

Gebruik van **niet-humane primaten** (NHP) voor de ontwikkeling van **biosimilars**

Inleiding

Het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) wil dierproeven met Non-Human-Primates (NHP) voor de ontwikkeling van biosimilar geneesmiddelen beperken. Ethische overwegingen rondom proefdiergebruik pleiten ervoor het gebruik van NHP voor preklinische comparability studies van biosimilars te ontmoedigen.

Het CBG wil dat dierproeven met NHP's alleen worden uitgevoerd als adequaat chemisch-farmaceutisch kwaliteitsonderzoek in combinatie met geschikte *in vitro* onderzoeken zoveel onzekerheid overlaat dat het gebruik van een biosimilar in een klinisch onderzoek niet verantwoord wordt geacht.

De klinische werkzaamheid en risico's (waarbij vooral de immunogeniteit van belang is) moeten in klinisch onderzoek worden bestudeerd. De resultaten van die onderzoeken - samen met de kwaliteitsgegevens en de preklinische *in vitro* data - zijn dan voldoende voor een aanvraag voor toelating op de markt van een biosimilar.



1. Achtergrond

Biosimilar geneesmiddelen zijn definitief op de markt. Nadat eerst relatief eenvoudige middelen als groeihormoon en filgrastim de markt hebben bereikt, volgen nu ook meer complexe moleculen zoals epoetine [1]. Ook voor interferonen zijn aanvragen voor toelating op de markt gedaan. De meest recente ontwikkeling op het gebied van de biosimilars is de ontwikkeling van biosimilar monoklonale antilichamen (Mabs). De complexiteit van mAbs is nog weer groter. Ze zijn niet alleen groter, maar hebben ook meerdere functionele delen die van belang zijn voor de werking en veiligheid.

Omdat - behalve de werking - ook de ongewenste effecten van een mAb gerelateerd zijn aan de farmacologische werking van het mAb, moet preklinisch *in vivo* veiligheidsonderzoek uitgevoerd worden in een diersoort die een farmacologische gevoeligheid voor het mAb heeft. Vanwege de grote specificiteit van mAbs heeft dit tot gevolg dat in de meeste gevallen alleen Non-Human-Primates (NHP) als relevante testspecies worden gezien. Maar ook voor andere biosimilars worden NHP soms aangewend als testspecies, hoewel de noodzaak daarvoor niet altijd even duidelijk is.

Gelet op de ethische vraagstukken die verband houden met proefdiergebruik in het algemeen en het gebruik van NHP voor dierproeven in het bijzonder, is het van belang nut en noodzaak van het gebruik van NHP voor de ontwikkeling van biosimilar geneesmiddelen kritisch te beschouwen. Dit aspect is het kernpunt van deze notitie.

2. Inbedding in de Europese regelgeving

Omdat de biologicals zich vanwege hun aard niet volledig laten karakteriseren door chemisch-farmaceutische en biologische testen is specifieke regelgeving ontwikkeld. Daarin is vastgelegd dat 'comparability' tussen het referentieproduct en het biosimilar product aangetoond dient te worden met preklinisch en klinisch onderzoek [2, 3].

In vervolg op eerdere algemene regelgeving [2, 3] zijn richtsnoeren ontwikkeld voor specifieke productgroepen zoals [Recombinant Granulocyte-Colony Stimulating Factor](#), [Recombinant Human Insulin](#), [Low Molecular Weight Heparins](#) en [Recombinant Erythropoietins](#). Het is de bedoeling dat dit ook gebeurt voor mAbs [4].

Hoewel het biosimilar mAbs richtsnoer er nog niet is, is een standpuntbepaling over de eisen die gesteld worden aan de ontwikkeling van biosimilar mAbs wel actueel. Deze producten zijn in ontwikkeling, en het CBG en de European Medicines Agency (EMA) zijn diverse keren om wetenschappelijk advies gevraagd over de ontwikkeling van biosimilar mAbs.

Het CBG richt zich niet op de goedkeuring van klinisch onderzoek, maar op de toelating tot de markt van geneesmiddelen. Ook het wetenschappelijke comité voor geneesmiddelen voor menselijk gebruik (CHMP) van de EMA oordeelt over de toelating van geneesmiddelen. Toch is het van belang om bij de ontwikkeling van biosimilar mAbs rekening te houden met eisen die van belang zijn voor de goedkeuring van klinisch onderzoek. Enerzijds omdat hierover wetenschappelijk advies wordt gevraagd, anderzijds omdat in andere landen de goedkeuring van klinisch onderzoek en de toelating tot de markt door dezelfde autoriteit wordt afgegeven. Als gevolg daarvan wordt door vertegenwoordigers van andere lidstaten tijdens Europees overleg ook aandacht gevraagd voor de preklinische eisen voor klinisch onderzoek.

3. Standpunt bepaling

De discussie rond de 'biosimilarity' benadering voor biologicals is gecentreerd rond het idee dat biologicals mogelijk niet volledig gekarakteriseerd kunnen worden door chemisch-farmaceutische en biologische testen. Zelfs wanneer er van biosimilarity sprake is vanuit kwaliteitsoogpunt, kunnen er - zo redeneert men - nog altijd subtiele verschillen zijn die niet met de kwaliteitstesten zijn opgemerkt, maar uiteindelijk toch tot verschillen in werkzaamheid en veiligheid kunnen leiden.

Óf – wat in de praktijk veel eerder het geval zal zijn – door het chemisch-farmaceutisch-biologisch comparability onderzoek worden wel verschillen opgemerkt, maar is het niet bekend of deze, vaak subtiele, verschillen leiden tot klinisch relevante verschillen in werkzaamheid en veiligheid. Daarom vereist de biosimilar regelgeving dat er preklinisch en klinisch vergelijkend onderzoek wordt gedaan.

Het College is het met deze eis van de biosimilar regelgeving niet eens als het gaat om het preklinisch *in vivo* onderzoek voor mAbs. Dit standpunt wordt als volgt onderbouwd:

- De chemisch-farmaceutische technieken die gebruikt worden voor de karakterisering van biologicals en voor het comparability onderzoek zijn sterk verbeterd, waardoor ook complexe moleculen als mAbs vergaand gekarakteriseerd kunnen worden.
- Kleine verschillen in biologische effecten die het gevolg kunnen zijn van subtiele verschillen tussen het referentieproduct en het biosimilar product worden niet opgemerkt in preklinische *in vivo* studies wanneer in die studies slechts een beperkt aantal dieren wordt ingezet. Vooral wanneer het om NHP gaat is het ethisch niet aanvaardbaar een groot aantal dieren te gebruiken voor dit doel. Zelfs wanneer in een *in vivo* onderzoek een klein verschil wordt opgemerkt, dan nog moet de klinische relevantie van enig verschil - maar ook de bevestiging van de afwezigheid van een verschil - uiteindelijk bepaald worden in een klinisch onderzoek.
- Een relevant aspect dat bij biosimilars een rol speelt, is de immunogene potentie van een product. Verschillen in immunogeniteit kunnen ontstaan door kleine verschillen tussen de oorspronkelijke en de biosimilar producten. Maar ook dit is iets dat uitsluitend klinisch onderzocht kan worden, omdat voor deze humane eiwitten dierexperimenten niet voorspellend zijn voor de immunogene potentie van een product in de mens.
- De eventuele verschillen in functionele eigenschappen tussen een biosimilar en een referentieproduct worden in preklinische *in vitro* studies onderzocht en kunnen goed in kaart worden gebracht.

Onzuiverheden en post-translationele variaties

Als argument voor het verrichten van preklinische *in vivo* onderzoeken wordt vaak aangevoerd dat de veiligheid van een biosimilar eerst vastgesteld dient te worden vóór deze in een klinisch onderzoek wordt toegepast. Vaak worden verschillen in onzuiverhedenprofiel of variaties in de samenstelling als gevolg van post-translationele veranderingen genoemd als mogelijke oorzaak voor een verschil in veiligheid.

Relevante productgerelateerde onzuiverheden die zich kunnen voordoen zijn bijvoorbeeld High molecular weight species (HMWS) zoals aggregaten of dimeren en Low molecular weight species (LMWS), zoals truncated forms. Ook kunnen er post-translationele variaties optreden zoals verschillen in glycosylering, deamidering of oxidatie. De verschillen die hierdoor ontstaan kunnen mogelijk de immunogeniteit beïnvloeden, maar dat er een onverwachte biologische activiteit aan toegeschreven kan worden, lijkt erg onwaarschijnlijk. De sensitiviteit van preklinische *in vivo* studies lijkt in dit opzicht beperkt te zijn, waardoor eventuele subtiele verschillen niet opgemerkt worden.

De intrinsieke farmacologische activiteit (potency) van deze productgerelateerde verbindingen is meestal vergelijkbaar of minder. Mochten er toch grote verschillen zijn tussen het biosimilar- en het referentieproduct, dan kan zonodig verder gekarakteriseerd worden met *in vitro* testen. Daarnaast kunnen zich procesgerelateerde onzuiverheden voordoen, zoals lage concentraties aan DNA of eiwitten afkomstig van de cellen waarin het product geproduceerd wordt. Ook deze onzuiverheden kunnen goed in kaart gebracht worden met de chemisch-farmaceutische kwaliteitstesten. Zolang zich geen grote verschillen voordoen, is het onwaarschijnlijk dat kleine verschillen een groot effect op de veiligheid zullen hebben.

Verschillen in intrinsieke functionele eigenschappen

Zoals hierboven al eerder opgemerkt, worden de ongewenste effecten van een mAb bepaald door de farmacologische eigenschappen ervan. Deze kunnen zowel gerelateerd zijn aan het antigeen-specifieke (Fab) deel als aan het Fc deel van het mAb. Ook voor het farmacokinetisch gedrag is het Fc deel van groot belang. Deze farmacologische activiteit kan doorgaans met *in vitro* technieken gekarakteriseerd worden. Deze technieken kunnen in een vergelijkende studieopzet gebruikt worden. Belangrijke elementen die in dit palet aan *in vitro* onderzoeken thuishoren zijn:

- De mate van binding aan het antigeen met een bindingsaffiniteitsassay.
- Het functionele effect van binding aan de receptor kan in een potency assay bestudeerd worden.
- Ook de binding aan FcγR of FcRn, die van belang kunnen zijn voor werkzaamheid, veiligheid en/of farmacokinetisch gedrag, kan in *in vitro* assays onderzocht worden.
- Van belang voor de veiligheid en de werkzaamheid (wanneer cytotoxiciteit onderdeel is van het werkingsmechanisme) zijn aspecten als complement activatie, complement dependent cytotoxicity (CDC) en antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC). Al deze mechanismen zijn met *in vitro* assays te onderzoeken.

Op grond van het bovenstaande is het zeer onwaarschijnlijk dat een *in vivo* onderzoek onverwachte toxiciteit aan het licht brengt, wanneer geen significante verschillen worden gevonden met behulp van de vergelijkende onderzoeken die als onderdeel van chemisch-farmaceutisch kwaliteitsonderzoek worden verricht, samen met aanvullende vergelijkende *in vitro* assays als invulling van het preklinisch dossier. Deze verwachting wordt ook ondersteund door de publicatie van Clarke et al. [5] waaruit blijkt dat de toxiciteit van de gerapporteerde mAbs in NHP samenhangt met de farmacologische activiteit, en dat er geen sprake is van off-target toxiciteit.

Andere biosimilars

De discussie in deze notitie richt zich vooral op biosimilaire mAbs, omdat het verrichten van preklinische *in vivo* onderzoeken bij mAbs in de meeste gevallen leidt naar het gebruik van NHP. Als voor het ontwikkelen van andere biosimilars ook het gebruik van NHP overwogen wordt, dan zijn ook daar veel van de bovenstaande argumenten van toepassing en heeft het CBG dezelfde reserve ten aanzien van het gebruik van NHP. Voor andere biosimilars kunnen ook andere species farmacologisch gevoelig zijn. Er is dan geen noodzaak voor het gebruik van NHP. Toch dient ook dan de noodzaak van *in vivo* onderzoeken zorgvuldig afgewogen te worden.

Conclusie

Het CBG pleit ervoor het gebruik van NHP voor preklinische comparability onderzoeken van biosimilar mAbs te ontmoedigen. NHP gebruik is alleen aanvaardbaar als een adequaat uitgevoerd chemisch-farmaceutisch kwaliteitsonderzoek in combinatie met geschikte *in vitro* onderzoeken zoveel onzekerheid overlaat dat het gebruik van een biosimilar mAb in een klinisch onderzoek niet verantwoord wordt geacht.

De klinische werkzaamheid en veiligheid (waarbij vooral immunogeniteit van belang is) moet in klinische onderzoeken onderzocht worden en de resultaten van die onderzoeken - samen met de kwaliteitsgegevens en de preklinische *in vitro* data - zijn dan voldoende voor een aanvraag voor toelating op de markt van het biosimilar mAb.

Deze visie wordt door vertegenwoordigers van het CBG naar voren gebracht in het lopende Europees overleg over de ontwikkeling van een richtsnoer voor biosimilar mAbs.

Bronnen

- [1] Schellekens, H & Moors, E. Clinical comparability and European biosimilar regulations. *Nature Biotechnology* 28(1):28-31;2010.
- [2] Guideline On Similar Biological Medicinal Products. [CHMP/437/04](#), 30 October 2005.
- [3] Guideline on Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Non-Clinical and Clinical Issues. [EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005](#). 22 February 2006.
- [4] Concept Paper On The Development Of A Guideline On Similar Biological Medicinal Products Containing Monoclonal Antibodies. [EMEA/CHMP/BMWP/632613/2009](#). 22 October 2009.
- [5] Clarke J , Hurst C, Martin P, Vahle J, Ponce R, Mounho B, Heidel S, Andrews L, Reynolds T, Cavagnaro J. Duration of chronic toxicity studies for biotechnology-derived pharmaceuticals: Is 6 months still appropriate? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 50 (2008) 2-22.