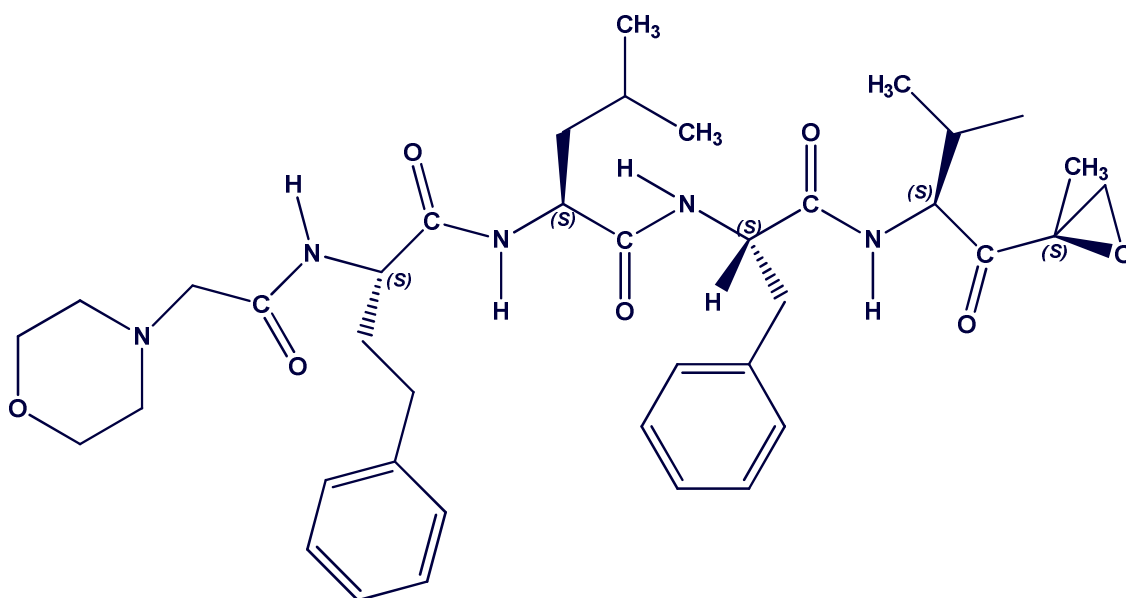


CARFILZOMIB: NUEVO FÁRMACO PARA EL MIELOMA MÚLTIPLE



CARFILZOMIB

(S)-4-metil-N-((S)-1-(((S)-3-metil-1-((S)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxobutan-2-il)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-2-((S)-2-(2-morfolinacetamido)-4-fenilbutanamido)pentanamida

$C_{39}H_{55}N_5O_7$ (705,88g/mol)

ABSTRACT

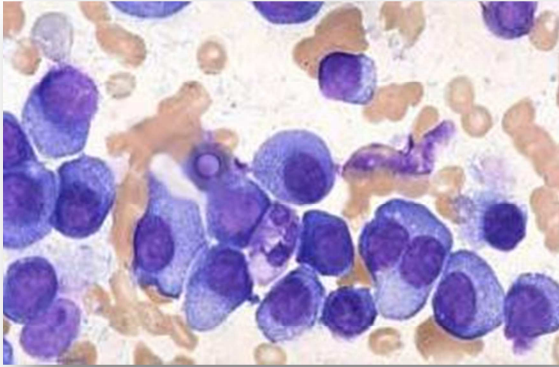
Revisión de *Carfilzomib*, un inhibidor del sistema *proteosómico* celular, el principal sistema de desguace de las proteínas. El desentrañamiento de la estructura y mecanismo de acción *proteosómico* representó un hito científico merecedor de la concesión del Premio Nobel de Química a sus descubridores, *Aaron Ciechanover*, *Avram Hershiko* e *Irwin Rose*, en el año 2004.

Carfilzomib representa un progreso en relación a *Bortezomib* en varios aspectos: especificidad de acción, irreversibilidad de la inhibición del sistema *proteosómico*, menor incidencia (según los estudios iniciales) de neuropatía periférica; y, principalmente, eficacia clínica en pacientes que, bien son refractarios, o han recaído tras un tratamiento con *Bortezomib*.

Carfilzomib está indicado bien en régimen de monoterapia, o incluido en protocolos de tratamiento más complejos.

Carfilzomib parece representar un avance para el tratamiento de los estadios más complejos del mieloma múltiple.

PREÁMBULO



El mieloma múltiple es un tipo de cáncer de los leucocitos productores de anticuerpos. Otras denominaciones homónimas de la patología son: enfermedad de *Kahler*, *mielomatosis* y *mieloma de células plasmáticas*. En el resto del artículo mantendré la denominación más usual, esto es, *mieloma múltiple*.

En la imagen microscópica de un corte tisular de médula ósea, las células malignas aparecen resaltadas por la tinción azul.

MECANISMO DE ACCIÓN

Las células disponen de dos mecanismos para la degradación de proteínas: la actividad de los lisosomas, y el sistema proteosómico ligado a la ubiquitina ⁽¹⁾. La homeostasia proteínica es imprescindible para el óptimo funcionamiento del complejo engranaje de la maquinaria celular.

Es fácil inferir de lo anterior que la inhibición de alguno de estos sistemas de depuración proteica afectará a trascendentes funciones celulares, desde la transducción de señales (vías de señalización celular ^[2]) a la apoptosis (muerte celular programada).

Las células neoplásicas manifiestan una susceptibilidad especial al *sistema proteosómico* de degradación celular ^(3,4,5,6).

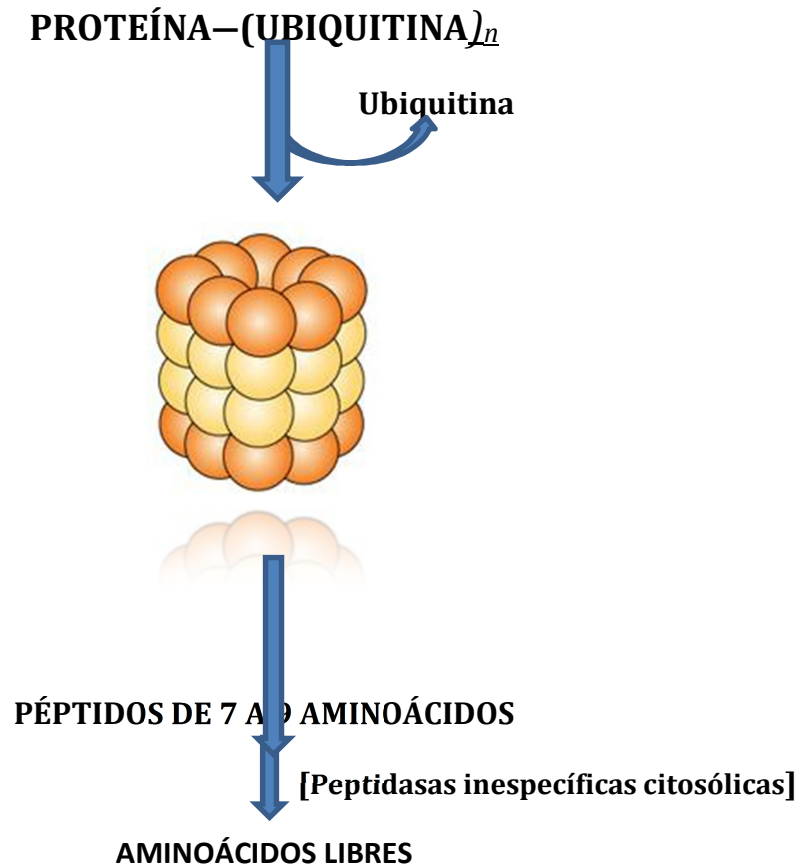


Figura 2: representación del *sistema proteosómico* (26S): dos subunidades exteriores de 19S; y un núcleo central de 20S. Recordar que **S** (de *Sevberg*) es un coeficiente que determina la velocidad de sedimentación.

El desciframiento del mecanismo proteosómico de degradación de proteínas se hizo merecedor de la concesión del [Premio Nobel de Química](#) en el año 2004 a tres investigadores, [Aaron Ciechanover](#), [Avram Hershiko](#) e [Irwin Rose](#) por “discovery of ubiquitin-mediated protein degradation”.

Para que una proteína sea reconocida por el *proteosoma* (complejo proteico *proteosómico*), debe unirse previamente a varios monómeros de un polipéptido de 76 aminoácidos, denominado *ubiquitina* (denominación que hace referencia a su ubicuidad en todas las estirpes celulares). La proteína que se va a degradar debe unirse a no menos de 4 monómeros de *ubiquitina* para que el sistema *proteosómico* pueda llevar a cabo su clivaje hasta pequeños péptidos, los cuales son hidrolizados hasta aminoácidos libres por *peptidasas inespecíficas citosólicas*.

La conformación del sistema *proteosómico* remeda un tubo de desguace (figura 2). En la primera parte [subunidad *proteosómica* 19S], la proteína (marcada por la unión covalente de varias *ubiquitinas*) pierde su conformación, manteniendo su estructura primaria (secuencia de aminoácidos). La proteína desnaturalizada entra en el núcleo del sistema *proteosómico* [la subunidad *proteosómica* 20S, formada

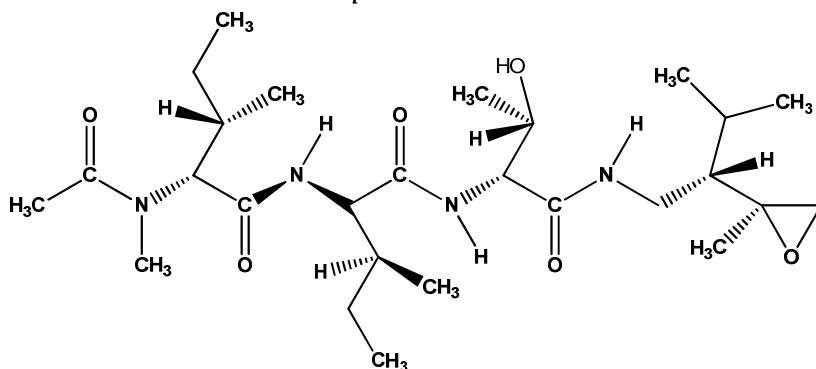
por tres dominios: $\beta 5$ (*chymotrypsin-like*), $\beta 2$ (*trypsin-like*), y $\beta 1$ (*caspase-like*). La parte final del sistema *proteosómico* (“túnel de desguace”) está constituido por otra subunidad 19S.

De todas las subunidades del sistema *proteosómico*, la $\beta 5$ (*chymotrypsin-like*) es la más susceptible a la inactivación farmacológica ^(7,8).

El *inmunoproteosoma* (20Si) es un tipo de *proteosoma* localizado en monocitos y linfocitos. Cuando el *TNF α* (*Factor de Necrosis Tumoral tipo α*) o el *interferón- γ* interactúan con el *inmunoproteosoma* se producen una serie de cambios: las subunidades $\beta 5$, $\beta 2$ y $\beta 1$ son sustituidas respectivamente por $\beta 5i$ (también conocido como *LMP7*, acrónimo de *Low Molecular Polypeptide 7*), $\beta 2i$ (designado con el acrónimo *MECL1*, de *Multicatalytic Endopeptidase Complex 1*), y $\beta 1i$ (*LMP2*, de *Low Molecular Polypeptide 2*).

La expresión del *inmunoproteosoma*, de manera preferente al *proteosoma*, se ha observado en mieloma múltiple.

Bortezomib y *Carfilzomib* inhiben la actividad *proteosómica* de modo inespecífico, sin discriminar el *inmunoproteosoma*.



EPOXOMICINA

Carfilzomib es un análogo estructural de *epoxomicina-3*, un subproducto de la actividad microbiana, en la que se observó actividad antitumoral consecuencia de la inhibición sobre la actividad *proteosómica* ^(9,10).

Carfilzomib inhibe de manera selectiva tanto la actividad de la subunidad $\beta 5$ (del *proteosoma*) como la actividad $\beta 5i$ (o: LMP7) del *inmunoproteosoma*. La inhibición de estas subunidades es irreversible, por lo que la restauración de la actividad *proteosómica* requiere la síntesis de nuevas subunidades proteicas. En esto se diferencia de *Bortezomib* ⁽¹¹⁾, cuya inhibición de las mismas subunidades del complejo *proteosómico* es lentamente reversible.

El radical *epoxibutano* de *Carfilzomib* muestra una elevada especificidad por el aminoácido *treonina* del extremo amino-terminal de los sitios catalíticos, con muy limitada actividad sobre las *serina-proteasas*. En cambio, *Bortezomib* reacciona de

manera preferente con las *serinas* de diversas proteasas, tales como la ya citada “chymotrypsin-like” ($\beta 5$); pero también otras como *catepsinas A y G*, *elastasa* y *quimasa* ^(12,13).

FARMACOCINÉTICA

Siguiendo la administración *IV Bolus*, *Carfilzomib* desaparece rápidamente del compartimento plasmático, con una vida plasmática media de 15 minutos (estudios experimentales en ratas); y de 7,5 minutos (estudios experimentales en monos) ⁽¹⁴⁾.

A pesar de su rápido aclaramiento plasmático, *Carfilzomib* da lugar a una inhibición prolongada de la subunidad 20S del *proteosoma* en todos los tejidos, excepto en el cerebro.

La determinación de la cinética de *Carfilzomib* se estableció en base a uno de los dos siguientes protocolos de administración: (1º) cinco días de tratamiento, seguidos por nueve días de descanso (*wash-out*); o bien, administración los días 1º y 4º, seguidos por nueve días de *wash-out*. La administración de dosis que daban lugar a una inhibición $\geq 80\%$ de la actividad *proteosómica* fueron bien toleradas por los pacientes ⁽¹¹⁾. Se notificó trombocitopenia transitoria, pero no hubo variación del recuento de linfocitos y neutrófilos.

La recuperación de la actividad *proteosómica* siguiendo la administración de dosis únicas fue indistinta de la observada tras la administración de cinco dosis consecutivas (1º protocolo de tratamiento).

Las observaciones anteriores fueron determinantes para el diseño del primer estudio fase I de dosis crecientes. En este primer ensayo clínico, *O'Connor et al* ⁽¹⁵⁾, se seleccionaron 29 pacientes con alguna de las patologías siguientes: mieloma múltiple refractario o recidivante, linfomas (*Hodgkin* y *no-Hodgkin*) y macroglobulinemia de *Waldenstrom*.

Todos los pacientes eran tratados durante cinco días consecutivos, seguidos por nueve días sin tratamiento, hasta completar el ciclo de catorce días. Las dosis de los distintos brazos del estudio fueron las siguientes:

- 1,2mg/m²
- 2,4mg/m²
- 4,6mg/m²
- 8,4mg/m²
- 11,0mg/m²
- 15,0mg/m²
- 20,0mg/m² (dosis máxima)

No se notificó toxicidad dosis-limitante en el rango de dosis 1,2mg/m² ↔ 15,0mg/m². Con la dosis máxima (20,0mg/m²), se observó neutropenia febril grado 3, y trombocitopenia grado 4 (dos pacientes del grupo de cinco estudiados). Así pues, la dosis máxima aceptada se estableció en 15,0mg/m².

La actividad antitumoral resultó evidente a dosis >11mg/m².

La concentración máxima (**C_{MÁX}**) a la dosis de 15,0mg/m² fue de 325,9ng/ml [rango: 83,7ng/ml↔620ng/ml], **T_{MÁX}** (tiempo hasta lograr las concentraciones máximas) era 5,8 minutos [rango: 5↔7], Área Bajo la Curva (**AUC, Area Under Curve**) de 9.728ng/ml x hora [rango: 1.616ng/ml x hora ↔ 28.426ng/ml x hora], **T_{1/2}** (Vida Plasmática Media) de 28,9minutos [6,8minutos ↔ 95,5minutos,], **Aclaramiento Sistémico (Clearance)** fue 7.054ml/minuto [rango: 950ml/minuto ↔ 18.511ml/minuto], vía renal y biliar; y el **Volumen Aparente de Distribución (V_D)** fue 942L [.

C_{MÁX} y AUC se incrementan con la dosis administrada, pero siguiendo una función matemática compleja.

Los efectos adversos notificados en el curso de este estudio clínico fueron: fatiga leve a moderada (14 pacientes, 48%), náusea (pacientes, 48%), diarrea (10 pacientes, 35%), disnea (8 pacientes, 28%), pirexia (10 pacientes, 28%), hipostesia (8 pacientes, 28%), cefalea (7 pacientes, 24%), estreñimiento (6 pacientes, 21%), edema periférico y edema (7 pacientes, 24%).

El 48% (14 pacientes) experimentaron toxicidad grado 3; pero ningún paciente sufrió neuropatía periférica grados 3↔4, a pesar de que algunas personas incluidas en el estudio tenían neuropatía antes de iniciar el ensayo. Esta información permitió determinar baja incidencia de neuropatía con *Carfilzomib*, sobre todo en relación a *Bortezomib*.

La valoración farmacodinámica de este estudio mostró que siguiendo la primera dosis de 11mg/m² de *Carfilzomib* ya se hizo evidente la inhibición dosis-dependiente de la actividad *quimiotripsina (chymotrypsin-like)* de la subunidad *proteosómica 20S*, en sangre completa y en células mononucleares de sangre periférica.

El efecto de inhibición se acumula durante desde el primero al quinto día de administración de *Carfilzomib*. La actividad *proteosómica* recuperó sus valores normales durante los 9 días siguientes a los cinco días de tratamiento. Esta recuperación fue completa en células mononucleares periféricas, pero solo parcial en sangre completa, debido a la incapacidad de los eritrocitos de sintetizar nuevo *proteosoma*.

Al objeto de evaluar las diferencias entre la administración de *Carfilzomib IV Bolus* y la perfusión intravenosa intermitente (30 minutos), se planteó el estudio Ib/II

(PX-171-007) dirigido por *Rosen et al* ^(16,17). Se incluyeron pacientes con tumores sólidos metastásicos que no habían respondido a dos tratamientos anteriores. *Carfilzomib* fue inyectado (*IV Bolus*) los días 1, 2, 8, 9, 15 y 16, en 12 ciclos de 28 días cada uno. Durante el primer ciclo, la dosis administrada el 1^{er} día fue 20mg/m²; de 27mg/m², el 2^o día; y 36mg/m² el día 8 (dosis máxima mantenida el resto de días de tratamiento).

Finalmente se seleccionó la dosis de 20mg/m² para iniciar el ensayo clínico fase II.

Se incluyeron catorce pacientes en el brazo de estudio fase I tratados con inyecciones directas (*IV Bolus*) de *Carfilzomib*; veinte pacientes fueron asignados a recibir *Carfilzomib* en infusión intravenosa; y 65 pacientes en el estudio fase II con los diagnósticos siguientes: cáncer pulmonar de células pequeñas (12 pacientes), cáncer pulmonar de células no-pequeñas (17 pacientes), carcinoma ovárico (16 mujeres), cáncer renal (10 pacientes), y otras neoplasias (24 pacientes, incluyendo un subgrupo de pacientes con mieloma múltiple). Se lograron respuestas parciales en pacientes con mieloma múltiple, cáncer renal o cáncer pulmonar de células no-pequeñas. La enfermedad se estabilizó (dejó de progresar) durante al menos 16 semanas en pacientes con mesotelioma, cáncer ovárico, renal, cervical, endometrial y pulmonar (tanto de células pequeñas como no-pequeñas).

La baja (prácticamente nula) incidencia de neuropatía confirmó los resultados de estudios previos ⁽¹⁷⁾, incluso a la dosis más elevada (36mg/m² el día 8, del ciclo de tratamiento).

Los estudios referidos confirmaron la eficacia y tolerancia de *Carfilzomib* con independencia de las condiciones de inyección (*IV Bolus* vs infusión IV).

Un segundo ensayo fase II (PX-171-002) ⁽¹⁸⁾ evaluó la administración en días consecutivos (días 1^o y 2^o; 8^o y 9^o; y, 15^o y 16^o) cada 28 días, durante tres ciclos de tratamiento. *Carfilzomib* se administró en un rango variable de dosis (de 1,2mg/m² a 27mg/m²). Este estudio (PX-171-002) involucró a 37 pacientes con linfoma (refractario o recidivante) o mieloma múltiple.

Los resultados mostraron que la dosis mínima efectiva fue de 15mg/m², consiguiéndose inhibición *proteosómica* superior al 80%, unida a excelente tolerancia.

La respuesta favorable se sostuvo durante intervalos de 134 días ↔ 392 días, incluyendo a pacientes que habían recaído tras una respuesta inicial a *Bortezomib*, *Talidomida*, *Lenalidomida* y/o trasplante de médula ósea.

ESTUDIOS *IN VITRO* EN EL MIELOMA MÚLTIPLE

Los estudios *in vitro* llevados a cabo en diversos cultivos celulares (mieloma múltiple, linfoma de *Burkitt*, leucemia linfocítica aguda, linfoma *no-Hodgkin* de

células B, y adenocarcinomas de colon y recto, pancreático o pulmonar) han evidenciado que *Carfilzomib* da lugar a la interrupción del ciclo celular y la consiguiente apoptosis.

Se comentan a continuación cuatro estudios sobre la actividad *in vitro* de *Carfilzomib*:

- a) Estudio de *Demo et al* ⁽¹¹⁾ sobre la citotoxicidad de *Carfilzomib* en relación a *Bortezomib* en dos tipos de cultivos celulares: células de tumores hematológicos y células de tumores sólidos.
- b) Estudio de *Kuhn et al* ⁽¹⁹⁾ sobre la potencia y especificidad con que *Carfilzomib* inhibe la subunidad $\beta 5$ (*chymotrypsin-like*) del *proteosoma*.
- c) Estudio de *Suzuki et al* ⁽²⁰⁾ acerca de la eficacia de *Carfilzomib* en cultivos de células de adenocarcinoma de colon y recto humanos resistentes a *Bortezomib*.
- d) Estudio de *Trudel et al* ⁽²¹⁾ para valorar la inhibición por *Carfilzomib* de los cultivos de células mononucleares de sangre periférica como marcador subrogado de la inhibición proteosómica.

En el estudio citado en primer lugar (a) *Carfilzomib* se mostró más citotóxico que *Bortezomib* tras una breve exposición al fármaco de los cultivos celulares de tumores hematológicos; mientras los cultivos de tumores sólidos y los de células no-malignizadas se mostraron insensibles, tanto a *Carfilzomib* como a *Bortezomib*. No se observaron diferencias en el tiempo de latencia para la inhibición *proteosómica* entre *Carfilzomib* y *Bortezomib*, de lo que se infiere que la mayor citotoxicidad a *Carfilzomib* no cabe achacarla a una exposición más temprana al fármaco. Cuando el tiempo de exposición a *Carfilzomib* es más prolongado (de 1 hora a 6 horas), se observa, como cabe esperar, un grado mayor de citotoxicidad y un aumento del tiempo para la recuperación de la actividad *proteosómica*.

En el segundo estudio referenciado (b) *Carfilzomib* inhibió de manera potente y específica la subunidad $\beta 5$ (*chymotrypsin-like*) del complejo *proteosómico*. Como consecuencia se observa una acumulación de sustratos “ubiquitinados” que se hallan en espera de ser degradados por el complejo *proteosómico*. Los autores también demostraron la inhibición por *Carfilzomib* de diversas líneas celulares (ANBL-6, KAS-6, RPMI-8226 y U266), las dos primeras dependientes de la interleucina-6; y las dos últimas independientes de la interleucina-6. La inhibición de estos tipos de cultivos celulares se correlacionó de modo *cuasi*-lineal con la concentración y tiempo de exposición al fármaco. El efecto antiproliferativo fue mayor en cuanto se usaron células procedentes de pacientes con mieloma múltiple no tratado previamente con *Bortezomib* (muestras procedentes de pacientes *naïve*). *Carfilzomib* se mostró activo incluso en cultivos de celulares de mieloma múltiple (primarios o secundarios) que eran refractarios a la adición de *Bortezomib*.

En el tercer estudio (c), se expusieron células procedentes de adenocarcinoma humano de colon y recto a *Bortezomib*. En los cultivos celulares resistentes a *Bortezomib*, la actividad *proteosómica* era entre 7 veces y 11 veces superior a la observada en los cultivos sensibles al fármaco (*Bortezomib*). *Carfilzomib* dio lugar a la inhibición prolongada de la actividad *proteosómica*, tanto en los cultivos sensibles a *Bortezomib* como en los *Bortezomib-resistentes*. La resistencia de algunas células de mieloma múltiple a *Bortezomib* radica en una mutación localizada en la subunidad $\beta 5$ del *proteosoma*, más concretamente “Arginina24-Cisteína”. Esta mutación es primordial para el ensamblaje correcto del complejo *proteosómico*; y es la mutación más frecuente en los pacientes con mieloma múltiple resistentes a *Bortezomib* ⁽²²⁾. Los autores también han identificado otra mutación que, aunque menos frecuente, también es responsable de una rápida recuperación de la actividad *proteosómica* en los pacientes tratados con *Bortezomib*: se trata de la mutación LMP7 (acrónimo de *Low Molecular Polypeptide 7*). *Carfilzomib* da lugar a la inhibición irreversible de la actividad enzimática del *proteosoma* en cultivos celulares con cualquiera de los dos tipos de mutaciones citadas.

Estos estudios preclínicos *in vitro* ponen de relieve que *Carfilzomib* da lugar a la apoptosis tanto en pacientes *naïve* como en pacientes tratados previamente con *Bortezomib*.

En el cuarto estudio (d) los autores emplearon un doble ensayo (con sustrato fluorogénico para la actividad $\beta 5$; e *inmunoadsorción* para cuantificar la actividad $\beta 5$, LMP7 y MECL1) con el que compararon la vulnerabilidad de la actividad *proteosómica* de las células de la médula ósea y de las células mononucleares de sangre periférica. El estudio confirmó que la inhibición de la actividad *proteosómica* en las células mononucleares obtenidas de los capilares es un excelente marcador de la inhibición de las células del mieloma múltiple, células que derivan de la médula ósea.

ESTUDIOS IN VITRO EN LA LEUCEMIA MIELÓGENA AGUDA

A concentraciones en el rango $10^{-1} \leftrightarrow 10^{+2}$ nmol/L, *Carfilzomib* ⁽²³⁾, al igual que *Bortezomib*, inhibe la proliferación de colonias leucémicas mielógenas, bien dependientes de secreción autocrina o de citoquinas externas al cultivo celular. *Carfilzomib* incrementó la apoptosis; y, por consiguiente, disminuyó la proliferación y la viabilidad de las células tumorales. Además de *Carfilzomib*, los cultivos celulares también fueron expuestos a *Idarrubicina* y *Citarabina*. Estas observaciones evidencian el amplio espectro antitumoral de *Carfilzomib* frente a diversas neoplasias hematológicas, más allá del mieloma múltiple.

ESTUDIOS IN VITRO EN LINFOMA NO-HODGKIN, EN ASOCIACIÓN CON INHIBIDORES DE LA HISTONA-DESACETILASA

Un estudio dirigido por *Dasmahapatra* ⁽²⁴⁾ advirtió que *Vorinostat*, un inhibidor de la enzima “histona-desacetilasa”, aumentaba la actividad de *Carfilzomib* en linfoma de células B, tanto sensibles, como refractarias al tratamiento con *Bortezomib*.

El complejo mecanismo de acción compromete varios procesos: injuria mitocondrial, activación de las *caspasas* y apoptosis mediada por la activación de la quinasa asociada al mitógeno p38. También se observó la abrogación de la activación del Factor nuclear κ -B (que intermedia en la inhibición de la *histona-desacetilasa*), la inactivación AKT, y la acetilación de Ku70. Todas estas modificaciones bioquímicas contribuyen a la actividad sinérgica. Aun cuando estos procesos sinérgicos no se han estudiado hasta la fecha, la posibilidad de sinergia entre *Carfilzomib* e “inhibidores de la histona-desacetilasa” abre nuevas posibilidades terapéuticas.

ESTABLECIMIENTO DE LAS DOSIS PARA LOS ENSAYOS CLÍNICOS FASE I

Demo et al. ⁽¹¹⁾ demostraron que *Carfilzomib* inducía apoptosis en modelos de xenotrasplantes humanos de linfoma de células B, cáncer de colon y recto y linfoma de *Burkitt*. Se valoraron distintos protocolos de tratamiento. Los mejores resultados se lograban cuando *Carfilzomib* se administraba en ciclos de dos días consecutivos. Y ello a pesar de que esta forma de proceder daba lugar a la mayor inhibición de la actividad *proteosómica* (>80%) en la mayoría de los tejidos que, sin embargo, era bien tolerada. Este esquema de tratamiento se eligió para realizar los estudios clínicos fase I.

ESTUDIOS CLÍNICOS Y EFECTOS ADVERSOS

Un estudio abierto (*open-label*, en el argot estadístico) y multicéntrico mostró excelentes resultados cuando se administró *Carfilzomib* en régimen de monoterapia a pacientes con mieloma múltiple recidivante o refractario ⁽²⁵⁾. En este estudio 46 pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple, cuya enfermedad había repuntado tras tratamientos previos, fueron tratados con dosis intravenosas de 20mg/m² de *Carfilzomib* los días 1^o y 2^o, 8^o y 9^o, 15^o y 16^o, cada 28 días, hasta un máximo de 12 ciclos. Todos los pacientes eran recidivantes, habiendo sido tratados con antraciclinas y/o agentes alquilantes. El número promedio de ciclos de tratamiento con estos fármacos quimioterápicos fue de 5 [rango: 2↔15]. El 83% de los pacientes habían sido sometidos a trasplante de médula ósea. Los pacientes recibieron un promedio de tres ciclos de *Carfilzomib*, según el protocolo antes indicado. La eficacia clínica se definió como una respuesta igual o superior a la mínima esperada. Resultados: 10 pacientes (26%) lograron una respuesta igual o superior a la mínima (criterio de eficacia clínica). Ningún paciente logró una completa remisión de su proceso neoplásico. Cinco pacientes con enfermedad refractaria al tratamiento con *Bortezomib* consiguieron una respuesta parcial. El

tiempo promedio hasta la progresión de la enfermedad fue de 6,2 meses; y la duración media de la respuesta fue de 7,4 meses.

El tiempo promedio hasta la progresión de la enfermedad fue similar al observado con *Bortezomib* en los estudios clínicos SUMMIT y APEX.

En el estudio con *Carfilzomib*, el 10% de los pacientes incluidos en el estudio completaron los 12 ciclos de tratamiento (máximo previsto).

Por lo que respecta a los efectos adversos, una primera estimación porcentual es la siguiente:

- ▶ Neuropatía periférica (<10%).
- ▶ Fatiga (65%).
- ▶ Anemia (65%).
- ▶ Trombocitopenia (46%).
- ▶ Neutropenia (20%).
- ▶ Náusea (37%).
- ▶ Infecciones respiratorias del tracto superior (37%).
- ▶ Diarrea (33%).
- ▶ ↑ Creatinina en suero (33%) (no siempre relacionada con el tratamiento con *Carfilzomib*).
- ▶ Fracaso renal agudo (aproximadamente 9%, en algunos casos debido a lisis tumoral y no tanto a nefrotoxicidad del *Carfilzomib*).

Este primer estudio fase II (IIa) constató la eficacia de *Carfilzomib*, administrado en régimen de monoterapia, a pacientes con mieloma múltiple resistentes a *Bortezomib* y con un historial de tratamientos previos.

Los resultados del estudio citado condujeron a un segundo ensayo, también fase II, dirigido por el *Multiple Myeloma Research Consortium*. Este estudio, denominado PX-171-003-AI, incluyó a 266 pacientes con mieloma múltiple refractario, que habían recibido al menos dos tratamientos previos que incluyesen *Bortezomib*, *Talidomida* (o *Lenalidomida*) y un fármaco alquilante. La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio se habían mostrado refractarios a, como mínimo, dos tratamientos previos que incluyesen *Bortezomib*.

Tratamiento:

- 1º. Ciclo 1 de 28 días: *Carfilzomib* (20mg/m²) los días 1º y 2º, 8º y 9º, 15º y 16º.
- 2º. Ciclo 2º, y siguientes, hasta un máximo de 12 ciclos: *Carfilzomib* en dosis crecientes, hasta una dosis máxima de 27mg/m² (ciclo 12º), manteniendo idéntico esquema de administración en todos los ciclos.

Criterio: índice de respuesta clínica global (no progresión del tumor).

Resultados: Se logró la respuesta global en el 24% de los pacientes, con una duración media de la respuesta de 7,4 meses [rango: 6,2↔10,3 meses]. De modo más pormenorizado: 1 respuesta completa (0,4%); 12 respuestas parciales catalogadas de excelentes (4,7%); 48 respuestas parciales (19%); y 32 respuestas definidas como mínimas (12%) –estas últimas no se consideraron en el 24% de respuesta global. Además, 83 pacientes (32%) frenaron la progresión de su enfermedad durante al menos 6 semanas.

Un 11% de los pacientes completaron los 12 ciclos de tratamiento previstos al comienzo del estudio.

Los efectos adversos descritos con más frecuencia fueron de tipo hematológico [trombocitopenia (22%), anemia (20%), linfopenia (10%), neumonía (8%), neutropenia (8%), fatiga (7%), hiponatremia (5%) e hipercalcemia (5%)]. Aun cuando algunos pacientes tenían neuropatías diversas al inicio del tratamiento, la aparición de nuevas neuropatías o el agravamiento de las ya existentes fue un aspecto adverso incidental e infrecuente (<1%).

Las conclusiones de este estudio fase II fueron que *Carfilzomib* en régimen de monoterapia puede dar lugar a respuestas duraderas incluso en pacientes que han fracasado a tratamientos previos con *Bortezomib* e inmunomoduladores. Otro aspecto importante fue que incluso pacientes con neuropatía de base toleraban el tratamiento con *Carfilzomib* con mínimo riesgo de exacerbación.

Un estudio paralelo (también fase II) multicéntrico, dirigido así mismo por *Multiple Myeloma Research Consortium*, se planteó para determinar la eficacia de *Carfilzomib* en pacientes que no han recibido *Bortezomib* con anterioridad (*Bortezomib naïve*). En este estudio se incluyeron dos brazos, uno con 54 pacientes y otro con 19 pacientes:

- 1º. *Carfilzomib* (20mg/m²) los días 1º y 2º, 8º y 9º, 15º y 16º, durante 28 días x 12 ciclos (máximo) (grupo de 54 pacientes).
- 2º. *Carfilzomib* con incremento de dosis en cada ciclo [desde 20mg/m² el 1º ciclo hasta 27mg/m² el ciclo 12º], siguiendo el mismo protocolo de tratamiento dentro de cada ciclo.

En el 1º brazo del estudio (20mg/m² de *Carfilzomib* durante todos los ciclos) el índice de respuesta global fue del 46% (25 de 54 pacientes). Los pacientes con respuesta global favorable (25) se distribuyeron como sigue: 1 respuesta global, 5 respuestas parciales muy buenas, y 19 respuestas parciales moderadas.

En el 2º brazo del estudio (dosis crecientes de *Carfilzomib* desde 20mg/m² hasta 27mg/m² en el ciclo 12º), el índice de respuesta global fue del 53%, con 1 respuesta parcial excelente y 9 respuestas parciales. La duración media de las

respuestas fue 8,8 meses; y el tiempo hasta la progresión de la enfermedad fue de 7,6 meses.

El patrón de efectos adversos semejó al de los estudios anteriores, incluyendo: fatiga (59%), náusea (41%), disnea (36%), anemia (29%), aumento de la creatinina (31%), e infecciones del tracto respiratorio superior (31%). La tolerancia de *Carfilzomib* se consideró excelente, en razón de que apenas fue necesaria la reducción de la dosis, incluso en pacientes con insuficiencia renal.

Los pacientes de este estudio se estratificaron en categorías de alto riesgo siguiendo las puntuaciones del modelo establecido por *Eastern Cooperative Oncology Group*, el perfil *citogenético* y la *microglobulina β_2* . En base a estos parámetros el índice de respuesta global se situó en el rango 41%↔54%, con la particularidad de la disminución de co-morbilidad asociada a la no exigencia de tratamiento esteroide.

DISCUSIÓN

Desde consideraciones bioquímicas, *Carfilzomib*, a diferencia de *Bortezomib*, da lugar a la inhibición irreversible del *proteosoma*, con una selectividad mayor sobre la subunidad tipo *quimiotripsina (chymotrypsin-like)*; y una inhibición superior frente al *inmunoproteosoma*. Sin embargo, como suele suceder, no se conoce la traslación de estos hallazgos moleculares a los resultados clínicos.

Si bien existe amplia información sobre los efectos *pleiotrópicos* del *Bortezomib (dipéptido del ácido borónico)* sobre el entorno microscópico de la médula ósea y sobre las células de mieloma, no se dispone de un conocimiento análogo en relación al *Carfilzomib*.

Es muy probable que la falta de selectividad en la inhibición del *proteosoma* por *Bortezomib* sea la causa de la neuropatía, relativamente frecuente durante el tratamiento con este fármaco ⁽²⁶⁾.

Se está estudiando si la inhibición más específica de *Carfilzomib* sobre la subunidad 20S del *inmunoproteosoma* (20Si) en relación a la inhibición causada por la subunidad equivalente del *proteosoma* constitutivo, es la razón de la menor incidencia observada hasta ahora de neuropatía en los pacientes; además de justificar la eficacia mostrada por *Carfilzomib* en pacientes refractarios al tratamiento con *Bortezomib*.

En relación con otro inhibidor experimental del *proteosoma* (NPI-0052), *Carfilzomib* se muestra más potente y menos tóxico. Se justifica, teóricamente, en razón de que NPI-0052 inhibe no solo la subunidad 20S del *proteosoma*, sino otros dominios del conglomerado proteico con actividad *caspasa* y *tripsina*.

Se puede considerar, pues, que la inhibición diferencial en las distintas subunidades *proteosómicas* de estas sustancias (medicamentos unos [*Bortezomib*, *Carfilzomib*] y potencial fármaco otro [NPI-0052]) dicta el patrón de toxicidad y determina la tolerancia, sin comprometer la eficacia.

Diversos estudios prospectivos (fase II) con *Bortezomib* (27,28, 29, 30, 31, 32) en pacientes con linfoma refractario o recidivante, han conseguido índices de respuesta parcial en el rango 29%↔50%; con índices de remisión completa entre un 4% y un 8%; y una duración (promedio) de respuesta de 10 meses de duración. Los efectos adversos observados en pacientes con linfoma fueron similares a los que se comunicaron y constataron durante el uso de *Bortezomib* para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple. En la actualidad se está estudiando si se puede lograr una respuesta similar con *Carfilzomib* en pacientes con linfoma no-*Hodgkin*.

Las asociaciones de *Bortezomib* con otros fármacos han dado resultados favorables en pacientes con mieloma múltiple o refractario. Así, *Bortezomib + Melfalán*, o *Bortezomib + Dexametasona*, han mostrado respuestas favorables entre el 63% y el 70%, con índices de respuesta global en el rango 15%↔23% (33, 34, 35).

Cuando *Bortezomib* se ha incluido en protocolos de triple terapia (vg “*Bortezomib+Ciclofosfamida+Dexametasona*”, “*Bortezomib+Adriamicina+Dexametasona*” o “*Bortezomib+Lenalidomida+Dexametasona*”), se han logrado índices de respuesta favorables en un rango muy amplio [51%↔82%], pero con índices de respuesta global en el rango habitual [15%↔27%] (36, 37, 38, 39, 40, 41, 42).

Las combinaciones de *Bortezomib* con otros tres fármacos habituales en el mieloma múltiple (terapia cuádruple) han mostrado rangos de respuesta 67%↔92% (favorable), y 44%↔53% (respuesta global) (43, 44, 45, 46).

Dos estudios (47, 48) han evidenciado que *Carfilzomib* se puede asociar con *Lenalidomida* y *Dexametasona* con respuestas favorables de 59%↔72%; y una respuesta global del 21%.

En la actualidad existen varias sustancias con actividad farmacológica inhibidora del *proteosoma* potencialmente útiles, si bien se trata de delimitar cuál será su indicación más concreta en función del patrón de inhibición de las distintas subunidades proteicas que conforman el complejo *proteosómico*. Así mismo se está valorando su utilidad potencial en otros escenarios clínicos además del mieloma y algunos tipos de linfomas.

Zangari et al (49) han hallado que el incremento de los niveles de fosfatasa alcalina durante el tratamiento con *Carfilzomib*, se asocian con una respuesta al tratamiento más favorable. Estos incrementos se produjeron, casi siempre, durante

el segundo ciclo de los tratamientos. Los aumentos de fosfatasa alcalina durante el segundo ciclo de tratamiento eran de 15U/L. No se detectaron incrementos de los niveles de fosfatasa alcalina en ningún paciente refractario al tratamiento. Se plantea la posibilidad de usar este parámetro bioquímico para evaluar la susceptibilidad del paciente al tratamiento con *Carfilzomib* más allá del primer ciclo de tratamiento.

INCERTIDUMBRES Y CONCLUSIONES

Han transcurrido tres lustros desde que el equipo de investigación dirigido por *Juian Adams* consiguiese llevar a cabo la compleja síntesis de *Bortezomib*, y demostrase su actividad *in vitro* e *in vivo* en diversos modelos farmacodinámicos de cáncer humano.

Durante este mismo íterin temporal, un conocimiento más pormenorizado del sistema “Ubiquitina-Proteosoma” ha hecho factible desarrollar fármacos cada vez más específicos frente las *ligasas E3* ⁽⁵⁰⁾ de la compleja estructura de la *Ubiquitina*.

El progreso es importante, pero algunas cuestiones continúan sin resolverse. Por ejemplo: ¿es más adecuado desarrollar moléculas específicas para una determinada proteasa del complejo proteosómico, o tal vez sea mejor lograr la inhibición simultánea de diversas proteasas?; siguiendo un estricto criterio farmacodinámico, en un determinado escenario clínico, ¿es más importante tener en consideración la concentración máxima ($C_{MÁX}$) o el Área Bajo la Curva (AUC, de su acrónimo en inglés *Area Under Curve*) [que representa la cantidad total de fármaco absorbido]?

No obstante éstas y otras cuestiones no resueltas, se puede concluir que *Carfilzomib* ocupará su lugar en el *armamentaria* farmacológico del tratamiento del mieloma múltiple (y tal vez en otros procesos neoplásicos), resolviendo aquellas situaciones clínicas donde los pacientes son refractarios o han recaído tras el tratamiento con *Bortezomib*, que continuará siendo el medicamento del primera elección. Además, la especificidad de acción sobre determinadas subunidades proteicas del proteosoma, parece soslayar la neuropatía periférica asociada a los tratamientos con *Bortezomib*.

Algunos ensayos clínicos en curso y la propia experiencia clínica hará posible encuadrar *Carfilzomib* en el tratamiento del mieloma múltiple refractario o recidivante, bien en régimen de monoterapia o integrado en protocolos de tratamiento más complejos.

Bibliografía:

1. López Tricas, JM. Proteosoma. <https://sites.google.com/a/info-farmacia.com/info-farmacia/bioquimica/proteosoma> En: www.info-farmacia.com [consultado: enero, 2013].
2. López Tricas, JM. Señalización celular. <https://sites.google.com/a/info-farmacia.com/info-farmacia/bioquimica/senalizacion-celular> En: www.info-farmacia.com [consultado: enero, 2013].
3. Adams J. The proteasome: A suitable antineoplastic target. *Nat Rev Cancer*. 2004; **4**:349-60.
4. Orłowski RZ, Kuhn DJ. Proteasome inhibitors in cancer therapy: Lessons from the first decade. *Clin Cancer Res*. 2008; **14**: 1649-1657.
5. McConkey DJ, Zhu K. Mechanisms of proteasome inhibitor action and resistance in cancer. *Drug Resist Updat*. 2008; **11**: 164-179.
6. Sterz J, Hahne JC, Lamottke B, *et al*. The potential of proteasome inhibitors in cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2008; **17**: 879-885.
7. Kisselev AF, Callard A, Goldberg AL. Importance of the different proteolytic sites of the proteasome and the efficacy of inhibitors varies with the protein substrate. *J Biol Chem*. 2006; **281**: 8582-8590.
8. Bennett MK, Kirk CJ. Development of proteasome inhibitors in oncology and autoimmune diseases. *Current Opin Drug Discov Devel*. 2008; **11**: 616-625.
9. Kastritis E, Zervas K, Symeonidis A, *et al*. Improved survival of patients with multiple myeloma after the introduction of novel agents and the applicability of the International Staging System (ISS): An analysis of the Greek Myeloma Study Group (GMSG). *Leukemia*. 2009; **23**: 1152-1157.
10. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, *et al*. A Phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med*. 2003; **348**: 2609-2617.
11. Demo SD, Kirk CJ, Aujay MA, *et al*. Anti-tumor activity of PR-171, a novel irreversible inhibitor of the proteasome. *Cancer Res*. 2007; **67**: 6383-6391.
12. Adams J, Behnke M, Chen S, *et al*. Potent and selective inhibitors of the proteasome: Dipeptidyl boronic acids. *Bioorg Med Chem Lett*. 1998; **8**: 333-338.
13. Dorsey BD, Iqbal M, Chatterjee S, *et al*. Discovery of a potent, selective, and orally active proteasome inhibitor for the treatment of cancer. *J Med Chem*. 2008; **51**: 1068-1072.
14. Kirk CJ, Bennett MK, Buchholz, TJ, *et al*. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and anti-tumor efficacy of PR-171, a novel inhibitor of the 20S proteasome. *Blood*. 2005; **106**: Abstr 609.
15. O'Connor OA, Stewart AK, Vallone M, *et al*. A Phase I dose escalation study of the safety and pharmacokinetics of the novel proteasome inhibitor carfilzomib (PR-171) in patients with hematologic malignancies. *Clin Cancer Res*. 2009; **15**: 7085-7091.
16. Rosen PJ, Gordon M, Lee PN, *et al*. Phase II results of Study PX-171-007. A Phase Ib/II study of carfilzomib, a selective proteasome inhibitor, in

- patients with selected advanced metastatic solid tumors. *J Clin Oncol.* 2009; **27** Suppl: 3515.
17. Lee P, Wong AF, Burris HA, *et al.* Updated results of a Phase Ib/II study of carfilzomib in patients with relapsed malignancies. *J Clin Oncol.* 2010; **28** (15 Suppl): 8147.
 18. Alsina M, Trudel S, Vallone M, *et al.* Phase I single agent antitumor activity of twice weekly consecutive dosing of the proteasome inhibitor carfilzomib (PR-171) in hematologic malignancies. *Blood.* 2007; **110** (Abstr 411).
 19. Khun DJ, Chen Q, Voorhees, *et al.* Potent activity of carfilzomib, a novel clinical irreversible inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, against pre-clinical models of multiple myeloma. *Blood.* 2007; **110**: 3281-3290.
 20. Suzuki E, Demo S, Arastu-Kapur S, *et al.* Bortezomib resistant cell lines have increased proteasome levels but remain sensitive to carfilzomib. *Blood.* 2009; **114** (Abstract 2852).
 21. Trudel S, Lee S, Kirk CJ, *et al.* Inhibition of the proteasome in bone marrow derived CD138+ tumor cells following carfilzomib administration in relapsed and refractory myeloma patients. *Blood.* 2009; **114** (Abstract 1845).
 22. Wang L, Kumar S, Fridley BL, *et al.* Proteasome β subunit pharmacogenomics: Gene resequencing and functional genomics. *Clin Cancer Res.* 2008, **14**: 3503.
 23. Stapnes C, Doskeland A, Hatfield K, *et al.* The proteasome inhibitors bortezomib and PR-171 have antiproliferative and proapoptotic effects on primary human acute myeloid leukemia cells. *Br J Haematol.* 2007; **136**: 814-828.
 24. Dasmahapatra G, Lembersky D, Kramer L, *et al.* The pan-HDAC inhibitor Vorinostat potentiates the activity of the proteasome inhibitor Carfilzomib in human DLBCL cells in vitro and in vivo. *Blood.* 2003; **115**: 4478-4487.
 25. Jagannath S, Vij R, Stevart K, *et al.* Final results of PX-171-003, part I of open-label, single arm, Phase II study of carfilzomib (CFZ) in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2009; **27** (15 Suppl): 8504.
 26. Kuhn DJ, Hunsucker SA, Voorhees PM, *et al.* Targeted inhibition of the proteasome is a potent strategy against models of myeloma that overcome resistance to conventional drugs and nonspecific proteasome inhibitors. *Blood.* 2009; **113**: 4667-4676.
 27. Goy A, Younes A, McLaughlin P, *et al.* Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005; **23**: 667-675.
 28. O'Connor OA, Wright J, Moskowitz C, *et al.* Phase II clinical experience with the novel proteasome inhibitor bortezomib in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma and mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005; **23**: 676-684.

29. Strauss SJ, Maharaj L, Hoare S, *et al.* Bortezomib therapy in patients with relapsed or refractory lymphoma: Potential correlation of in vitro sensitivity and tumor necrosis factor alpha response with clinical activity. *J Clin Oncol.* 2006; **24**: 2105-2112.
30. Fisher RI, Bernstein SH, Kahl BS, *et al.* Multicenter Phase II study of bortezomib in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2006; **24**: 4867-4874.
31. Belch A, Kouroukis, CT, Crump M, *et al.* A Phase II study of bortezomib in mantle cell lymphoma: The National Cancer Institute of Canada. Clinical Trials Group trial IND.150. *Ann Oncol.* 2007; **18**: 116-121.
32. Gerecitano J, Portlock C, Moskowitz C, *et al.* Phase II study of weekly bortezomib in mantle cell and follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 2009; **146**: 652-655.
33. Berenson JR, Yang HH, Vescio RA, *et al.* Safety and efficacy of bortezomib and melphalan combination in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: Updated results of a Phase ½ study after longer follow-up. *Ann Hematol.* 2008; **87**: 623-631.
34. Popat R, Oakervee H, Williams C, *et al.* Bortezomib, low-dose intravenous melphalan, and dexamethasone for patients with relapsed multiple mieloma. *Br J Haematol.* 2009; **144**: 887-894.
35. Pineda-Roman M, Zangari M, van Rhee F, *et al.* VTD combination therapy with bortezomib-thalidomide-dexamethasone is highly effective in advanced and refractory multiple myeloma. *Leukemia.* 2008; **22**: 1419-1427.
36. Reece DE, Piza G, Trudel S, *et al.* A Phase I-II trial of bortezomib plus oral cyclophosphamide and prednisone for relapsed/refractory multiple mieloma. *Blood.* 2006; **108**: Abstract 3536.
37. Kropff M, Bisping G, Schuck E, *et al.* Bortezomib in combination with intermediate-dose dexamethasone and continuous low-dose oral cyclophosphamide for relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2007; **138**: 330-337.
38. Hajek R, Zahradova L, Gregora E, *et al.* The reduced intensity CVD régime: A good option with well-balanced efficacy/toxicity ratio for elderly patients with por status performance. *Blood.* 2008; **112**: Abstract 3699.
39. Lee SS, Suh C, Kim BS, *et al.* Bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) combination therapy followed by thalidomide and dexamethasone (TD) as a salvage treatment for relapsed multiple myeloma (MM): Preliminary analysis of efficacy and safety. *Blood.* 2007; **110**: Abstract 2731.
40. Palumbo A, Gay F, Bringhen S, *et al.* Bortezomib, doxorubicin and dexamethasone in advanced multiple myeloma. *Ann Oncol.* 2008; **19**: 1160-1165.

41. Richardson P, Jagannath S, Jakubowiak A, *et al.* Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed/refractory multiple myeloma (MM): Encouraging response rates and tolerability with correlation of outcome and adverse cytogenetics in a Phase II study. *Blood*. 2008; **112**: Abstract 1742.
42. Poenisch W, Bourgeois M, Wang SY, *et al.* Bortezomib in combination with bendamustine and prednisone in the treatment of patients with refractory/relapsed multiple myeloma. *Blood*. 2007; **110**: Abstract 2723.
43. Palumbo A, Ambrosini MT, Benevolo G, *et al.* Bortezomib, melphalan, prednisone, and thalidomide for relapsed multiple myeloma. *Blood*. 2007; **109**: 2767-2772.
44. Terpos E, Heath DJ, Zervas K, Dimopoulos MA. The effect of bortezomib monotherapy and bortezomib-based regimens on bone metabolism in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. Paper presented at: *Haematologica*. 2007; **92**: 133 [4th International Workshop on Waldenström's macroglobulinemia. Kos, Greece, 25-30/6/2007].
45. Ciolli S, Leoni F, Casini C, Breschi C, Santini V, Bosi A. The addition of liposomal doxorubicin to bortezomib, thalidomide and dexamethasone significantly improves clinical outcome of advanced multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2008; **141**: 814-819.
46. Kim YK, Lee JJ, Sohn SK, *et al.* Clinical efficacy of VEL-CDT (bortezomib, cyclophosphamide, thalidomide and dexamethasone) regimen in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: A Phase II study. *Blood*. 2008; **112**: Abstract 3693.
47. Niesvizky R, Bensinger W, Wallone M, *et al.* PX-171-006: Phase Ib multicenter dose escalation study of carfilzomib plus lenalidomide and low-dose dexamethasone in relapsed and refractory MM: Preliminary results. *J Clin Oncol*. 2009; **27** (15 Suppl): 8514.
48. Bensinger W, Wang M, Orłowski RZ, *et al.* Dose escalation study of carfilzomib plus lenalidomide plus low-dose dexamethasone in relapsed and refractory MM. *J Clin Oncol*. 2010; **28** (15 Suppl): 8029.
49. Zangari M, Polavaram L, Zhan F, *et al.* Alkaline phosphatase variation during carfilzomib treatment is associated to best response in multiple myeloma. *Blood*. 2009; **114**: Abstract 2895.
50. Chen Q, Xie W, Kuhn DJ, *et al.* Targeting the p27 E3 ligase SCF^{SKP2} results in p27- and Skp2-mediated cell-cycle arrest and activation of autophagy. *Blood*. 2008; **111**: 4690-4699.

Zaragoza, 25 de febrero de 2013

Dr. José Manuel López Tricas

Farmacéutico especialista Farmacia Hospitalaria

Página web: www.info-farmacia.com

Zaragoza