

Études non cliniques sur les produits dérivés du plasma et les produits analogues

### DIAPOSITIVE 1

Cette présentation a trait à la Division of Hematology (division d'hématologie), ou DH, de l'Office of Blood Research and Review (bureau de la recherche et de l'examen du sang) du CBER et à la façon dont elle examine les études non cliniques et précliniques effectuées à l'appui des demandes de produits qui la concernent.

### DIAPOSITIVE 2

Comme vous le savez sans doute, le CBER a trois bureaux : l'Office of Vaccines (bureau des vaccins), l'Office of Cellular Tissue and Gene Therapies (bureau des thérapies cellulaires, tissulaires et géniques) et l'Office of Blood (bureau du sang). L'Office of Blood comporte trois divisions : la Division of Blood Applications (division des applications du sang, ou DBA, la Division of Hematology, ou DH, et la Division of Emerging and Transfusion-Transmitted Diseases (division des maladies émergentes et des maladies transmises par transfusion), ou DETTD.

### DIAPOSITIVE 3

Cette présentation porte sur la réglementation des produits à la Division of Hematology. La division a quatre laboratoires. Le Laboratory of Plasma Derivatives (laboratoire de dérivés du plasma) régleme les immunoglobulines, les antitoxines, les antivenins ainsi que d'autres produits, notamment l'inhibiteur de la protéase alpha-1, utilisés dans les anomalies congénitales.

Le Laboratory of Hemostasis (laboratoire d'hémostase), ou LH, régleme une large gamme de produits intervenant dans la coagulation, par exemple les facteurs de coagulation, qui peuvent être dérivés du plasma, ou les protéines analogues, issues de la technologie recombinante. Ce laboratoire régleme aussi les pansements de blessures et les produits biologiques-dispositifs combinés. Ces dispositifs sont différents des dispositifs mentionnés dans la présentation intitulée « Examen des dispositifs médicaux au CBER ». En ce qui concerne les produits biologiques-dispositifs qui sont examinés dans le Laboratory of Hemostasis, seule la partie produits biologique est examinée, et non la partie dispositif. Cette dernière est contrôlée par le CDRH, le Center for Devices and Radiological Health (centre pour les dispositifs et la santé radiologique). Le Laboratory of Biochemistry and Vascular Biology (laboratoire de biochimie et de biologie vasculaire) régleme les protéines vasculaires, les expanseurs de volume, les transporteurs artificiels d'oxygène et les inhibiteurs d'enzymes, tels que l'hémine.

Le Laboratory of Cellular Hematology (laboratoire d'hématologie cellulaire), ou LCH, régleme les produits cellulaires, tels que les globules rouges, les leucocytes, les dispositifs de stockage du plasma, les anticoagulants et les dispositifs de collecte.

Comme vous le voyez, la division DH régleme une large gamme de produits, à commencer par les produits dérivés du sang et du plasma, qui sont utilisés depuis longtemps dans les essais cliniques et qui donnent de bons résultats de sécurité, ainsi que

les protéines recombinantes analogues. Il y a également des produits très nouveaux, tels que les transporteurs artificiels d'oxygène.

#### DIAPOSITIVE 4

Sur quelle base juridique la FDA se fonde-t-elle pour effectuer des études sur les animaux ? Premièrement, les termes « études sur les animaux », couramment utilisés, sont interchangeables avec les termes « laboratoire non clinique » ou études « précliniques ». Tous ces termes figurent dans cette présentation.

En ce qui concerne les produits biologiques, ils relèvent de la loi intitulée Public Health Service Act (loi sur le service de santé publique). Cette loi établit les critères d'homologation des produits biologiques, une condition obligatoire de leur introduction dans le commerce entre États. Le Code des réglementations fédérales, ou CFR, stipule que lorsqu'une entreprise veut faire homologuer un produit, elle doit adresser une demande d'homologation de produit biologique, ou BLA. Dans cette BLA, l'entreprise est tenue d'inclure des données dérivées d'études de laboratoires non cliniques et d'études cliniques démontrant la sécurité, la pureté et l'efficacité des produits – en d'autres termes, leur sécurité et leur efficacité lorsqu'ils sont utilisés sur les êtres humains.

Pour que soient menées ces études cliniques, le sponsor doit déposer une IND, c'est à dire une « demande de drogue nouvelle de recherche ». Dans cette demande, les études non cliniques doivent démontrer que le produit biologique en question présente des caractéristiques de sécurité adéquates. En d'autres termes, les études menées sur les animaux doivent démontrer qu'il est raisonnablement sûr de démarrer l'étude proposée sur des êtres humains. Alors seulement l'étude clinique peut commencer.

#### DIAPOSITIVE 5

Quel est l'objectif des études non cliniques ? Les études non cliniques menées sur les animaux – également appelées études de « pharmacologie et de toxicologie », ou études PT – permettent d'évaluer la toxicité potentielle sur les sujets cliniques.

#### DIAPOSITIVE 6

On ne peut pas parler de toxicologie sans mentionner le test de toxicité générale, critère de base des tests de toxicologie. Le test de toxicité générale est une étude menée sur les animaux ; il peut être mené sur des rats, mais aussi sur des souris et parfois sur des chiens et des singes. Il est conçu comme une étude clinique. Il fait intervenir des groupes expérimentaux et des groupes de contrôle. Il comporte une méthode de contrôle des biais, par exemple la randomisation. Sa fourchette de doses s'échelonne des doses faibles aux doses élevées. Elle permet d'établir une relation dose-effet sur la toxicité observée. Par exemple, vous pouvez avoir ce type de réaction : dose faible, effet sans danger. Une dose moyenne indique une certaine toxicité. Lorsque la dose est élevée, la toxicité est confirmée, voire même exacerbée.

Le test de toxicité générale permet par ailleurs d'établir s'il n'y a « aucun niveau d'effet adverse observé » ou « aucun niveau d'effet observé ». En toxicologie, ces niveaux

permettent d'établir la dose à laquelle un composé peut être utilisé sans danger ; il y a donc une garantie que le composé peut être utilisé sans danger à dose pharmacologique.

#### DIAPOSITIVE 7

Le test de toxicité générale est exhaustif et détaillé. Qu'est-ce que cela signifie en pratique ? Voici les différents volets de ce test : il incorpore des observations cliniques qui ont lieu plusieurs fois par jour sur les animaux en cage.

Ces observations sont basées sur un protocole préétabli, selon lequel le personnel du laboratoire manie les animaux et les observe attentivement à heures régulières durant la journée, par exemple avant et après le dosage, au cinquième jour et avant le sacrifice final, pour détecter des signes de toxicité.

Le test de toxicité générale fait intervenir l'examen de paramètres mesurables. Ces paramètres comprennent des tests de chimie clinique, tels que les enzymes hépatiques, des analyses de sang, telles que la coagulation, des tests d'hématocrite, une pathologie clinique, telle que l'aspect et le poids des organes, et une histopathologie des principaux organes physiologiques ; en d'autres termes, il s'agit de faire des coupes de chaque organe ou tissu d'intérêt et de les examiner au microscope pour découvrir des signes de toxicité.

#### DIAPOSITIVE 8

Le test de toxicité générale peut être exploratoire ; il peut aussi être un test de confirmation. Par exemple, il est vain d'utiliser des doses toxiques au point que tous les animaux meurent pendant l'expérience. Souvent, dans une première étude, appelée étude exploratoire, on utilise plusieurs doses pour établir celles qui seraient susceptibles d'être utiles dans une étude de confirmation. Ensuite, au cours de l'étude principale, on utilise trois groupes – un avec une dose où l'on n'observe aucun effet sur le bien-être de l'animal, un autre avec une dose où l'on observe une certaine toxicité ou des signes préalables à une toxicité véritable, et un avec une dose confirmant la toxicité. Un tel concept est très instructif, car il permet non seulement d'établir le profil de toxicité du produit, mais aussi de concevoir une étude clinique qui garantit la sécurité des patients.

Le test de toxicité générale peut être aigu, mais il s'agit en général d'un test par administration réitérée, qui est le plus instructif. Il peut aussi être personnalisé. On peut ajouter des paramètres pharmacologiques de sécurité, par exemple la mesure des gaz pulmonaires. Cette présentation couvrira un peu plus tard la pharmacologie de sécurité. On peut également ajouter des paramètres d'immunogénicité et mesurer la réponse par anticorps.

Le cas échéant, on peut ajouter une histopathologie plus détaillée. Par exemple, si l'effet toxique du produit biologique ou du médicament comprend la toxicité sur le système nerveux central, on peut collecter et analyser davantage de coupes de cerveau, puis les examiner pour observer si elles présentent des signes de toxicité.

Après avoir répertorié tous ces critères sur le test de toxicité générale, la question à poser est la suivante : y a-t-il une approche uniforme ? Peut-on concevoir un test de toxicité générale susceptible d'être utilisé pour tester la toxicité de tous ces produits ? La réponse est non.

La raison tient au nombre et à l'ampleur des produits réglementés par le CBER. Pour certains produits très anciens, la toxicité en essais cliniques est bien connue. Il n'est donc pas nécessaire de mener une étude très approfondie. L'approche doit dans ce cas être plus concentrée et dirigée. Mais certains produits sont si nouveaux qu'ils doivent être étudiés de façon plus exhaustive, car on ne connaît pas toutes les toxicités susceptibles de surgir.

#### DIAPOSITIVE 9

Un autre facteur rend la réglementation des produits biologiques plus complexe que celle des petites molécules. Il a trait à la complexité structurelle des produits biologiques.

Voici un exemple :

Ceci est la formule développée de la warfarine, qui est un anticoagulant à petite molécule. La formule développée est une représentation sous forme de graphique de la structure chimique d'un composé. Une fois que l'on connaît la formule développée de la warfarine et qu'on l'a inscrite, on sait ce qu'est le produit pharmaceutique. Synthétiser la formule développée signifie synthétiser la warfarine.

Ceci est un dessin humoristique de la structure de l'antithrombine III, une protéine et un produit biologique homologués pour être utilisés dans certains cas où l'on utilise également la warfarine. Toutefois, la similarité s'arrête là.

Quand on parle de la structure chimique de l'antithrombine III, on peut faire référence à sa séquence ou sa « structure primaire ». Il convient toutefois de noter que sa formule développée ne s'affiche pas de la même manière que celle de la warfarine. Il n'y a pas suffisamment d'espace sur cette diapositive pour afficher la formule développée complète de l'antithrombine III. La raison tient au fait que la structure primaire de l'antithrombine III est importante, beaucoup plus que celle de la warfarine. Elle contient 430 acides aminés, des sucres et des ions. Par ailleurs, même si l'on inscrit ces 430 acides aminés, sucres et ions, on n'obtient pas d'antithrombine III. Et surtout, synthétiser ces 430 acides aminés, sucres et ions ne permet pas d'obtenir de l'antithrombine III.

#### DIAPOSITIVE 10

La raison tient au fait que, outre une structure primaire, l'antithrombine III a également une structure secondaire. C'est à dire qu'elle a des spirales, des boucles et des feuillet bêta dans différentes parties de sa séquence. Par ailleurs, l'antithrombine III a également une structure tertiaire, appelée aussi structure globale, qui dans ce cas est maintenue par les trois liaisons disulfure qu'elle contient. De nombreuses protéines peuvent aussi avoir une structure quaternaire due à l'homodimérisation ou à l'hétérodimérisation.

Par conséquent, la structure de l'antithrombine III et des autres produits biologiques est très complexe. En raison de cette complexité, il convient de prendre en compte leur

structure lorsqu'on évalue leur efficacité et leur sécurité. Il faut s'assurer que les structures primaire, secondaire et tertiaires sont correctes pour être certain que le produit biologique est sûr et efficace.

#### DIAPOSITIVE 11

La FDA a publié des documents d'orientation sur la conception d'un programme d'évaluation de la toxicité des produits biologiques qui tient compte de leur complexité. Deux documents d'orientation précisent la batterie d'études non cliniques permettant d'évaluer la sécurité des produits pharmaceutiques. Le plus utilisé est l'ICH S6, intitulé « Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology- Derived Pharmaceuticals » (évaluation de sécurité préclinique des produits pharmaceutiques dérivés de la biotechnologie). Ce document s'applique à la plupart des produits réglementés dans la Division of Hematology, car ils sont en fait dérivés d'un programme de fabrication en biotechnologie.

Un autre document d'orientation ayant trait à l'évaluation préclinique de sécurité est le ICH M3, intitulé « Nonclinical Safety Studies for Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals » (études de sécurité non cliniques pour la conduite d'essais cliniques de produits pharmaceutiques sur des sujets humains).

#### DIAPOSITIVE 12

Cette diapositive présente une comparaison en vis à vis des documents d'orientation ICH-S6 et ICH-M3 (il convient de noter qu'à la date de rédaction de cette présentation, des révisions des deux documents étaient en cours à l'ICH). Il est clair que toutes deux se recouvrent sous bon nombre d'aspects. Toutes deux recommandent des études de sécurité pharmacologique, l'évaluation de l'exposition par le biais d'études pharmacocinétiques et toxicocinétiques, d'études de toxicité par administration unique, d'études de toxicité à doses répétées, d'études de performance productive, de toxicité générale et de cancérogénicité.

Il y a toutefois deux critères spécifiques dans le document S6 qui ont une importance particulière en matière de produits biologiques : la spécification des matériels de test et les études d'immunotoxicité. Pourquoi ?

#### DIAPOSITIVE 13

Premièrement, pourquoi est-il important de spécifier les matériels de test ? Ainsi que mentionné au sujet de la structure complexe d'un produit biologique, la spécification des matériels de test doit prendre en compte l'intégrité structurelle du produit biologique, en d'autres termes ses structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaires, qui sont toutes indispensables pour établir la puissance de l'activité du produit biologique.

Spécifier les matériels de test signifie aussi prendre en compte la glycosylation et autres modifications post-traductionnelles, qui jouent un rôle capital dans la clairance du produit biologique. Celle-ci devient un paramètre essentiel pour établir la dose du produit biologique.

La question des impuretés a un rapport étroit avec la spécification des matériels de test. Étant donné que les produits biologiques résultent de matières premières complexes, tels que le sang ou la culture cellulaire, le mélange contient beaucoup de protéines. À partir du mélange, il faut purifier la protéine d'intérêt, à savoir le produit biologique. Ainsi, les impuretés du produit final peuvent dériver de substances qui se copurifient avec le produit biologique durant la purification.

La question des agents fortuits susceptibles d'être présents, tels que les virus ou les bactéries, entre également en ligne de compte pour le sang et les cultures cellulaires utilisés comme matières premières. Par conséquent, le processus de fabrication doit garantir que tous les agents potentiellement nuisibles sont supprimés. Le processus de purification est donc très souvent complexe et des impuretés résultant du processus de purification pourraient en fait être présentes dans le produit final.

Le document d'orientation S6 précise que l'accent doit être mis sur la purification. Concevoir un programme préclinique pour évaluer les impuretés n'est pas efficace. Le processus de purification doit garantir la purification totale de toutes les impuretés. Sinon, il est nécessaire d'effectuer une analyse – une évaluation du risque d'exposition des êtres humains aux impuretés. Cette analyse doit prendre en compte toutes les données tirées des études sur les animaux, des articles publiés et des études cliniques.

#### DIAPOSITIVE 14

La sécurité des excipients est un autre point d'intérêt spécial en matière de produits biologiques. Les excipients sont très souvent ajoutés à la formulation finale d'un produit biologique en raison de la nature même de celui-ci. Les produits biologiques sont souvent instables. Ils doivent être stables pour garantir l'efficacité, c'est pourquoi des excipients sont ajoutés à la formulation finale.

La FDA a publié un document d'orientation intitulé « Guidance for Industry Nonclinical Studies for the Safety Evaluation of Pharmaceutical Excipients » (document d'orientation sur les études non cliniques de l'industrie pour l'évaluation de la sécurité des excipients pharmaceutiques). Il clarifie et définit le programme à suivre pour garantir la sûreté des excipients. Cela dit, il faut mentionner que les nouveaux excipients sont rares. Les fabricants utilisent très souvent des excipients pour lesquels une base de données de sécurité existe déjà.

Par conséquent, lorsque la FDA reçoit une demande de nouveau produit biologique, elle vérifie l'excipient, en termes à la fois de sa quantité et de l'exposition prévue. Elle compare ensuite l'exposition avec celle d'autres produits homologués dont le profil de sécurité clinique est connu.

#### DIAPOSITIVE 15

La base de données TOXNET de la Bibliothèque nationale de médecine, qui fait partie des National Institutes of Health, est une source de référence très utile. Cette page web est entièrement consultable. Elle est aussi gratuite.

Le côté gauche de la diapositive présente la liste de toutes les bases de données consultables, entre autres une base de données sur les substances dangereuses, une base de données sur la cancérogénicité et une base de données en développement sur la génotoxicité, la toxicité pour la reproduction, et la génotoxicité. Cliquez sur la base de données, saisissez le nom d'un excipient chimique d'intérêt et vous avez accès à une mine d'informations sur les études connues qui ont été menées sur ce produit chimique.

#### DIAPOSITIVE 16

La base de données du National Toxicology Program, ou NTP, est elle aussi une très bonne source de référence sur les excipients. Le NTP fait partie du ministère de la Santé et des services sociaux. Il mène des recherches sur la cancérogénicité et sur la génotoxicité des produits chimiques. La base de données est entièrement consultable, très bien annotée et gratuite pour le public. La FDA peut également utiliser d'autres bases de données gratuites et exclusives ; ces deux bases de données ne sont mentionnées qu'à titre d'exemple.

#### DIAPOSITIVE 17

Cette diapositive présente l'exemple d'une situation à laquelle la FDA doit souvent faire face. Une nouvelle demande est adressée à la FDA, accompagnée de toutes les études menées sur les animaux ; elle utilise toutefois des matières qui, à la suite de modifications du processus de fabrication, sont différentes des matières du produit final pour lequel le fabricant demande l'homologation.

Par exemple, pendant le développement du produit, le fabricant peut avoir incorporé un traitement final par la chaleur ou une étape de nanofiltration durant le processus de fabrication pour rendre le produit plus sûr. Mais cette étape supplémentaire pendant le processus de fabrication peut avoir modifié le produit final. Étant donné que les produits biologiques sont si complexes, l'étape a peut-être modifié la structure chimique du produit ou son profil d'impuretés. La FDA doit donc savoir de quelle manière le produit final se compare au produit pour lequel des études ont été menées sur des animaux. Est-il aussi sûr et efficace ? Cette comparaison se nomme étude de comparabilité. Les études de comparabilité peuvent être menées in vitro et in vivo.

La FDA reçoit souvent des études in vitro comparant les structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire des deux produits. Elle vérifie les caractéristiques de glycosylation du produit final pour établir de quelle manière elles se comparent à celles du produit antérieur. Elle demande aux sponsors de mesurer l'activité, par exemple l'activité enzymatique, pour voir de quelle manière elle se compare à celle du produit antérieur.

Si la FDA n'est pas satisfaite de la comparabilité biochimique, c'est à dire si les deux produits ne présentent pas de comparabilité dans les études in vitro, des études de comparabilité peuvent alors être menées in vivo sur des animaux. Ce sont souvent des études pharmacocinétiques et des études de biodistribution, au cours desquelles on compare la disposition du produit antérieur à celle du produit final en examinant sa distribution, l'exposition totale, etc. Ces paramètres ont davantage trait à l'efficacité du produit biologique. Mais une étude de comparabilité peut aussi être une comparaison du

profil de sécurité. Dans ce type d'étude, on peut comparer la sécurité et la toxicité potentielle du produit antérieur à celles du produit final sur un animal. La FDA peut demander une telle étude si elle la juge nécessaire.

#### DIAPOSITIVE 18

Examinons certaines considérations spécifiques en matière d'immunogénicité. Pourquoi l'immunogénicité est-elle importante dans les produits biologiques ? Le corps d'un animal reconnaît les produits biologiques humains comme des substances étrangères. Celles-ci déclenchent par conséquent une réponse immunitaire chez les animaux. En termes simples, les animaux forment des anticorps contre le produit biologique humain ; la présence d'anticorps peut par conséquent brouiller les résultats et l'interprétation de l'étude, en particulier s'il s'agit d'une étude de toxicité à doses répétées.

Les études prévoient des doses répétées car l'immunogénicité n'apparaît pas immédiatement ; elle est en grande partie retardée. Étant donné que la formation d'anticorps peut en fait neutraliser l'effet du produit biologique, les données tirées de l'étude peuvent être brouillées. On peut penser que le produit ne présente pas de toxicité alors qu'en fait il n'est même pas actif dans l'animal, car il a été neutralisé par les anticorps. C'est pourquoi les produits biologiques font très souvent l'objet d'études de toxicité à doses répétées qui ne durent qu'une ou deux semaines, suivies d'une période d'observation de deux semaines après l'étude répétée, en raison du début de la réponse par anticorps.

#### DIAPOSITIVE 19

Même en sachant qu'on obtient une réponse immunitaire à une ou deux semaines, cette réponse immunitaire peut fournir d'importantes informations, en particulier quand on compare deux formulations différentes du même produit biologique. Par conséquent, la réaction d'immunogénicité doit souvent être caractérisée. Le type de réponse par anticorps, le nombre d'animaux présentant une réponse, ainsi que l'activité neutralisante, constituent tous d'importants renseignements pour l'interprétation des données de l'étude.

#### DIAPOSITIVE 20

Un autre aspect majeur de l'analyse d'immunogénicité d'un produit biologique est l'étude comparative d'immunogénicité sur les animaux. Par exemple, s'il y a déjà sur le marché une protéine dérivée du plasma ou un produit biologique ayant de bons antécédents d'immunogénicité chez les patients, il est indispensable de comparer sur les animaux l'immunogénicité du nouveau produit, par exemple un produit recombinant, au produit ayant de bons antécédents de sécurité. Cette procédure peut fournir d'importantes informations sur l'immunogénicité du nouveau produit recombinant.

#### DIAPOSITIVE 21

Un autre aspect présentant un intérêt en matière de produits réglementés dans la Division of Hematology a trait à une nouvelle voie d'administration d'un produit biologique existant. Supposons que des composés déjà sur le marché ont été approuvés, par exemple



pour une application intraveineuse, et que l'entreprise souhaite utiliser le même produit, mais pour l'administrer par voie sous-cutanée.

Un très bon document d'orientation, qui est encore en version préliminaire à l'heure actuelle, figure sur la page web de la FDA intitulée « Guidance for Industry and Review Staff, Nonclinical Safety Evaluation for Formulated Drugs and Products Intended for Administration by an Alternate Route » (document d'orientation pour l'industrie et le personnel d'examen, évaluation de sécurité non clinique des médicaments et produits destinés à être administrés par une voie alternée). Le document définit les méthodes d'évaluation de la sécurité d'une nouvelle voie d'administration.

Une série d'études recommandées est celle des études pharmacocinétiques complémentaires sur les animaux, qui comparent l'ancienne et la nouvelle voie d'administration. Quels renseignements peut-on tirer d'une telle étude ? On apprend plusieurs aspects relatifs à la dose et à l'efficacité de la nouvelle dose, mais aussi des points susceptibles d'être importants en termes d'analyse de la sécurité. Si vous constatez par exemple que la nouvelle voie d'administration entraîne une exposition accrue, disons lorsque la zone sous la courbe pour la nouvelle voie est plus importante pour la même dose, il conviendra alors de demander au sponsor d'étudier la toxicité de la nouvelle voie d'administration, car des quantités plus importantes du produit biologique sont présentes dans le corps.

La clairance est un autre facteur qui est comparé dans une étude complémentaire. Par exemple, si le produit biologique utilisé dans la nouvelle voie d'administration est libéré plus rapidement que par l'ancienne voie d'administration, il conviendra sans doute d'ajuster la dose dans l'essai clinique, car il y a maintenant une quantité moindre du médicament dans le corps. La possibilité de formation de néoantigène est un autre aspect souvent examiné ; il signifie qu'en administrant le produit biologique par une voie différente, on peut le rendre plus immunogène ; par conséquent, plus d'anticorps sont créés. Ceci est une possibilité et la FDA étudie cette réponse à l'aide de différentes méthodes, entre autres l'histopathologie du site local. L'immunogénicité du site local est par conséquent vérifiée par l'histopathologie en plus de l'évaluation de l'immunogénicité systémique.

## DIAPOSITIVE 22

Nous allons maintenant examiner les études pharmacologiques d'innocuité ; il s'agit d'un domaine d'étude pour lequel il y a de nombreuses informations sur la sécurité des produits biologiques. Ces études portent sur les toxicités spécifiques aux organes, par exemple les études sur la sécurité cardiovasculaire, l'hypertension et l'hypotension. Le potentiel de thrombogénicité d'un nouveau produit biologique est un autre facteur examiné de très près.

La batterie standard de ces études figure dans la directive de l'ICH appelée « 7A » que la FDA a mise en application, comme toutes les directives de l'ICH. Une autre mesure que les sponsors pourraient prendre, et qu'ils prennent souvent, est d'incorporer ces paramètres pharmacologiques d'innocuité dans l'étude de toxicité générale. Cette

méthode permet ainsi d'utiliser moins d'animaux en combinant les études et, de ce fait, d'affiner celles-ci.

### DIAPOSITIVE 23

Voici quelques cas que la FDA a rencontrés dans sa pratique quotidienne en examinant des demandes. Commençons par plusieurs constatations observées sur des animaux, qui n'ont pas été mises en évidence au cours d'études cliniques. L'exemple est celui d'une préparation d'immunoglobuline humaine qui a provoqué une hémolyse des globules rouges dose-dépendante, suivie d'une anémie sévère chez les lapins, comme dans l'anémie hémolytique.

Le sponsor a utilisé une formulation d'immunoglobuline approuvée, totalement sûre en essais cliniques et dont les antécédents de sécurité étaient prouvés, comme contrôle dans une étude sur les lapins. Toutefois, au cours de cette étude, certains lapins ont souffert d'une anémie hémolytique où les globules rouges avaient des poux. Après investigation, on a constaté que cette toxicité était dose-dépendante et que, à doses élevées, elle a entraîné le décès de tous les lapins.

Les globules rouges des lapins contiennent 1-3 de galactose dans leurs parois cellulaires. Les cellules humaines ne contiennent toutefois pas cette modification, et 1 % des immunoglobulines circulant dans notre sang sont des immunoglobulines anti-gal. Il a donc été établi que le produit d'origine humaine contenait des anticorps qui se sont liés aux globules rouges des lapins et ont causé une hémolyse. Ce fait explique la corrélation dose-réponse observée – à dose plus élevée correspondait une quantité plus élevée d'anticorps et une anémie hémolytique plus sévère.

Qu'a-t-on appris de cette étude ? Que la dose doit être limitée dans les études sur les lapins. Une dose moindre dans ce modèle permet également d'obtenir une image plus réaliste de la toxicité qui n'est pas masquée par l'artéfact dépendant du modèle, à savoir l'anémie hémolytique. Il convient de noter que les études sur les lapins ont été très importantes car elles ont servi de modèle pour une maladie spécifique. Par conséquent, il n'a pas été possible d'utiliser un autre modèle d'animal.

### DIAPOSITIVE 24

Le troisième exemple est celui d'une approbation. La demande avait trait à un produit biologique dont l'ingrédient actif était une protéine recombinante humaine. Le produit était indiqué pour la prévention d'événements thrombotiques chez les patients qui présentaient une carence héréditaire de cette protéine. Le processus de purification comprenait une nanofiltration et un traitement final à la chaleur sèche pour la suppression et l'inactivation des virus.

### DIAPOSITIVE 25

Plusieurs études toxicologiques de sécurité ont été menées à l'appui de la demande. Des études à dose unique ont été réalisées sur des rats et des chiens. Il y a eu des études à doses répétées. Deux études de 28 jours ont été menées sur des rats ; l'une d'elle a inclus une toxicocinétique pour mesurer l'exposition. Une étude de quatorze jours a été réalisée

sur des singes. Des études ont également été menées sur la reproduction chez les rats, ainsi que des études de génotoxicité in vitro et in vivo.

#### DIAPOSITIVE 26

Cette diapositive présente la conception et la conclusion des études de sécurité. Ces études ont été menées conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, avec évaluation du dosage et contrôle. Les doses les plus fortes utilisés dans les études de toxicité aiguë et dans les études répétitives ont été d'environ 9 fois la dose maximum quotidienne et d'environ 5 fois la dose maximum quotidienne chez les êtres humains, y compris dans les études sur la reproduction. Mais surtout, les toxicités observées à la dose la plus forte étaient dues à un effet pharmacologique exagéré au niveau de la dose humaine multiple. Toutes étaient transitoires et il n'y a pas eu d'effet neutralisant dû à la formation d'anticorps ; les résultats des études répétitives ont donc pu être bien interprétés.

#### DIAPOSITIVE 27

Voici un tableau des études de pharmacocinétique et de biodistribution menées durant le stade préclinique de développement de ce produit biologique. Elles ont compris la toxicocinétique chez les chiens et les rats, la comparaison de différents lots de processus de développement et plusieurs études comparant le produit recombinant et le plasma humain, par exemple chez les singes, mais aussi chez les rats.

#### DIAPOSITIVE 28

Certaines études de pharmacocinétique et de biodistribution ont été menées à la suite d'une modification du processus de fabrication et après la fin des études de toxicité sur les animaux. Cette modification du processus de fabrication a inclus l'ajout d'une étape de nanofiltration et de traitement final à la chaleur sèche. Ces étapes ont provoqué des modifications des profils d'agrégation et de déamidation du produit biologique. C'est pourquoi l'entreprise a mené des études de pharmacocinétique et de biodistribution sur les animaux. Les paramètres de pharmacocinétique provenant de deux études différentes utilisant des produits traités à la chaleur et non traités à la chaleur, respectivement, font état de valeurs similaires de clairance, d'exposition systémique et de demi-vie chez les rats. On a ainsi constaté qu'il n'y avait pas de différence d'exposition et de distribution de ce produit biologique après modifications.

#### DIAPOSITIVE 29

Ainsi que mentionné, les études de comparabilité comprennent une comparaison entre l'ancien et le nouveau produit, qui est un produit recombinant. Cette procédure fait souvent intervenir la comparaison d'un produit pour lequel il existe une base de données de sécurité substantielle à un nouveau produit. C'était également le cas pour cette demande. Il existe un produit dérivé du plasma qui est analogue au produit ayant fait l'objet de cette demande. Ce produit existant est sur le marché depuis de nombreuses années et la FDA connaissait ses antécédents d'utilisation sûre et efficace. Une comparaison a donc été effectuée entre la pharmacocinétique du produit existant dérivé du plasma et le nouveau produit biologique potentiel.

La comparaison a permis de constater que les mécanismes de clairance du produit dérivé du plasma et du produit recombinant étaient différents. Le produit recombinant a été éliminé plus rapidement car il a été reconnu par les récepteurs du foie ; ceux-ci n'ont pas reconnu le produit dérivé du plasma. Ainsi, sa clairance a été six fois plus rapide que pour le produit dérivé du plasma. Ces données de clairance ont été très utiles pour établir la dose humaine de départ dans l'essai clinique, car on savait désormais qu'il convenait de doser différemment et plus souvent, en raison de la clairance plus rapide.

### DIAPOSITIVE 30

Voici un tableau général des informations que procurent à la FDA les études pharmaceutiques/toxicologiques. Dans les études non cliniques sur les animaux, la FDA prend connaissance de faits sur la toxicité possible du produit. En d'autres termes, elle examine les réactions toxiques susceptibles d'accompagner l'utilisation des produits biologiques.

La FDA apprend à connaître la dose à laquelle ces toxicités deviennent évidentes. Et surtout, elle apprend à connaître la forme de la courbe de réponse toxicité/dose. Ce fait est important car lorsque la courbe est forte, c'est à dire que la toxicité initiale est faible mais qu'elle augmente très vite, il convient de procéder avec beaucoup de précaution pour augmenter les doses dans l'essai clinique. Ces informations sont importantes à connaître avant de mener une étude clinique.

La FDA apprend également à connaître les signes et symptômes susceptibles de précéder la toxicité complète. Par exemple, on sait que si l'on constate une thrombocytopenie chez un patient, il convient d'être vigilant, car elle pourrait précéder une coagulation disséminée, à savoir une réaction toxique beaucoup plus sévère. On apprend aussi des faits sur la toxicité spécifique aux organes, par exemple la toxicité pulmonaire ou la toxicité hépatique.

On apprend également que l'effet toxique peut être réversible, par exemple si une augmentation des enzymes du foie a un rapport avec une activité enzymatique accrue due à la clairance, elle est réversible, ou si elle est due à des lésions permanentes au foie en raison d'une toxicité spécifique à un organe.

Il s'agit là d'aspects critiques dont il convient de tenir compte pour prendre une décision sur l'utilisation clinique, les doses et la conception de l'étude clinique.

### DIAPOSITIVE 31

Comment utilise-t-on toutes ces informations ? La FDA les utilise bien entendu pour prendre des décisions sur le produit biologique. Le mot clé dans toute la présentation a été la sécurité. Par conséquent, les décisions sont prises en fonction de la sécurité du produit biologique. La FDA protège la sécurité des patients ou des participants aux essais cliniques en utilisant une dose de départ sûre, en ajoutant des tests spécifiques pour surveiller les signes spécifiques de toxicité et, au final, en refusant d'autoriser l'étude clinique si celle-ci n'est pas sûre. Dans certains cas, c'est une décision que la FDA prend lorsque la toxicité est trop élevée et qu'elle estime qu'il est dangereux de poursuivre

l'étude sur des sujets humains. L'expression utilisée pour la nouvelle drogue de recherche est « mise en attente ». Dans ce cas, le produit biologique n'est pas utilisé dans l'essai clinique tant qu'il n'est pas prouvé sûr et que la conception de l'essai clinique n'est pas sûre. Les informations tirées des études sur les animaux peuvent permettre à la FDA de faire en sorte que la conception de l'étude soit sûre. Par exemple, ainsi que mentionné, l'incorporation de critères d'exclusion des populations à haut risque peut améliorer la conception de l'étude clinique et rendre la poursuite des essais sûre après une mise en attente clinique.

En conclusion, ces informations permettent au patient et aux chercheurs médicaux de prendre une décision éclairée. C'est pourquoi elles figurent dans la notice d'accompagnement de la boîte et dans celle du patient, afin que le chercheur et le patient puissent prendre des décisions éclairées en matière de traitement médical.

#### DIAPOSITIVE 32

Nous terminons donc par où nous avons commencé : « la toxicité montre la voie de la sécurité ».

#### DIAPOSITIVE 33

Voici des sites web utiles.

#### DIAPOSITIVE 34

Ceci conclut la présentation « Études non cliniques sur les produits dérivés du plasma et les produits analogues ».

Nous souhaitons remercier les personnes qui ont contribué à son élaboration. Merci.