. In: Elsevier, editor. *Tratado De Fisiología Médica.* 13th ed. 2016. p. 285–301.
93. Lu JF, Bruno R, Eppler S, Novotny W, Lum B, Gaudreault J. Clinical pharmacokinetics of bevacizumab in patients with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008 Oct;62(5):779–86.
94. Liu L. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins. Vol. 9, *Protein and Cell.* Higher Education Press; 2018. p. 15–32.
95. Bauer RJ. NONMEM Tutorial Part I: Description of Commands and Options, With Simple Examples of Population Analysis. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2019;8(8):525–37.
96. Bauer RJ. NONMEM Tutorial Part II: Estimation Methods and Advanced Examples. *Cit CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2019;8:538–56.
97. Bruno R, Washington CB, Lu JF, Lieberman G, Banken L, Klein P. Population pharmacokinetics of trastuzumab in patients with HER2+ metastatic breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005;56(4):361–9.

98. Caulet M, Lecomte T, Bouché O, Rollin J, Gouilleux-Gruart V, Azzopardi N, et al. Bevacizumab Pharmacokinetics Influence Overall and Progression-Free Survival in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *Clin Pharmacokinet*. 2016 Nov 1;55(11):1381–94.
99. Yanai H, Lichtenstein L, Assa A, Mazor Y, Weiss B, Levine A, et al. Levels of drug and antidrug antibodies are associated with outcome of interventions after loss of response to infliximab or adalimumab. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(3):522-530.e2.
100. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Exposure-Response Relationships - Study Design, Data Analysis and Regulatory Applications. FDA Guid. 2003;(April):1–25.
101. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. Vol. 176, *Cell*. Cell Press; 2019. p. 1248–64.
102. Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocr Rev*. 2004;25(4):581–611.
103. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(5):391–400.
104. Panoilia E, Schindler E, Samantas E, Aravantinos G, Kalofonos HP, Christodoulou C, et al. A pharmacokinetic binding model for bevacizumab and VEGF165 in colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;75(4):791–803.
105. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. 2005;9(4):777–94.
106. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Vol. 9, *Nature Medicine*. *Nat Med*; 2003. p. 669–76.
107. Kerbel RS. Tumor angiogenesis. Vol. 358, *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society; 2008. p. 2039–49.
108. De Vita F, Orditura M, Lieto E, Infusino S, Morgillo F, Martinelli E, et al. Elevated perioperative serum vascular endothelial growth factor levels in patients with colon carcinoma. *Cancer*. 2004 Jan 15;100(2):270–8.
109. Kemik O, Sarbay Kemik A, Sümer A, Purisa S, Dulger AC, Begenik H, et al. Preoperative Vascular endothelial Growth Factor Levels as a prognostic Marker for stage II or III colorectal cancer patients. *Cancer Growth Metastasis*. 2011;4:25–32.
110. Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency. Avastin EPAR-Scientific Discussion. Initial marketing-authorisation documents [Internet]. 2006 [cited 2020 Jan 25]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/avastin-epar-scientific-discussion\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/avastin-epar-scientific-discussion_en.pdf)
111. Li J, Gupta M, Jin D, Xin Y, Visich J, Allison DE. Characterization of the long-term pharmacokinetics of bevacizumab following last dose in patients with resected stage II and III carcinoma of the colon. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013 Mar;71(3):575–80.
112. Han K, Peyret T, Marchand M, Quartino A, Gosselin NH, Girish S, et al. Population pharmacokinetics of bevacizumab in cancer patients with external validation. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016 Aug 1;78(2):341–51.
113. Han K, Jin J, Maia M, Lowe J, Sersch MA, Allison DE. Lower exposure and faster clearance of bevacizumab in gastric cancer and the impact of patient variables: Analysis of individual data from AVAGAST phase III trial. *AAPS J*. 2014;16(5):1056–63.

## Bibliografia

114. Gaudreault J, Shiu V, Bricarello A, Christian BJ, Zuch CL, Mounho B. Concomitant Administration of Bevacizumab, Irinotecan, 5-Fluorouracil, and Leucovorin: Nonclinical Safety and Pharmacokinetics. *Int J Toxicol*. 2005;24:357–63.
115. Xu L, Zuch CL, Lin YS, Modi NB, Lum BL. Pharmacokinetics and safety of bevacizumab administered in combination with cisplatin and paclitaxel in cynomolgus monkeys. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008 Apr;61(4):607–14.
116. Pastuskovas C V., Mundo EE, Williams SP, Nayak TK, Ho J, Ulufatu S, et al. Effects of anti-VEGF on pharmacokinetics, biodistribution, and tumor penetration of trastuzumab in a preclinical breast cancer model. *Mol Cancer Ther*. 2012 Mar;11(3):752–62.
117. Herbst RS, Johnson DH, Mininberg E, Carbone DP, Henderson T, Kim ES, et al. Phase I/II trial evaluating the anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody bevacizumab in combination with the HER-1/epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib for patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(11):2544–55.
118. Mahmood I. Approval package for Avastin. Clinical Pharmacology/TOX Review. FDA [Internet]. 2004. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2004/STN-125085\\_Avastin\\_Pharmr.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/STN-125085_Avastin_Pharmr.pdf)
119. Akbulut H, Ocal M, Sonugur FG, Abdi Abgarmi S, Babahan C, Akay B, et al. The trough levels of bevacizumab significantly affect the outcome of the treatment in patients with metastatic colorectal cancer: A Turkish Oncology Group study. In: 2018 ASCO Annual Meeting I. *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology (ASCO); 2018. p. e15553–e15553.
120. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: The complexity of targeted inhibitors. Vol. 5, *Nature Reviews Cancer*. 2005. p. 341–54.
121. Marshall J. Clinical implications of the mechanism of epidermal growth factor receptor inhibitors. *Cancer*. 2006;107(6):1207–18.
122. Wilken JA, Perez-Torres M, Nieves-Alicea R, Cora EM, Christensen TA, Baron AT, et al. Shedding of soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR) is mediated by a metalloprotease/fibronectin/integrin axis and inhibited by cetuximab. *Biochemistry*. 2013 Jul 2;52(26):4531–40.
123. Humblet Y. Cetuximab: An IgG1 monoclonal antibody for the treatment of epidermal growth factor receptor-expressing tumours. *Expert Opin Pharmacother*. 2004;5(7):1621–33.
124. Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. Vol. 21, *Journal of Clinical Oncology*. 2003. p. 2787–99.
125. Hadari Y, Doody J, Wang Y, Al. E. The IgG1 monoclonal antibody cetuximab induces degradation of the epidermal growth factor receptor. In: Annual meeting of the American Society for Clinical Oncology. 2004. p. 234.
126. Martinelli E, De Palma R, Orditura M, De Vita F, Ciardiello F. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer therapy. *Clin Exp Immunol*. 2009 Oct;158(1):1–9.
127. Patel D, Guo X, Ng S, Melchior M, Balderes P, Burtrum D, et al. IgG isotype, glycosylation, and EGFR expression determine the induction of antibody-dependent cellular cytotoxicity in vitro by cetuximab. *Hum Antibodies*. 2010;19(4):89–99.

128. Baselga J, Pfister D, Cooper MR, Cohen R, Burtness B, Bos M, et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin. *J Clin Oncol.* 2000;18(4):904–14.
129. Tabernero J, Ciardiello F, Rivera F, Rodriguez-Braun E, Ramos FJ, Martinelli E, et al. Cetuximab administered once every second week to patients with metastatic colorectal cancer: A two-part pharmacokinetic/pharmacodynamic phase I dose-escalation study. *Ann Oncol.* 2009;21(7):1537–45.
130. Parikh A, Gugel EG, Smolyakova N, Jen M-H, Toms N, Lin Y, et al. A meta-analysis of efficacy and safety of cetuximab with biweekly vs. weekly dosing. *Ann Oncol* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 Jan 13];31(S4):S435. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.564>
131. Fracasso PM, Burris H, Arquette MA, Govindan R, Gao F, Wright LP, et al. A phase 1 escalating single-dose and weekly fixed-dose study of cetuximab: Pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for dosing. *Clin Cancer Res.* 2007;13(3):986–93.
132. Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, Meredith RF, Bonner JA, Khzaeli MB, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 2001 Jul 1;19(13):3234–43.
133. Tan AR, Moore DF, Hidalgo M, Doroshow JH, Poplin EA, Goodin S, et al. Pharmacokinetics of cetuximab after administration of escalating single dosing and weekly fixed dosing in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2006;12(21):6517–22.
134. Dirks NL, Nolting A, Kovar A, Meibohm B. Population pharmacokinetics of cetuximab in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pharmacol.* 2008;48(3):267–78.
135. Jiang DM, Sim H-W, Siu LL, Shapiro JD, Liu G, Price TJ, et al. Cetuximab (Cet) clearance and survival in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol.* 2017 Feb 1;35(4\_suppl):699–699.
136. Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency. Erbitux EPAR-Scientific Discussion. Initial marketing-authorisation documents [Internet]. 2006 [cited 2020 Jun 17]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/erbitux-epar-scientific-discussion\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/erbitux-epar-scientific-discussion_en.pdf)
137. Zhao H. Approval package for Erbitux. *Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review.* FDA [Internet]. 2004. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/bla/2004/125084\\_ERBITUX\\_BIOPHA\\_RMR.PDF](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/bla/2004/125084_ERBITUX_BIOPHA_RMR.PDF)
138. Delbaldo C, Pierga JY, Dieras V, Faivre S, Laurence V, Vedovato JC, et al. Pharmacokinetic profile of cetuximab (Erbitux™) alone and in combination with irinotecan in patients with advanced EGFR-positive adenocarcinoma. *Eur J Cancer.* 2005 Aug;41(12):1739–45.
139. Ettlinger DE, Mitterhauser M, Wadsak W, Ostermann E, Farkouh A, Schueller J, et al. In vivo disposition of irinotecan (CPT-11) and its metabolites in combination with the monoclonal antibody cetuximab. *Anticancer Res.* 2006;26:1337–42.
140. Rachar V, Czejka M, Kitzmueller M, Buchner P, Lichtneckert M, Greil R, et al. Assessment of pharmacokinetic interaction between capecitabine and cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Anticancer Res.* 2016;36(9):4715–23.

141. Pointreau Y, Azzopardi N, Ternant D, Calais G, Paintaud G. Cetuximab Pharmacokinetics Influences Overall Survival in Patients with Head and Neck Cancer. *Ther Drug Monit.* 2016;38(5):567–72.
142. Lenz HJ, Van Cutsem E, Khambata-Ford S, Mayer RJ, Gold P, Stella P, et al. Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J Clin Oncol.* 2006 Oct 20;24(30):4914–21.
143. Knezevic CE, Clarke W. Cancer Chemotherapy: The Case for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit.* 2020;42(1):6–19.
144. Darwich AS, Ogungbenro K, Hatley OJ, Rostami-Hodjegan A. Role of pharmacokinetic modeling and simulation in precision dosing of anticancer drugs. *Transl Cancer Res.* 2017;6(S10):S1512–29.
145. Felici A, Verweij J, Sparreboom A. Dosing strategies for anticancer drugs: The good, the bad and body-surface area. *Eur J Cancer.* 2002;38(13):1677–84.
146. Gao B, Yeap S, Clements A, Balakrishnar B, Wong M, Gurney H. Evidence for therapeutic drug monitoring of targeted anticancer therapies. *J Clin Oncol.* 2012;30(32):4017–25.
147. Beumer JH. Without therapeutic drug monitoring, there is no personalized cancer care. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93(3):228–30.
148. Beumer JH, Chu E, Allegra C, Tanigawara Y, Milano G, Diasio R, et al. Therapeutic Drug Monitoring in Oncology: International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Recommendations for 5-Fluorouracil Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2019;105(3):598–613.
149. Mathijssen RHJ, de Jong FA, Loos WJ, van der Bol JM, Verweij J, Sparreboom A. Flat-Fixed Dosing Versus Body Surface Area Based Dosing of Anticancer Drugs in Adults: Does It Make a Difference? *Oncologist.* 2007;12(8):913–23.
150. Saleem M, Dimeski G, Kirkpatrick CM, Taylor PJ, Martin JH. Target concentration intervention in oncology: Where are we at? *Ther Drug Monit.* 2012 Jun;34(3):257–65.
151. Bardin C, Veal G, Paci A, Chatelut E, Astier A, Levêque D, et al. Therapeutic drug monitoring in cancer-Are we missing a trick? *Eur J Cancer.* 2014;50:2005–9.
152. McLeay SC, Morrish GA, Kirkpatrick CMJ, Green B. The relationship between drug clearance and body size: Systematic review and meta-analysis of the literature published from 2000 to 2007. Vol. 51, *Clinical Pharmacokinetics.* 2012. p. 319–30.
153. Widmer N, Bardin C, Chatelut E, Paci A, Beijnen J, Levêque D, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part two - Targeted therapies. *Eur J Cancer.* 2014;50(12):2020–36.
154. Zhang S, Shi R, Li C, Parivar K, Wang DD. Fixed dosing versus body size-based dosing of therapeutic peptides and proteins in adults. *J Clin Pharmacol.* 2012 Jan;52(1):18–28.
155. Wang DD, Shuzhong Zhang, Hong Zhao, Men AY, Parivar K. Fixed dosing versus body size-based dosing of monoclonal antibodies in adult clinical trials. *J Clin Pharmacol.* 2009;49(9):1012–24.
156. Ferrer F, Fanciullino R, Milano G, Ciccolini J. Towards Rational Cancer Therapeutics: Optimizing Dosing, Delivery, Scheduling, and Combinations. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;108(3):458–70.

157. Glassman PM, Balthasar JP. Mechanistic considerations for the use of monoclonal antibodies for cancer therapy. *Cancer Biol Med*. 2014;11(1):20–33.
158. Azzopardi N, Lecomte T, Ternant D, Boisdron-Celle M, Piller F, Morel A, et al. Cetuximab pharmacokinetics influences progression-free survival of metastatic colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2011;17(19):6329–37.
159. Le Louedec F, Alix-Panabières C, Lafont T, Allal BC, Garrel R, Digue L, et al. Cetuximab pharmacokinetic/pharmacodynamics relationships in advanced head and neck carcinoma patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2019;85(6):1357–66.
160. Van Cutsem E, Tejpar S, Vanbeckevoort D, Peeters M, Humblet Y, Gelderblom H, et al. Inpatient cetuximab dose escalation in metastatic colorectal cancer according to the grade of early skin reactions: The randomized EVEREST study. *J Clin Oncol*. 2012;30(23):2861–8.
161. Becher F, Ciccolini J, Imbs D-C, Marin C, Fournel C, Dupuis C, et al. A simple and rapid LC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of cetuximab: a GPCO-UNICANCER proof of concept study in head-and-neck cancer patients OPEN. *Sci Rep*. 2017;7(2714):1–11.
162. Nogue G, Bidart M, Arlotto M, Mousseau M, Berger F, Pelletier L. Monitoring Monoclonal Antibody Delivery in Oncology: The Example of Bevacizumab. *PLoS One*. 2013;8(8).
163. Papachristos A, Kemos P, Kalofonos H, Sivolapenko G. Correlation Between Bevacizumab Exposure and Survival in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist*. 2020;25(10):853–8.
164. Strik AS, Wang Y-MC, Ruff LE, Yashar W, Messmer BT, Mould DR. Individualized Dosing of Therapeutic Monoclonal Antibodies-a Changing Treatment Paradigm? *AAPS J*. 2018;20(99):1–10.
165. Castele N Vande, Herfarth H, Katz J, Falck-Ytter Y, Singh S. American Gastroenterological Association Institute Technical Review on the Role of Therapeutic Drug Monitoring in the Management of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2017;153:835–57.
166. Menting SP, Coussens E, Pouw MF, Van Den Reek JMPA, Temmerman L, Boonen H, et al. Developing a therapeutic range of adalimumab serum concentrations in management of psoriasis a step toward personalized treatment. *JAMA Dermatology*. 2015;151(6):616–22.
167. Chen DY, Chen YM, Tsai WC, Tseng JC, Chen YH, Hsieh CW, et al. Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(3):1–9.
168. Pouw MF, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Van Der Kleij D, Aarden L, Rispen T, et al. Key findings towards optimising adalimumab treatment: The concentration-effect curve. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(3):513–8.
169. Vande Castele N, Ferrante M, Van Assche G, Ballet V, Compennolle G, Van Steen K, et al. Trough Concentrations of Infliximab Guide Dosing for Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2015;148:1320–9.
170. Oken MM, Creech RH, Tormey D. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol Cancer Clin Trials*. 1982;5(6):649–55.

171. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2017;67(2):93–9. Available from: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21388>
172. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373–83.
173. Librero J, Cuenca C, Peiró S. Comorbilidad e índice de Charlson. 2002nd ed. Escola Valenciana d'Etudis per a la Salut, editor. Valencia; 2002. 1–41 p.
174. Deyo RA, Cherkin DC, Ciol MA. Adapting a clinical comorbidity index for use with ICD-9-CM administrative databases. *J Clin Epidemiol*. 1992;45(6):613–9.
175. Edición electrónica de la CIE-9-MC. Clasificación internacional de enfermedades. 9ª revisión, modificación clínica [Internet]. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. 2014 [cited 2020 May 23]. Available from: [https://eciemaps.mscbs.gob.es/ecieMaps/browser/index\\_9\\_mc.html](https://eciemaps.mscbs.gob.es/ecieMaps/browser/index_9_mc.html)
176. Schwartz LH, Litière S, De Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, et al. RECIST 1.1-Update and Clarification: From the RECIST Committee. *Eur J Cancer*. 2016;62:132–7.
177. Cervera Deval J. RECIST y el radiólogo. *Radiología*. 2014;56(3):193–205.
178. Hanley J, Negassa A, Edwardes M, Forrester J. Statistical Analysis of Correlated Data Using Generalized Estimating Equations: An Orientation. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2003 Feb 15 [cited 2021 Mar 1];157(4):364–75. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/aje/kwf215>
179. Clark TG, Bradburn MJ, Love SB, Altman DG. Survival Analysis Part I: Basic concepts and first analyses. *Br J Cancer* [Internet]. 2003 Jul 21 [cited 2021 Mar 1];89(2):232–8. Available from: [/pmc/articles/PMC2394262/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16120222/)
180. Grothey A, Flick ED, Cohn AL, Bekaii-Saab TS, Bendell JC, Kozloff M, et al. Bevacizumab exposure beyond first disease progression in patients with metastatic colorectal cancer: Analyses of the ARIES observational cohort study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2014;23(7):726–34.
181. Grothey A, Sugrue MM, Purdie DM, Dong W, Sargent D, Hedrick E, et al. Bevacizumab beyond first progression is associated with prolonged overall survival in metastatic colorectal cancer: Results from a large observational cohort study (BRiTE). *J Clin Oncol*. 2008 Nov 20;26(33):5326–34.
182. Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E, et al. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): A randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013 Jan;14(1):29–37.
183. Riechelmann R, Grothey A. Antiangiogenic therapy for refractory colorectal cancer: current options and future strategies. *Ther Adv Med Oncol*. 2017;9(2):106–26.
184. Molina Arias M, Ochoa Sangrador C. Pruebas diagnósticas con resultados continuos o politómicos. Curvas ROC. *Evid Pediatr*. 2017;13(12):1–4.
185. Burgueño MJ, García-Bastos JL, González-Buitrago JM. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Med Clin*. 1995;104:661–70.

186. Papachristos A, Karatza E, Kalofonos H, Sivolapenko G. Personalizing treatment in colorectal cancer by monitoring bevacizumab blood levels and ICAM-1 polymorphisms. *Ann Oncol* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 Jan 12];31(S4):S290–1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.245>
187. Le Louedec F, Chatelut E. Correlation Between Bevacizumab Exposure and Survival Does Not Necessarily Imply Causality. Vol. 25, *Oncologist*. Wiley-Blackwell; 2020. p. e2022.
188. Zhi J, Chen E, Major P, Burns I, Robinson B, McKendrick J, et al. A multicenter, randomized, open-label study to assess the steady-state pharmacokinetics of bevacizumab given with either XELOX or FOLFOX-4 in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011;68(5):1199–206.
189. Romera A, Peredpaya S, Shparyk Y, Bondarenko I, Mendonça Bariani G, Abdalla KC, et al. Bevacizumab biosimilar BEVZ92 versus reference bevacizumab in combination with FOLFOX or FOLFIRI as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(12):845–55.
190. Gupta D, Lis CG. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: A systematic review of the epidemiological literature. *Nutr J* [Internet]. 2010 [cited 2021 Mar 21];9(69):1–16. Available from: <http://www.nutritionj.com/content/9/1/69>
191. Kubo A, Hashimoto H, Takahashi N, Yamada Y. Biomarkers of skin toxicity induced by anti-epidermal growth factor receptor antibody treatment in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2016;22(2):887–94.
192. Li T, Perez-Soler R. Skin toxicities associated with epidermal growth factor receptor inhibitors [Internet]. Vol. 4, *Targeted Oncology*. Target Oncol; 2009 [cited 2021 Apr 1]. p. 107–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19452131/>
193. Ou F, Anderson D, Ahn D, Boland P, Ciombor K, Jacobs N, et al. A two arm phase II study of FOLFIRI in combination with standard or escalating dose of cetuximab as first line treatment for metastatic colorectal cancer: Everest 2 final results. In: *ESMO 20th World Congress on Gastrointestinal Cancer 20–23 June 2018, Barcelona, Spain*. 2018. p. v105.
194. Shibata K, Naito T, Okamura J, Hosokawa S, Mineta H, Kawakami J. Simple and rapid LC-MS/MS method for the absolute determination of cetuximab in human serum using an immobilized trypsin. *J Pharm Biomed Anal*. 2017;146:266–72.
195. González-García J, Gutiérrez-Nicolás F, Nazco-Casariago GJ, Viña-Romero MM. Estabilidad a largo plazo del trastuzumab en plasma y suero almacenados bajo diferentes condiciones. *Farm Hosp*. 2019;43(2):50–2.
196. Hendriks JJMA, Haanen JBAG, Voest EE, Schellens JHM, Huitema ADR, Beijnen JH. Fixed Dosing of Monoclonal Antibodies in Oncology. *Oncologist*. 2017;22(10):1212–21.