

PROCTOKINASA® , NUEVO MEDICAMENTO PARA EL TRATAMIENTO DE LAS HEMORROIDES AGUDAS

Autores principales: Ana Aguilera Barreto, Eduardo Martínez Díaz, Yilian Bermúdez Álvarez, Karelía Cosme Díaz, Francisco Hernández Bernal, Luciano Hernández Marrero, Carmen Valenzuela Silva, Georgina Castellanos Sierra, Pedro López Saura y Luis Herrera Martínez

Otros autores: Lazara Muñoz Hernández, José Enrique Brito León, María A. Marrero Miragaya, Dinorah Torres Idaody, Rolando Páez Meireles, Beatriz Tamargo Santos, Dania Bacardí Fernández, José Suárez Alba, Marisol Cruz Díaz, Dora García Delgado, Kosara Sánchez Álvarez, Norelbys Albelo Rondón, Lourdes Hernández Pérez, Maribel Vega Simón, Oscar García Pulpeiro, Karem M. Catusus Álvarez, Roberto Causa García, Juan E. Domínguez Suarez, Roberto Fernández González, Livan Quintero Tabío, Nubia González de Armas, Isabel Apeztequia Rodríguez, Raimundo Ubieta Gómez, Sonia González Blanco, Boris Acevedo Castro, Emilio Narciandi Díaz, Jorge Luis Vega Elías, Rafael F. Sánchez Betancourt

Colaboradores: 180

Entidad Ejecutora Principal: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB)

Otra entidad participante: Hospital "Juan Bruno Zayas" de Santiago de Cuba

Autor para la correspondencia: Ana Aguilera Barreto

Dirección postal: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Avenida 31 entre 158 y 190, Cubanacán, Playa PO Box 6162, Habana 10600, Cuba
Teléf. (53-7) 2504453. Fax. (53-7) 2713208, 2718675
Correo electrónico: ana.aguilera@cigb.edu.cu

Aportes de los autores principales

Ana Aguilera Barreto (15%), Eduardo Martínez Díaz (10%), Yilian Bermúdez Álvarez (6%), Karelía Cosme Díaz (6%), Francisco Hernández Bernal (6%), Luciano Hernández Marrero (5%), Carmen Valenzuela Silva (5%), Georgina Castellanos Sierra (5%), Pedro López Saura (5%), Luis Herrera Martínez (5%)

Aporte de los co-autores

Lazara Muñoz Hernández (3%), José Enrique Brito León (2%), María A. Marrero Miragaya (2%), el resto de los co-autores tuvieron una participación del 1%.

RESUMEN

Las hemorroides son dilataciones de los plexos venosos de la mucosa del recto o del ano y constituye un problema de salud mundial de alta incidencia. Para su tratamiento existen formulaciones de aplicación local que centran su principal acción en la disminución de la inflamación y el dolor, pero ninguna elimina los trombos y microtrombos presentes en la lesión por lo que se hace necesario recurrir al tratamiento quirúrgico. Teniendo en cuenta el efecto trombolítico de la Estreptoquinasa recombinante (SKr) y las características de dicha enfermedad el objetivo de este trabajo fue desarrollar una formulación en forma de supositorio, eficaz y segura, para el tratamiento de las hemorroides agudas.

Para cumplimentar los objetivos se realizó un estudio de pre-formulación donde se evaluó la influencia de un grupo de excipientes sobre la actividad biológica y la estabilización de la SKr. A partir de este estudio se logró una formulación final candidata para realizar estudios de estabilidad, pre-clínicos y clínicos.

Los resultados del estudio de estabilidad del supositorio de SKr mostraron que es estable durante 24 meses en condiciones de almacenamiento entre $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. El efecto del producto se evaluó en un modelo animal de trombosis hemorroidal, donde hubo evidencias de efecto, al comparar la formulación con el placebo y un grupo no tratado. Los estudios toxicológicos realizados demostraron que el producto es seguro para ser usado en humanos.

La evaluación clínica incluyó 4 ensayos clínicos (ejecutados entre 2006 y 2012 en 18 unidades de Coloproctología de 12 provincias), uno exploratorio (de seguridad) y tres (fases II y III) aleatorizados, controlados con placebo (doble ciegas) o con productos comerciales de amplio uso (Preparación H® y Anusol-HC®). Los protocolos siguieron la Declaración de Helsinki y se aprobó por los comités de ética de cada hospital participante, así como por la Agencia Nacional Reguladora de Medicamentos (CECMED). Un total de 820 pacientes dieron su consentimiento y fueron incluidos en estos 4 estudios, donde se demostró la eficacia de la Proctokinasa® en el tratamiento de las hemorroides agudas, con respuesta al 5to día en el orden del 75 al 90% y diferencias estadísticamente significativas (según intervalos de confianza) con respecto a los restantes grupos. La velocidad de respuesta fue significativamente superior en los grupos de Proctokinasa® (mediana: 3-5 días) con respecto al resto de los grupos (mediana: 10-11 días). No se observaron eventos adversos atribuibles al tratamiento experimental y no se detectaron incrementos de los títulos de anticuerpos anti-SK en los tiempos evaluados ni alteraciones de la hemostasia.

A partir de los resultados obtenidos se logró el registro sanitario de este nuevo producto Bio-farmacéutico (agosto 2012). Cuenta con una patente internacional, cinco publicaciones científicas, 4 premios (Dr. José Cremata, Anual de Salud, Daher Cutait y Relevante del Fórum Municipal de Ciencia y Técnica)

presentaciones en eventos científicos, 4 tesis de maestría y logros científico-técnicos a nivel institucional.

Este medicamento, además de resolver un problema de salud en Cuba, tiene la potencialidad de lograr grandes ventas, lo cual lo convertiría en un importante renglón exportable de nuestra economía.

Los resultados permiten concluir que la formulación desarrollada es estable, segura y eficaz para el tratamiento de las hemorroides agudas. Se trata de una nueva alternativa terapéutica para una condición patológica muy frecuente, donde no existen antecedentes de uso de un agente trombolítico para este propósito.

COMUNICACIÓN CORTA

Diseño Metodológico

Desarrollo Farmacéutico: Para el desarrollo de la formulación se emplearon diferentes excipientes como agentes tensoactivos, promotores de la absorción y preservos con el objetivo de lograr la estabilización de la molécula y lograr su biocompatibilidad en el sitio de acción. La formulación final seleccionada fue evaluada en estudios de estabilidad acelerados y en tiempo real y se definieron todos los atributos de calidad a partir de los cuales se controla para la liberación de cada lote que se fabrica.

Estudios pre-clínicos: Para evaluar la seguridad de la nueva formulación se realizaron estudios de toxicidad aguda, tolerancia local a dosis repetida en ratas Sprague-Dawley. La efectividad de la formulación se evaluó en un biomodelo desarrollado en conejos New Zeland.

Estudios clínicos: Finalmente se realizó la evaluación clínica de este nuevo medicamento. Se realizaron cuatro ensayos clínicos, uno exploratorio (de seguridad – efecto) y tres (fase II y III) aleatorizados, multicéntricos, controlados con placebo (doble ciegos) o con productos de amplio uso. Los protocolos siguieron la Declaración de Helsinki y se aprobó por los comités de ética de cada hospital participante, así como por la Agencia Nacional Reguladora de Medicamentos (CECMED). Un total de 820 pacientes fueron incluidos en estos 4 estudios (ejecutados entre 2006 y 2012 en 18 unidades de Coloproctología de 12 provincias cubanas).

Escalado e introducción en el sistema productivo: Se realizó el escalado de la producción del supositorio en una planta de la empresa Saokim Pharma, de Vietnam. Se produjeron 5 lotes consecutivos para demostrar la consistencia del proceso de formulación del supositorio.

Resultados y Discusión: En este estudio se seleccionaron los excipientes adecuados y se estudió su influencia sobre la estabilidad de la molécula activa, logrando una formulación final con la siguiente composición: Ingrediente

Farmacéutico Activo de SKr200 000 UI, Tiomersal 20 µg, Span-60 0,020 g, Salicilato de Sodio 0,010 g, Grasa Dura csp. La formulación obtenida se evaluó en estudios de estabilidad en condiciones de estante. Según los resultados, el producto permaneció estable durante 24 meses almacenado en condiciones reales de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ de temperatura ¹.

Luego se realizaron estudios preclínicos para evaluar su perfil toxicológico. En el estudio de toxicidad aguda se emplearon conejos albinos hembras que fueron tratados con dosis elevadas las cuales incluyeron 14, 25 y 75 veces la dosis terapéutica propuesta para humanos aplicadas 3 veces al día. Se tomaron muestras de sangre al concluir la administración a los 30, 45, 60, 180 y 240 minutos luego de ser administrado el supositorio por vía rectal. No se detectaron anticuerpos anti SKr en la circulación periférica en los tiempos antes mencionados. No se detectó SKr en suero cuantificado por ELISA, no se presentó mortalidad. El estudio histopatológico demostró la ausencia de efectos adversos y/o tóxicos. El estudio para determinar el potencial irritante arrojó igualmente resultados positivos a favor de la seguridad de la formulación, tras administrar reiteradamente durante 5 días supositorios de 200 000 UI. El estudio farmacológico a partir en un modelo experimental de trombosis hemorroidal en conejos demostró la efectividad del producto teniendo en cuenta los aspectos clínicos evaluados, al permitir una rápida reversión (3 horas) de la lesión en el modelo experimental ensayado ².

Posteriormente se realizó un ensayo clínico **fase I**, exploratorio, abierto, multicéntrico y no controlado. Se administraron 4 supositorios de 200 000 IU de SKr distribuidos cada 6 horas. Se incluyeron 10 pacientes con diagnóstico de enfermedad hemorroidal aguda. En términos de seguridad, el supositorio de SKr resultó seguro y tolerable ³.

Se realizó un ensayo clínico **fase II**, multicéntrico, aleatorizado, a doble ciego y controlado con placebo. Se incluyeron 80 pacientes y fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos: I) Placebo, II) Salicilato de Sodio, III) SK 100 000 UI y IV) SK 200 000 UI supositorio, a los que se les administró el producto en estudio por vía rectal en forma de supositorio cada 6 horas hasta completar 4 administraciones. La velocidad de curación fue significativamente superior en el grupo IV (SK-200 000 UI) con respecto al resto de los grupos ⁴.

Luego se realizó un ensayo clínico **fase III**, abierto, multicéntrico, con un control positivo y aleatorización centralizada. Se incluyeron 220 pacientes, distribuidos en 2 grupos de tratamiento: I) Supositorio de SK 200 000 UI administrado cada 6 horas durante 48 horas y II) Supositorio de Preparación H[®], por vía rectal en forma de supositorio y hasta un máximo de 5 días (20 supositorios). La eficacia (Respuesta Total) del supositorio de SK 200 000 UI fue superior al 70% y se detectó superioridad significativa con respecto al grupo control. Fue mínimo el número de pacientes tratados con Proctokina[®] que tributó a tromboectomía⁵ (Tabla 1).

Tabla 1: Evaluación de la respuesta en el grupo tratado con SK con respecto a los que recibieron Preparación H®.			
	Proctokinasas®	Preparación H®	p
N	110	110	
Respuesta al 3 ^{er} día	41 (37.3%)	7 (6.4%)	<0.001
Respuesta al 5 ^{to} día (%; IC 95%)	83 (75.5%; 67.4 – 83.5)	36 (32.7%; 24.0 – 41.5)	<0.001
Diferencia (IC 95%)	42.7 (30.5; 54.2)		
Respuesta al 10 ^{mo} día	92 (83.6%)	64 (58.2%)	<0.001
Días hasta la respuesta: mediana (IC 95%)	5 (4.8 – 5)	10 (9.8 – 10)	0.031
<i>Análisis de subgrupos: Respuesta completa al 5^{to} día</i>			
Tipo de evento agudo			
Sin trombosis	38/51 (74.5%)	15/53 (28.3%)	<0.0001
Con trombosis	45/59 (76.3%)	21/57 (36.8%)	<0.0001
Trombectomía	1/59 (1.7%)	8/57 (14.0%)	0.016
Clasificación de las hemorroides			
Externa	54/73 (74.0%)	22/73 (30.1%)	<0.0001
Interna + mixta	29/37 (78.4%)	14/37 (37.8%)	<0.0001
Grado de prolapso	I or II 11/13 (85%)	4/7 (57%)	0.29
	I or IV 18/24 (75%)	10/30 (33%)	0.002

Posteriormente se realizó un ensayo clínico **fase III**, abierto, multicéntrico nacional, con un control positivo y aleatorización centralizada. Se incluyeron 510 pacientes, que fueron distribuidos en 3 grupos de tratamiento: Proctokinasas® – SK 200 000 UI y Anusol-HC®. Los productos se administraron por vía rectal en forma de supositorios: a) Proctokinasas® (esquema A) – 1 supositorio cada 8 horas (primeras 3 unidades) y después cada 12 horas hasta completar 8 administraciones; b) Proctokinasas® (esquema B) – 1 supositorio cada 8 horas hasta completar 6 unidades; c) Anusol-HC® -1 supositorio cada 8 horas hasta un máximo de 24 administraciones.

Se demostró la eficacia del supositorio de Proctokinasas® en el tratamiento de las hemorroides agudas. La velocidad de curación fue significativamente superior en los grupos tratados con Proctokinasas®, con una mediana estimada en los 3 días (10 días para el grupo tratado con Anusol-HC®) (Tabla 2). Se detectó superioridad de ambos esquemas de Proctokinasas® respecto al Anusol-HC®, con diferencias por encima del 60% al 5^{to} día (variable principal). Fue mínimo el número de pacientes tratados con Proctokinasas® que tributó a trombectomía (Tabla 2).

Todos los protocolos siguieron la Declaración de Helsinki y se aprobó por los comités de ética de cada hospital participante, así como por la Agencia Nacional Reguladora de Medicamentos. En términos de seguridad podemos plantear que el supositorio de Proctokinasas® es seguro y tolerable.

	Proctokinasa®		Anusol-HC®	p
	Esquema – A	Esquema – B		
N	170	170	170	
Respuesta al 3 ^{er} día	117 (68.8%)	109 (64.1%)	12 (7.1%)	<0.001
Respuesta al 5 ^{to} día (%)	156 (91.8%;)	155 (91.2%)	46 (27.1%)	<0.001
Diferencia (IC 95%)	64.6 (56.7; 72.2)	63.9 (55.7; 72.0)		
Respuesta al 10 ^{mo} día	165 (97.1%)	159 (93.5%)	114 (67.1%)	<0.001
Días hasta la respuesta: mediana (IC 95%)	3 (2.8 – 3)	3 (2.9 – 3.1)	10 (9.3 – 10.7)	0.01
<i>Análisis de subgrupos: Respuesta completa al 5^{to} día</i>				
Tipo de evento agudo				
Sin trombosis	42/48 (87.5%)	36/41 (87.8%)	10/37 (27.0%)	<0.0001
Con trombosis	114/122 (93.4%)	119/129 (92.2%)	36/133 (27.1%)	<0.0001
Trombectomía	2/122 (1.6%)	2/129 (1.6%)	14/133 (10.5%)	0.001
Clasificación de las hemorroides				
Externa	93.2%	89.3%	17.0%	<0.0001
Interna + Mixta	89.6%	94.8%	46.6%	<0.0001
Grado de Prolapso I ó II	91.0%	95.0%	49.0%	0.001
III ó III	85.0%	95.0%	40.0%	0.001

Conclusiones: Se desarrolló una formulación en forma de supositorio que contiene SKr estable durante 24 meses en condiciones de vida de estante $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. La tecnología obtenida es escalable y permite obtener lotes de supositorio de forma consistente y con la calidad requerida de acuerdo a las especificaciones establecidas.

Se demostró en los estudios toxicológicos que el supositorio de SKr es un producto no tóxico.

Se demostró que el supositorio de SKr es seguro y eficaz en el tratamiento de las hemorroides agudas, con resolución en un breve período de tiempo de los principales signos y síntomas que acompañan a esta problemática de salud.

Hasta el presente es el único producto reportado capaz de eliminar los trombos y los microtrombos presentes en la zona anorectal de los pacientes aquejados de hemorroides.

Se obtuvo el registro sanitario del producto en Cuba (Proctokinasa®).

Referencias

1. Formulation development of a recombinant Streptokinase suppository for hemorrhoids treatment. *Biotechnol Apl.* 2013; 30 (3); Jul.-Sept. Initial evidence of safety and clinical effect of recombinant streptokinase suppository in acute

hemorrhoidal disease. Open, proof-of-concept, pilot trial. *Biotecnología Aplicada* 2010; 27(4):277-80.

2. Formulations for the rectal administration of thrombolytically-active agents. PCT/CU03/00020. Dec.22, 2003.

3. Initial evidence of safety and clinical effect of recombinant streptokinase suppository in acute hemorrhoidal disease. Open, proof-of-concept, pilot trial. *Biotecnología Aplicada* 2010; 27(4):277-80.

4. Recombinant streptokinase suppositories in the treatment of acute haemorrhoidal disease. Multicentre randomised double-blind placebo-Controlled trial (THERESA-2). *Colorectal Dis.* 2013 Jun 27 [doi: 10.1111/codi.12327. PMID: 23809982] [Epub ahead of print].

5. Recombinant Streptokinase versus Phenylephrine-based Suppositories in Acute Hemorrhoids. Randomized, Controlled Trial (THERESA-3). *World Journal of Gastroenterology.* Aceptado 2013.