



Mémoire présenté en vue de l'obtention du **Diplôme de  
Docteur en Pharmacie**

Intitulé :

# IMMUNOGÉNÉCITÉ DES BIOSIMILAIRES

**Présenté et soutenu par :**

**Session Juillet 2021**

- ALLOUCHE Asma
- BAAZIZ Sameh
- BENABLA Imene

**Jury d'évaluation :**

Encadrant :Pr. BOUDJELLA LOTFI

Président du jury :Pr. BENAIZ OUARDA

Examineur :Pr. CHERGUELAIN KHALED





Mémoire présenté en vue de l'obtention du **Diplôme de  
Docteur en Pharmacie**

Intitulé :

**IMMUNOGÉNÉICITÉ DES BIOSIMILAIRES**

**Présenté et soutenu par :**

**Session Juillet 2021**

- ALLOUCHE Asma
- BENABLA Imene
- BAAZIZ Sameh

**Jury d'évaluation :**

Encadrant : Pr. BOUDJELLA LOTFI

Président du jury : Pr. BENAIZ OUARDA

Examineur : Pr. CHERGUELAINE KHALED

## Remerciements

Au nom de **Dieu, Clément et Miséricordieux** par la puissance duquel tous se réalise et se concrétise.

Tout d'abord, nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme notre formation et pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements à notre encadrant **Professeur L. BOUDJELLA** pour son aide et pour le temps qu'il nous a consacré ainsi que pour ses précieux conseils.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres de jury : **Pr O. BENAIZ, Pr K. CHERGUELAIN, et Dr N. RACHEDI**, pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Nous tenons également à remercier **Pr. BOUCHEDOUB** et toute l'équipe du Centre Anti Cancer du CHU Frantz Fanon Blida, pour l'accueil chaleureux qu'ils nous ont réservé.

Nous remercions particulièrement **Dr. BOUCHAREF** qui nous a beaucoup aidés et qui était toujours prête pour répondre à nos questions. Ainsi que nos enseignants, espérant qu'ils vont voir, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement avec lequel ils ont fait preuve durant nos six années d'études.

Nous profitons de cette occasion pour remercier également Madame **SALMA ABDOUN** et toute l'équipe du laboratoire HIKMA et de l'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques, pour le temps que chacun de leurs membres nous a accordé, et pour toutes les informations et les références bibliographiques que chacun d'entre eux nous a apporté et qui ont nourri ce travail.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

## *Dédicaces*

### *Au nom de Dieu Clément et Miséricordieux*

Je commence d'abord par remercier **Allah** le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés et pour mener à bien ce travail.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à mes idoles ; mes chers parents **ALLOUCHE Djallel** et **Benzine Fadhila**, qui ont sacrifié leurs nuits et leurs jours pour mon bonheur, qui m'ont toujours encouragé pour aller vers l'avant, qui étaient toujours les premiers à me consoler quand j'avais mal et à me féliciter pour les plus petites victoires. Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, je vous dois ma réussite, ma vie, et mon respect.

A ma chère sœur **Zahra**, qui m'a guidé durant toutes mes années d'études avec ces précieux conseils, et qui m'a toujours soutenu quand j'avais besoin d'encouragement.

A mes précieux frères : **Aymen, Mohammed, Abdellatif, et Chafik**, ainsi que mes aimables sœurs **Zahra et Amel**, qui ont toujours été prêts pour m'aider et qui m'ont encouragé pour donner de mon mieux. Sans oublier mon adorable neveu **Mohammed**, et mes belles nièces : **Nour, Amina, et Khadija** qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes chères amies : **Lamis, Chaima, et Nadja** qui n'ont jamais cessé de me soutenir tout au long de mon parcours, et à qui je souhaite plus de succès.

A mes compagnons dans cette formidable aventure : **Imene et Sameh**. Nous avons vécu ensemble toutes ces années d'études avec ses hauts et ses bas, et nous allons clôturer cette aventure par la présentation de ce mémoire qui est le fruit de nos efforts, fière de nous !

Enfin, je dédie ce travail à mes grands-parents qui nous ont quittés : **papa RabeH, papa Abdallah, mama Djanet, et mama Douja**. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour que vous aviez pour moi.

## *Asma*

## *Dédicaces*

*A* mes parents **Mr Abdelkrim BENABLA** et **Mme Faiza SOHBI**

C'est à vous que je dois cette réussite, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, mon amour éternel, et ma considération pour les sacrifices que vous avez faits pour mon éducation et pour mes études. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez apporté depuis mon enfance. J'espère que vos bénédictions m'accompagneront toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, et le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

*A* la Mémoire de mon grand-père **Baba Sido**, qui nous a quittés très tôt.

J'espère qu'il appréciera cet humble geste, comme preuve de reconnaissance de la part de sa fille qui prie toujours pour le salut de son âme.

*A* mes sœurs **Hadia** et **Maroua**, en signe d'amour, de reconnaissance, et de gratitude pour les sacrifices que vous avez toujours faits pour moi, ma réussite est aussi la votre.

*A* mes chères âmes sœurs **ASMA**, **SAMEH** et **NAILA**. Vous êtes l'une des plus belles choses que m'a apportées mon cursus en pharmacie. Je garderai d'excellents souvenirs de ces années d'études et de tous les bons moments que nous avons passés ensemble

Que notre amitié restera intacte et durera pour toujours.

*A* tous les membres de ma famille, ma grand-mère pour sa tendresse et son affection, mes chères tentes **SOUMIA**, **SOUHILA**, **ISMAHEN** et **MERIEME**, et mes chers oncles **YOUCEF** et **ABDELLAH**, **AMINE** et **KHALIL**.

Que Dieu leurs donne une longue et joyeuse vie.

*A* tous mes cousins et cousine **YOUNES ,OUSSAMA ,HADIL, HOUSSEM, ZAKI, ABDELERAHMEN ,ABDALHADI** et la petite adorable **AMANI** que je l'adore trop . Nous étions toujours très proches et nous le serons pour toujours, je vous souhaite une vie heureuse et un avenir prospérant.

*A* mes chères amies :**Nesrine,Louiza, Ihcen,Yasmine, Ilhem .**

*P*our les nombreux moments partagés avec vous, pour votre soutien et pour tous ces moments de plaisir en votre compagnie, vous faites partie des rares personnes qui arrivent encore à me faire rire quand j'arrive à peine à sourire. Merci...

*A* **Mme S.Saidi et Mr A.ITCHIR,**

*L*es pharmaciens d'officine que j'ai eu le grand honneur d'effectuer mes stage au sein de leurs entreprises. Je vous présente mon profond respect et mon plus grand remerciement.

*A* mes enseignantes ,**Mme BOUALI, Mme MAAZOUZI, Mme BELHACHEMI, et Mme BOUKERCH et Mme MAKCHOUCHE .**

*L*es plus grandes leçons ne sont pas tirées d'un livre, mais des enseignants comme vous, merci pour tout votre effort et conseils, je ne vous oublierai jamais.

*A* ceux qui se sont investis corps et âme pour m'aider et pour m'encourager à aller vers l'avant...

*A* ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles...

*A* ceux à qui je dois tant.

**MERCI ...**

***Imene***

## *Dédicaces*

Ce mémoire est le fruit des efforts fournis et des sacrifices consentis tout au long de cette dernière année. En effet il représente bien plus qu'un simple travail, il représente la clôture d'un chapitre de ma vie, en marquant la fin d'un cursus de six longues années d'études ;

Ceci n'aurait jamais été possible sans l'aide et la bénédiction du tout puissant Allah le miséricordieux qui m'a donné la santé, le courage et la volonté pour arriver là où je suis aujourd'hui.

*À* ma très chère mère : **TALAOUBRID Ouardia,**

*A*utant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de ma vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait, et me bénir avec tes prières les plus sincères. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance pour tous tes sacrifices et ma profonde estime pour la formidable femme que tu es. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

*À* mon très cher père : **BAAZIZ Abderrahmene,**

*A*utant de phrases et d'expressions aussi éloquents soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

*À* ma très chère sœur **Manel,**

*T*outes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, et tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour et la reconnaissance que je te dois. Tu as partagé avec moi tous mes malheurs et mon bonheur depuis ma naissance. Alliée fidèle de tous mes combats merci d'exister.



*À* ma très chère sœur et mère **Faiza**,

Celle qui m'a toujours arrosée d'amour et de tendresse tu es et tu resteras mon éternelle protectrice, je te serai à tout jamais reconnaissante pour tout ce que tu fais pour moi.

*À* mes très chers frères **Mohamed** et **Hicham**,

Les hommes de ma vie, pour la joie, la tendresse et le support que vous m'apportez chaque jour je vous remercie.

*À* ma nièce chérie **Anais**,

La lumière de mes jours et le bonheur de ma vie, je veillerai toujours à ce que tu reçoives tout l'amour et support que j'ai moi-même reçu de notre famille.

*À* mes collaboratrices et mes chères amies **Asma** et **Imene**, sans votre dévouement, motivation et encouragements, nous n'aurions jamais pu réaliser ce travail, merci d'avoir aiguillé mon parcours universitaire.

*À* toutes mes plus belles rencontres, qui sont tellement nombreuses que les pages ne pourraient les contenir toutes, mais particulièrement à **Nesrine**, **Chemsou**, **Fouad**, **Farès** et **Housseem** pour votre bienveillance et vos encouragements je vous remercie.

*En* fin à **moi-même** pour la personne que je suis devenue, pour la volonté et persévérance dont j'ai fait preuve et pour tout ce que j'ai pu réaliser jusqu'à ce jour. Ces six dernières années étaient longues et dures et aujourd'hui avec ce travail elles arrivent à leur fin mais pas la fin de mon combat.

*Sameh*

# SOMMAIRE

---

Remerciements	I
Dédicaces	II
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des abréviations	VIII
Introduction	
<b>Partie I Généralités sur les biosimilaires</b>	
.1 Définition	3
1.1 La définition de la biotechnologie	3
1.2 La définition de la biotechnologie	3
1.3 La définition d'un médicament de référence	4
1.4 La définition d'un Biosimilaire	4
1.4.1 Selon l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS	4
1.4.2 Selon l'Agence Européenne du Médicament(EMA	4
2 Les différences entre un biomédicament, un biosimilaire et un générique chimique	5
2.1 Entre un biomédicament et son biosimilaire	5
2.2 Entre un biosimilaire et un générique chimique	6
2.3 Limites du concept « génériques »	7
3 La classification des médicaments biologiques	8
3.1 Les Anticorps Monoclonaux	8
3.2 Les Vaccins	9
3.3 Les protéines thérapeutiques	9
3.4 Enzymes	11
3.5 Les protéines de fusions	11
3.6 Les toxines	12
4 La classification des médicaments biosimilaires	14
5 La Complexité des médicaments biosimilaires	16
5.1 Complexité moléculaire	16

# SOMMAIRE

---

5.2	Complexité liée au processus de fabrication (Voir le titre : la production des médicaments biosimilaires)	20
5.3	Complexité du produit fini	21
6	La production des médicaments biosimilaires	23
6.1	La production des médicaments biologiques	23
6.2	La production des biosimilaires : le concept de la biosimilarité	37
7	Spécificités des biosimilaires	41
7.1	Extrapolation	41
7.2	L'interchangeabilité	42
7.3	Spécificité sur le plan économique	45

## **Partie II Immunogénicité des biosimilaires**

1	Généralités	48
1.1	L'immunité innée	48
1.2	L'immunité adaptative	49
2	L'immunogénicité	50
2.1	Définition ADA	51
3	Les mécanismes cellulaires de l'immunogénicité des biosimilaires	54
3.1	Les cellules immunitaires intervenant dans la réaction d'immunogénicité	54
3.2	Les réactions immunitaire des réponses adaptative humorale	55
4	Le mécanisme de l'immunogénicité	56
4.1	La voie T-indépendante	57
4.2	La voie T dépendante	57
4.3	La formation des complexes immuns (ADAs –protéines thérapeutiques)	59
5	Facteurs influençant l'immunogénicité	62
5.1	Liés au patient	62
5.2	Liés au traitement	64
5.3	Liés au produit	65
6	Les conséquences de l'immunogénicité	69
6.1	Les conséquences sur le produit	69
6.2	Les conséquences sur le patient	71
7	La prédiction de l'immunogénicité	73

## SOMMAIRE

---

7.1	La méthode in vivo	73
7.2	La méthode in silico	74
7.3	La méthode in vitro (analyse de la réponse des lymphocytes T CD4 spécifiques)	75
8	L'évaluation clinique de l'immunogénicité	76
9	Plan de gestion des risques et pharmacovigilance	79
9.1	Mesures de minimisation des risques de l'immunogénicité	81

### **Partie III Exemples des biosimilaires Rituximab et l'insuline Glargine**

1	Rituximab	84
2	L'insuline Glargine	86
	Conclusion	XI
	Références	XII
	Résumé	XIX

## **LISTE DES FIGURES**

---

<b>Figure 1:</b> Classifications des produits issus de la biotechnologie	13
<b>Figure 2:</b> La complexité moléculaires des Biosimilaires par rapport aux médicaments biologiques	17
<b>Figure 3:</b> Les structures spatiales d'une protéine	18
<b>Figure 4:</b> La capacité de glycosylation en fonction de la ligne cellulaire	20
<b>Figure 5:</b> Illustration sur la micro hétérogénéité des Biosimilaires	22
<b>Figure 6:</b> La sélection dugène d'intérêt et la constitution de l'ADN recombinant	24
<b>Figure 7:</b> La banque des cellules	28
<b>Figure 8:</b> Les bioréacteurs pharmaceutiques	29
<b>Figure 9:</b> Le processus de fabrication des biomédicaments	33
<b>Figure 10:</b> La méthode la production des anticorps monoclonaux	35
<b>Figure 11</b> Les types d'anticorps monoclonaux	36
<b>Figure 12:</b> Le processus comparatif du développement d'un médicament biosimilaire	39
<b>Figure 13:</b> Les mécanismes de l'immunité naturelle assurent la défense initiale contre les infections	49
<b>Figure 14:</b> Structure générale d'un anticorps humain de type IgG	53
<b>Figure 15:</b> Mécanisme de la réponse immunitaire humorale	57
<b>Figure 16:</b> La représentation de l'antigène-CMHII par les CPA	58
<b>Figure 17:</b> Mecanisme de la réponse immunitaire humorale	59
<b>Figure 18:</b> Le développement des anticorps anti-insuline glargine chez les patients traités par le biosimilaire LY IGlar et le princeps IGlar	89

## **LISTE DES TABLEAUX**

---

<b>Tableau 1:</b> La comparaison entre un biosimilaires et un générique	6
<b>Tableau 2:</b> La classification des médicaments Biosimilaires selon leurs classes anatomiques, pharmacologiques et thérapeutiques	14
<b>Tableau 3:</b> La différence du poids moléculaires entre une molécules chimique et biologique	17
<b>Tableau 4:</b> Vue sur l'ensemble du développement d'un médicament biosimilaire par rapport à un médicament de référence [30].	40
<b>Tableau 5:</b> Les cellules immunitaires intervenant dans la réaction d'immunogénicité	54
<b>Tableau 6:</b> Les principaux tests de détection des ADA .[41]	77
<b>Tableau 7:</b> Résumé sur les informations qui concernent les patients incriminés dans cette étude.	88
<b>Tableau 8:</b> Variations moyennes des taux d'HbA1C	90

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

---

<b>AA</b> : Acide Aminé	<b>CHO</b> : Cellule Ovarienne de l'Hamster chinois
<b>ABA</b> : Anticorps Anti-Biologique	<b>CI</b> : Comp
<b>Ac</b> : Anticorps	<b>CIC</b> : Complexes Immuns Circulants
<b>ADA</b> : Anti-Drug Antibody	<b>CL</b> : Domaine constant chaine légère
<b>ADN</b> : Acide Désoxyribo Nucléique	<b>CMH</b> : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
<b>Ag</b> : Antigène	<b>CR</b> : Récepteur du Complement
<b>AMM</b> : Autorisation de Mise sur le Marché	<b>DCI</b> : Dénomination Commune Internationale
<b>AMP</b> : Assistance Médicale à la Procréation	<b>ECLA</b> : Electro ChemiLuminescence Assay
<b>ANSM</b> : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé	<b>ELISA</b> : Enzyme-Linked Immuno Assay
<b>APA</b> : Anticorps Anti-Produit	<b>ELISPOT</b> : Enzyme-linked immunospot
<b>ARN</b> :Acide Ribonucléique	<b>EMA</b> : Agence Européenne du Médicament
<b>ATA</b> : Anticorps Anti-Thérapeutique	<b>EPO</b> :Erythropoïétine
<b>ATB</b> : Antibiotique	<b>EU</b> : Union Européenne
<b>AVC</b> : Accident Vasculaire Cérébral	<b>Fab</b> : Fragment de reconnaissance de l'antigène
<b>BCR</b> :Récepteur des lymphocytes B	<b>Fc</b> : Fagment Cristallisable
<b>CADA</b> : Clearing Anti-Drug Antibody	<b>FcR</b> : Récepteur Fc
<b>CAP</b> : Cellule Présentatrice de l'Antigène	<b>FDA</b> : Food and Drug Administration
<b>CD</b> : Cellule Dendritique	<b>FSH</b> :Follicle Stimulating Hormone
<b>CDR</b> :Région hypervariable	
<b>CH</b> : Domaine constant de la chaine lourde	
<b>FSH</b> :Follicle Stimulating Hormone	
<b>G-CSF</b> : Granulocyte-Colony Stimulating	

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

Factor

**GH** : Growth Hormone

**GM-CSF** :Granulocyte-Macrophage  
Colony-Stimulating Factor

**HAMA**: Anticorps Humains Anti-Souris

**HAT**:Hypoxanthine Aminoptérine  
Thymidine

**HER 2** :Human Epidermal growth factor  
Receptor 2

**HLA**:système de l'Human Leucocyte  
Antigen

**HMSA**: Homogenous Mobility Shift  
Assay

**HSA** : Health Saving Account

**IAsp** : Insuline Aspartate

**ICH** : International Conference On  
Harmonisation

**IFN $\beta$**  : Interféron bêta

**IgA** : Immunoglobuline A

**IgD** : Immunoglobuline D

**IgE** : Immunoglobuline E

**IgG** : Immunoglobuline G

**IgM** : Immunoglobuline M

**IL** : Interleukine

**rhCG** : Gonadotropine Chorionique  
humaine recombinante

**rhFSH** : Hormone Folliculo-Stimulante

**KDa** :KiloDalton

**L'OCDE** : l'Organisation de  
Coopération et de Développement  
économique

**LB** : Lymphocyte B

**LH** :Hormone Lutéinisante

**LLC** :Leucémie Lymphoïde  
Chronique

**LT** : Lymphocyte T

**mAb** : Anticorps monoclonal

**MCB**: Master Cell Bank

**NADA** : Neutralizing Anti-Drug  
Antibody

**Nb** : Nanobodies

**NK** :Cellule Natural killer

**OMS** : Organisation Mondiale de la  
Santé

**PAES** : Post Authorization Efficacy  
Study

**PASS** : Post Authorization Safety  
Study

**PEG** : Poly Ethylène Glycol

**PGR**: Plan de Gestion des Risques

**PIA** : PH-Shift anti-Idiotypic  
Antigen-Binding

**PT** : Protéine Thérapeutique .



## **LISTE DES ABREVIATIONS**

---

humaine recombinante

**RIA** : Radio-Immuno Assay

**rLH** : Hormone Lutéinisante  
recombinante

**SADA**: Sustaining Anti-Drug Antibody

**SEP** : Sclérose En Plaque

**SLC** : Syndrome de Libération des  
Cytokines

**SPR** : Surface Plasmon Resonance

**STH**: Somatropine

**TGF- $\beta$**  : Facteur de croissance  
Transformant bêta

**TNF  $\alpha$**  : Facteur de Nécrose Tumorale

**tPA** : Activateur Tissulaire du  
Plasminogène

**WCB**: Working Cell Ban.

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Apparus il y a une trentaine d'années, les biomédicaments issus de la biotechnologie occupent une place indispensable dans le traitement de nombreuses pathologies chroniques. Mais ces produits sont généralement très chers en raison des coûts de production élevés.

L'arrivée des copies des médicaments biologiques, appelées « Biosimilaires », qui ont un coût moins élevé, constitue une source possible d'économies. Ces nouveaux médicaments ne réduisent pas seulement le risque de ruptures d'approvisionnement des produits princeps, mais ils incitent aussi à la concurrence entre les producteurs à travers le monde

Le développement des biosimilaires est basé sur la démonstration de son équivalence par rapport au princeps, cette équivalence aussi appelée « similarité » doit être prouvée à chaque étape de ce développement par des études de qualité, des études précliniques, et des études cliniques.

Les médicaments issus de la biotechnologie, notamment les biosimilaires, sont généralement des protéines. Ces dernières ont un potentiel immunogène, elles sont donc susceptibles de provoquer une réponse immunitaire. Cette immunogénicité dépend de plusieurs facteurs tels que le mode d'obtention, le degré de purification, les pathologies du patient et autres.

L'immunogénicité des biosimilaires peut, ou non, avoir des conséquences sur l'efficacité du produit ou la sécurité du patient. Cela dépend de plusieurs paramètres tels que l'effet neutralisant des anticorps produits, et leur quantité produite.

Afin de minimiser la réponse non voulue du système immunitaire vis-à-vis ces médicaments biosimilaires, des études de prédiction précliniques et d'évaluation cliniques de cette réponse sont mises en œuvre. Leur but est de choisir lors de la production, les candidats présentant le plus faible pouvoir immunogène, et de détecter après l'administration de ces médicaments, une immunogénicité indésirable et de corriger par la suite les potentielles conséquences qu'elle peut donner.

Les laboratoires producteurs doivent soumettre un « Plan de Gestion des Risques », qui comporte : le profil de sécurité de médicament, la manière dont les risques sur les patients vont être prévenus ou minimisés, et l'évaluation de l'efficacité des mesures de réduction des risques. Les PGR sont modifiés et mis à jour pendant toute la vie du médicament au fur et à mesure que des nouvelles données sont disponibles.

Les objectifs de l'étude sont d'une part de comprendre le mécanisme de l'immunogénicité, les facteurs qui l'influencent, ses conséquences, comment l'évaluer et comment peut-on l'éviter ou la minimiser. Et d'un autre part, d'évaluer la fréquence de l'immunogénicité d'un biosimilaire, et comparer le risque d'immunogénicité et l'efficacité d'un biosimilaire par rapport à son médicament de référence.

**PARTIE I**  
**GENERALITES**  
**SUR LES**  
**BIOSIMILAIRES**

### 1. Définition

#### 1.1 La définition de la biotechnologie

Le mot biotechnologie est composé de « bio » du grec, vie, et de « technologie » qui désigne les études des outils et des techniques. Les biotechnologies correspondent donc aux techniques qui utilisent le vivant [1].

L'Organisation de Coopération et de Développement économique (OCDE) regroupe sous le terme « Biotechnologie », toutes les applications de la science et de la technologie à des organismes vivants ou à leurs composantes, dans le but de modifier des matériaux, vivants ou inertes, à des fins de production de connaissances, de biens ou des services [2].

#### 1.2 La définition de la biotechnologie

Dans le contexte des médicaments biosimilaires, les médicaments issus de la biotechnologie sont des agents thérapeutiques produits à l'aide d'organismes vivants et de la technologie de la recombinaison de l'ADN (couramment appelée le génie génétique). Cette classe de produits, aussi connue sous le nom de médicaments bio-thérapeutiques, comprend les protéines recombinantes telles que : les cytokines, les facteurs de croissance, les vaccins...Etc. C'est sur ces protéines recombinantes que les premières approches de « biosimilaires » ont été tentées[3].

Selon le code de la sante publique : « On entend par médicament biologique, tout médicament dont la substance active est produite à partir d'une source biologique ou en est extraite et dont la caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une combinaison d'essais physique, chimiques, et biologiques ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son control ». Article L5121-1 du Code de la sante publique [4].

Un biomédicament désigne plus simplement tout médicament dont la substance active est une macromolécule thérapeutique produite par des cellules ou d'organismes issus du vivant ou en est extraite, et qui a souvent une cible spécifique.

Il ne s'agit cependant pas de médecine naturelle ou douce utilisant des produits « bio », mais d'une médecine fondée sur l'utilisation des connaissances nouvelles touchant aux

## **Partie I : Généralités sur les Biosimilaires**

différents domaines de la biologie, s'appuyant sur une expertise moléculaire et cellulaire sophistiquée et sur un développement industriel demandant de lourds investissements.

### **1.3 La définition d'un médicament de référence**

Le médicament de référence (ou médicament princeps), est le premier médicament commercialisé contenant le principe actif. Au moment de sa mise sur le marché, en tant que nouveau médicament, il est protégé par un brevet pour une durée de 20 à 25 ans.

Le brevet est un titre de propriété intellectuelle qui accorde au laboratoire pharmaceutique une exclusivité temporaire sur le marché. Cette période de protection permet au laboratoire d'obtenir un retour sur les investissements de recherche et développement qui ont abouti à ce nouveau médicament. Passe le délai, le brevet expire et d'autres laboratoires pharmaceutiques peuvent fabriquer et commercialiser un médicament contenant le même principe actif : il s'agit alors du médicament générique.

### **1.4 La définition d'un Biosimilaire**

#### **1.4.1 Selon l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS)**

Un médicament biosimilaire est un médicament biologique qui est similaire en termes de qualité, de sécurité, et d'efficacité par rapport au médicament de référence.[5]

#### **1.4.2 Selon l'Agence Européenne du Médicament(EMA)**

Un médicament biosimilaire est un médicament biologique qui est développé pour être similaire à un médicament biologique existant(le médicament de référence). Les biosimilaires sont à distinguer des génériques, qui ont des structures chimiques plus simples et qui sont considérés comme identiques à leur médicament de référence.

Un médicament biologique qui contient le même principe actif que le médicament de référence, doit démontrer une similarité en termes de qualité, d'activité biologique, de sécurité et d'efficacité[6].

### **1.4.3 Pour la Food and Drug Administration(FDA)**

Un médicament biologique est biosimilaire à un médicament de référence si les données montrent qu'il est hautement similaire au médicament de référence avec quelques différences mineures sur les composants inactifs cliniquement, et s'il n'existe aucune différence clinique en termes de sécurité, pureté, et de puissance[7].

## **2 Les différences entre un biomédicament, un biosimilaire et un générique chimique**

### **2.1 Entre un biomédicament et son biosimilaire**

Avant d'entamer les différences existantes entre ces deux catégories de biomédicaments, il est à noter qu'au sein des biomédicaments de référence, des variabilités intrinsèques peuvent exister. Ils voient leurs procédés de fabrication modifiés à plusieurs reprises en vue d'améliorer leur stabilité, ou de répondre à de nouvelles exigences réglementaires.

Les biomédicaments actuellement prescrits peuvent être considérés comme leurs propres biosimilaires, en comparaison de ce qu'ils étaient au moment de l'autorisation de mise sur le marché. C'est le cas de l'Infliximab de référence (Remicade®) dont le procédé de fabrication a été modifié plusieurs fois depuis sa commercialisation en France depuis les années 2000.

Chaque changement doit être strictement contrôlé selon les recommandations de l'European Medicines Agency (EMA) et de l'International Conference of Harmonisation (ICH), afin de s'assurer de l'absence de différence significative en termes d'efficacité et de tolérance avant et après un changement du processus de fabrication. Il est nécessaire de démontrer la biosimilarité, c'est-à-dire, de confirmer que les différences observées au niveau de la substance active ou du produit fini n'ont pas d'impacts sur le profil d'efficacité et de sécurité clinique par rapport au médicament biologique de référence [8]



2.2 Entre un biosimilaire et un générique chimique

**Tableau 1:La comparaison entre un biosimilaires et un générique**

<b>Différences</b>	<b>Générique</b>	<b>Biosimilaire</b>
<b>Synthèse</b>	Généralement produit par synthèse chimique	Obtenu à partir d'une source biologique
<b>Taille et Structure</b>	Principalement des petites molécules, plus faciles à caractériser	Macromolécules complexes, qui requièrent des technologies multiples pour leur caractérisation.
<b>Reproductibilité</b>	Généralement possible d'obtenir exactement la même molécule	Possible de reproduire la molécule avec un degré élevé de similarité compte tenu des méthodes propres à la bio-fabrication et de la variabilité biologique naturelle.
<b>Exigences</b>	Données complètes exigées sur la qualité pharmaceutique	Données complètes exigées sur la qualité pharmaceutique, ainsi que des études comparant la structure et l'activité biologique du médicament biosimilaire avec celles du médicament de référence.
<b>Concept</b>	Bioéquivalence pharmacocinétique	Outre les études comparatives de pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, des données sur la sécurité et l'efficacité peuvent être exigées, en particulier pour les médicaments biologiques les plus complexes.
<b>Extrapolation</b>	Toutes les indications approuvées pour le médicament de référence peuvent être autorisées une fois la bioéquivalence démontrée, sans qu'il soit nécessaire de fournir d'autres données cliniques	L'efficacité et la sécurité doivent être démontrées pour chaque indication. Toutefois, des essais cliniques de confirmation avec le médicament biosimilaire ne sont généralement pas nécessaires pour chaque indication approuvée pour le médicament de référence. Une fois la biosimilarité démontrée,

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

		l'extrapolation des données à d'autres indications est possible si les éléments de preuve scientifiques disponibles concernent tous les aspects spécifiques de ces indications
<b>Développement</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Court</li> <li>• Coût : Environ 2 millions £</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plusieurs années</li> <li>• Coût : estimé à 100 à 300 millions £</li> </ul>
<b>Dénomination</b>	DCI produit princeps	Dénomination commune internationale (DCI) + nom fabricant
<b>Circuit Réglementaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Court</li> <li>• Dossier simplifié</li> <li>• Dossier bibliographique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En Europe : guidelines pour l'enregistrement des biosimilaires</li> <li>• Aux EU : démontrer qu'ils sont " biosimilaires " ou " interchangeables " avec un produit biologique déjà homologué par la FDA [9]</li> </ul>
<b>Immunogénicité</b>	Faible potentiel immunogène	Fort potentiel immunogène

### 2.3 Limites du concept « génériques »

En raison de ces différences fondamentales entre les médicaments chimiques et les produits biosimilaires, l'approche standard « générique » n'est pas appropriée pour les produits biopharmaceutiques. Ainsi, une réglementation plus complexe et une voie d'approbation spécifique sont nécessaires pour les produits biosimilaires. Des tests biologiques sont nécessaires pour compléter les données physico-chimiques. Ces essais réunis ne donnent pas la possibilité de prédire l'activité thérapeutique de manière fiable, ce qui fait des essais cliniques la seule manière acceptable pour évaluer et comparer la sécurité et l'efficacité des produits biologiques [8].

### 3 La classification des médicaments biologiques

Depuis le développement du génie génétique dans les années 1970, les biomédicaments issus des biotechnologies ne cessent de se développer. Les biotechnologies connaissent une expansion et une diversification d'applications grandissantes :

leur taux annuel de croissance est de 10 %. Les biomédicaments et leurs biosimilaires sont devenues les acteurs majeurs des industries pharmaceutiques. Depuis cette époque pionnière, l'exploitation de la recombinaison génétique a permis la mise sur le marché de protéines très variées et appliquées pour traiter plusieurs pathologies.[10]

L'essor de la génomique et de l'ADN recombinant, a favorisé le développement de ces nouveaux produits bio pharmaceutiques, en particulier les protéines recombinantes étant essentiellement représentées par deux grandes catégories :

- Les biomédicaments substitutifs ou alternatifs (Ils concourent à la correction d'insuffisances).
- Les biomédicaments Modificatifs (Ils modifient la physiologie par diverses actions neutralisantes, agonistes ou antagonistes, ou en déclenchant des réactions immunitaires).

Ce qui constitue un avantage par rapport aux molécules chimiques : elles sont classées en fonction de leur activité thérapeutique.[11]

#### 3.1 Les Anticorps Monoclonaux

Les mAbs représentent la classe des PT la plus présente dans le paysage pharmaceutique, avec plus de 300 mAbs actuellement en développement dans une trentaine de domaines thérapeutiques. Leur faible toxicité, leur très haute spécificité d'action et leur stabilité métabolique en font des protéines de choix pour les thérapies ciblées. Les mAbs ont connu plusieurs générations depuis leur premier développement, avec des degrés d'humanisation différentes, jusqu'à l'apparition de la nouvelle génération la plus sophistiquée et la plus utilisée de nos jours: les Nanobodies (Nb) et les mAbs bis-spécifiques[12].

### 3.2 Les Vaccins

Pendant très longtemps, les stratégies de développement des vaccins étaient basées sur des approches assez empiriques, consistant à inactiver ou à atténuer les pathogènes ou les protéines responsables des pathologies, en l'injectant pour des patients dans un cadre préventif ou curatif. Mais avec le développement des souches, et les modifications génétiques des bactéries et des virus, la prévalence des résistances aux infections est devenue une problématique majeure en infectiologie, ce qui a rendu nécessaire la recherche des nouvelles techniques de caractérisation des antigènes microbiens d'intérêt.

Les techniques de séquençage de l'ADN apparues dans les années 1990 ont permis, à partir des structures fournies par l'analyse des génomes, de découvrir de nouvelles structures antigéniques et de développer des vaccins de types protéiques. Les vaccins recombinants délivrent l'antigène cible en tant qu'information génétique permettant la génération, le ciblage et le traitement des maladies. Ces nouveaux types de vaccin sont caractérisés par un profil de sécurité important et une immunogénicité minime, car ils simulent une infection naturelle et ne nécessitent pas d'adjuvants [13]

### 3.3 Les protéines thérapeutiques

Cette classe couvre plusieurs types de protéines (hormones, enzymes, *etc.*), et se caractérise par son rôle thérapeutique : remplacer une protéine endogène dont l'expression ou l'activité sont anormalement basses voire nulles.

Ce manque est à l'origine d'une pathologie qui peut être atténuée voire guérie en administrant une PT de remplacement aux patients atteints. Cette classe représente le premier type de PT développées avec l'utilisation de protéines.

#### 3.3.1 Cytokines et Hormones

Cette catégorie contient les PT dont l'activité biologique régule une activité cellulaire précise (stimulation de la division cellulaire, différenciation, sécrétion, *etc.*). Le vivant étant très difficile à classer dans son intégralité et sa complexité, certaines protéines peuvent appartenir à plusieurs classes de cette catégorie. Par exemple, l'érythropoïétine (EPO) est à la fois une hormone, une cytokine et un facteur de croissance, mais elle est administrée en guise de remplacement aux patients atteints de l'anémie.

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

On peut classer ces PT en deux classes principales selon leur nature :

### 3.3.1.1 Les cytokines

Les cytokines sont des protéines de 15 à 20 kDa, jouant le rôle de médiateurs cellulaires au sein du système immunitaire. Parmi les cytokines on peut citer :

- **Les interleukines** : Ce sont des cytokines jouant un rôle majeur et varié dans le système immunitaire, comme l'IL-2 pour le traitement du carcinome métastatique colorectal. [14].
- **Les chimiokines** : Ce sont des cytokines chimio-attractives, comme la CXCL1 pour le traitement de l'inflammation cardiaque auto-immune.[15]
- **Les interférons** : Ce sont des cytokines jouant un rôle dans la réponse antivirale et possédant des activités immuno-modulatrices, comme l'IFN $\beta$  dans le traitement de la sclérose en plaques (SEP) [16].
- **Certains facteurs de croissance** : Ce sont des cytokines à activité mitotique, comme le G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor ) et le G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor) dans le traitement de la neutropénie [17],

L'érythropoïétine (EPO) et l'agent de stimulation de l'érythropoïèse (ASE) dans le traitement de certains cancers et anémies[18].

### 3.3.1.2 Les Hormones protéiques

On les différencie des cytokines par leur expression et leur activité qui sont davantage tissulaires voire organe-spécifiques comme l'hormone folliculostimulante (FSH), utilisée pour assister la fécondation *in vitro* humaine [19]. Parmi ces hormones on trouve :

- **Les insulines recombinantes** : Les progrès du génie génétique ont permis d'obtenir de telles insulines par les techniques de l'ADN recombinant. L'insuline humaine biogénétique ou recombinante a progressivement remplacé les insulines animales (bovine et porcine). Sa structure primaire est identique à celle de l'insuline humaine, avec deux type de d'action différentes : insuline à résorption et action rapide (comme **Lispro et Aspart**), et insuline à action prolongée (comme **Glargine et Detemir**).[20]

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

- **L'hormone de croissance humaine:** Somatotropine (STH) : hormone biosynthétique, obtenue par des techniques de biotechnologie, qui ont remplacé les méthodes de production anciennes tel que l'extraction naturelle (source d'impuretés comme les virus, bactéries et prion) ) empêchant toute transmission des maladies et augmentant le rendement et la quantité de la STH produite .[21]
- **Les facteurs de coagulations :** le Facteur IX, le Facteur IIX, et l'Héparine, régulent la cascade de l'hémostase en de multiples sites, et empêchent la formation de caillots dans le système circulatoire. Ils sont utilisés comme des traitements préventifs ou curatifs (Exemple : pour les AVC et la thrombose vasculaire).[22]
- **Les gonadotrophines :** sont des médicaments biologiques similaires aux hormones naturelles humaines. La gonadotrophine chorionique humaine recombinante (rhCG), l'hormone lutéinisante recombinante (rLH)et l'hormone folliculo-stimulante (FSH) jouent un rôle essentiel dans le traitement des maladie de l'axe gonadique tel que les anomalies ovariennes et testiculaires, par la régulation de la gamétogenèse, la synthèse des hormones stéroïdiennes sexuelles et le maintien de la grossesse chez la femme.[23]

### 3.4 Enzymes

Les enzymes ont un rôle régulateur dans le métabolisme et dans les voies de signalisation. Elles sont caractérisées par une activité catalytique envers une réaction chimique avec un substrat aboutissant à la formation d'un produit. Parmi les enzymes thérapeutiques : l'activateur tissulaire recombinant (tPA) (enzyme majeur dans la fibrinolyse).Le tPA recombinant est indiqué dans le traitement de l'infarctus du myocarde récent (< 3 heures), l'embolie pulmonaire et les thromboses veineuses, ainsi que certains accidents vasculaires cérébraux ischémiques aigus ...Etc.[24]

### 3.5 Les protéines de fusions

Ce sont des récepteurs solubles (protéines chimères), obtenus par génie génétique. Elles sont produites selon la substance ou la cible qu'elles sont capables de « fixer » pour interférer dans son action qui est principalement inflammatoire et pathogène.

Les récepteurs solubles peuvent avoir une action thérapeutique sur des pathologies très variées comme les maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, sarcoïdose,

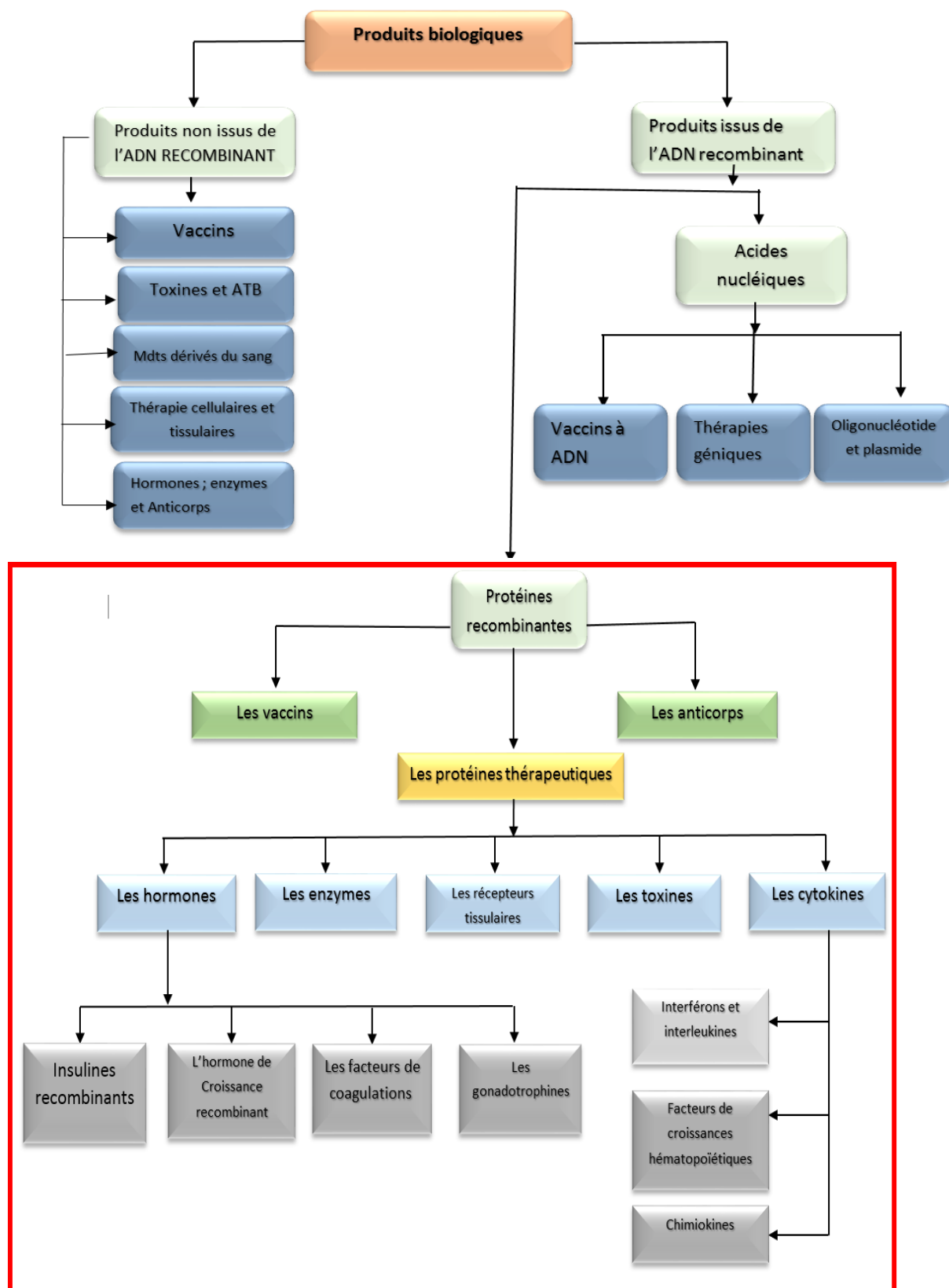
psoriasis) ou encore le rejet de la transplantation rénale. La protéine de fusion la plus connue est le récepteur soluble recombinant le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor). [25]

### **3.6 Les toxines**

Les toxines sont par définition, des molécules ayant une activité toxique pour un ou plusieurs organismes. Elles peuvent être produites par des microorganismes, des plantes, champignons et animaux (insectes, serpents, etc.) constituant un atout de protection ou de prédation.

Dans le cas des bactéries, les toxines peuvent servir à affaiblir l'hôte ou à neutraliser son système immunitaire. Les toxines développées comme PT sont d'origine non humaine et peuvent être utilisées pour d'autres applications que soigner des pathologies. La toxine botulinique est par exemple connue pour son utilisation en chirurgie plastique mais aussi pour traiter plusieurs types de dystonie[26] .

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires



**Figure 1: Classifications des produits issus de la biotechnologie**



#### 4 La classification des médicaments biosimilaires

**Tableau 2:La classification des médicaments Biosimilaires selon leurs classes anatomiques, pharmacologiques et thérapeutiques**

Groupe anatomique	Classe pharmacologique	Classe thérapeutique	La DCI	Cibles/Rôle	Indications
voie digestif et métabolique	Insulines	Métabolisme, nutrition, diabète	insuline Glargine	la régulation du métabolisme glucidique	Diabète
			insuline Lispro		
Sang et Organes Hématopoïétique	Anticoagulant	Hématologie et Hémostase	Enoxaparines	activités anti thrombotiques et anticoagulantes	Thrombose veineuse profonde, Embolie pulmonaire, Syndrome coronarien aigu.
	Antianémique	Hématologie et Hémostase	Epoétine	la régulation de la production d'érythrocytes	Anémie
système génito-urinaire et hormones sexuelles	Hormones hypothalamique ou hypophysaire	Endocrinologie et hormones	Follitropine alpha	modulation de la fonction génitale, et les gonadotrophines	Anovulation ; stimulation de la croissance folliculaire multiple en cas d'AMP Déficit sévère en FSH et LH
Hormones systémique et Hormones exclues	Hormones hypothalamique ou hypophysaire	Endocrinologie et hormones	Somatotropine	stimulation de la croissance et la reproduction des cellules chez les humains et les autres vertébrés	Retard de croissance Syndrome de Parader Willie, Déficit somatotrope sévère
	Ostéoporose	Rhumatologie	Teriparatide		Ostéoporose
Antinéoplasiques et immuno-modulateurs	les antinéoplasique	Cancérologie	Bevaxumab	contre le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire	Cancer : Colorectal, seins, bronchites non à petites cellules, rein, ovaires, trompes de Fallope, péritonéal, col de l'utérus.
			Rituximab	contre le CD20 des lymphocytes B	Lymphome non hodgkinien, LLC,

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

					polyarthrite rhumatoïde, granulomateuse.
	Les immuno-stimulants antianémiques	Hématologie et Hémostase	Filgrastim	régule la production et la libération des polynucléaires neutrophiles à partir de la moelle osseuse.	Neutropénie
			Pegfilgrastim		
	les immunosuppresseurs	Rhumatologie	Adalimumab	Contre le facteur de nécrose tumorale $\alpha$	polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite axiale, Rhumatisme psoriasique, psoriasis, maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, Arthrite juvénile idiopathique.
			Etanercept		polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite axiale, Rhumatisme psoriasique, psoriasis ; Arthrite juvénile idiopathique.
		Cancérologie	Infliximab	contre le facteur de nécrose tumorale $\alpha$	polyarthrite rhumatoïde, Rhumatisme psoriasique, psoriasis, maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, spondylarthrite ankylosante
			Trastuzumab	contre le domaine extracellulaire du récepteur HER 2	cancer du sein précoce HER2 positif, cancer du sein métastatique, l'adénocarcinome métastatique de l'estomac.

A noter que le biosimilaire ne possède pas nécessairement toutes les indications du produit de référence. La liste des médicaments Biosimilaires est issue du site de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) actualisée en 12 Avril 2021.

### 5 La Complexité des médicaments biosimilaires

Les médicaments traditionnels sont obtenus par extraction à partir des composés naturels (Principe actif d'origine végétal comme l'Acide Acétylsalicylique issu de la reine des prés et du saule) [28], ou synthétisés par des procédés chimiques (comme le paracétamol).

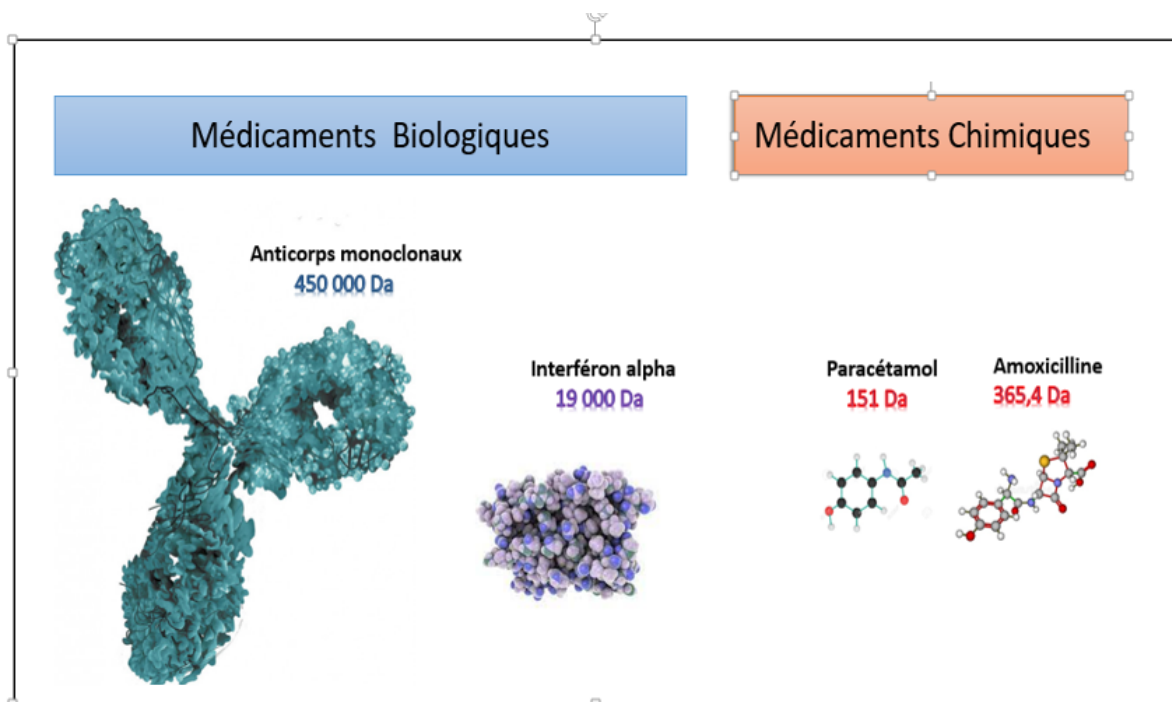
Les biomédicaments (médicaments issus de procédés de biotechnologies) diffèrent des médicaments traditionnels sur plusieurs niveaux : sur la molécule en elle-même, le processus de fabrication, le produit fini et leurs conséquences cliniques.

#### 5.1 Complexité moléculaire

##### 5.1.1 Poids moléculaire :

Les médicaments biologiques sont des molécules complexes et de taille importante : La masse moléculaire d'un principe actif d'origine biologique varie d'une dizaine à des centaines de kilo Dalton alors qu'elle est d'une centaine de Dalton (Da) pour le produit chimique.

Par exemple, le paracétamol présente une masse moléculaire de 151 Da alors que l'interféron alpha a une masse moléculaire d'environ 19 000 Da et l'anticorps Rituximab d'environ 145 000 Da [29]. Le recours à des organismes vivants (bactéries, levures...) est indispensable car il n'est actuellement pas possible de produire des substances avec des masses moléculaires si élevées via la synthèse chimique. C'est pour cela une importante diversité de tailles est retrouvée même au sein des substances biologiques.



**Figure 2: La complexité moléculaires des Biosimilaires par rapport aux médicaments biologiques**

**Tableau 3: La différence du poids moléculaires entre une molécules chimique et biologique**

Type De La Molécule	DCI	Poids Moléculaires (Da)
Les Molécules Chimiques	PARACETAMOL	151
	ROFECOXIB	315
	SINVASTATIN	419
Les Molécules Biologiques	FILGRASTIN	18800
	EPOETINE ALPHA	30400
	RITUXIMAB	145000
	FACTEUR IX	264000

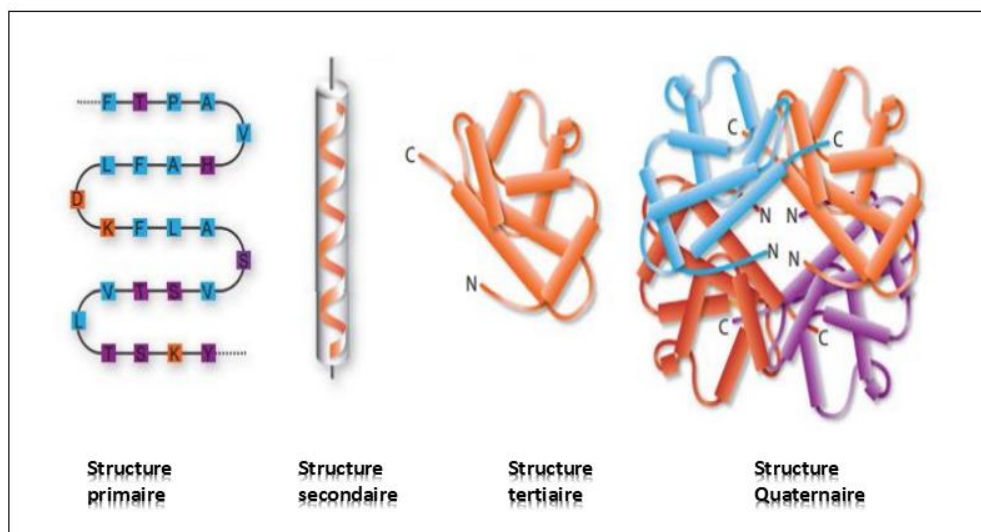
### 5.1.2 Organisation Spatiale

Les médicaments issus de la synthèse chimique sont des molécules avec une organisation simple, puisque elles possèdent une structure plane avec une flexibilité très réduite. Par rapport aux molécules biologiques (PT) qui sont plus complexes et très flexibles. [30]

On peut trouver de simples protéines comme l'insuline ou l'hormone de croissance, ou des protéines plus complexes telles que les facteurs de la coagulation ou les anticorps monoclonaux.

Une protéine se définit tout d'abord par sa structure primaire, qui consiste à une succession d'acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques, dans un enchaînement déterminé par des gènes(ARN) codants pour cette protéine. Les AA se replient localement en structure secondaire sous forme de feuillets ou des hélices. Enfin, la structure secondaires continue son repliement dans l'espace avec l'assemblage de plusieurs chaînes via des liaisons diverses (les liaisons hydrogènes, hydrophobes, électrostatiques ou covalentes) pour former une structure tertiaire et quaternaire.

Toute dénaturation de la protéine peut entraîner la perte de sa fonction. Pour la conservation de l'activité biologique et pour garantir l'efficacité et la sécurité de la protéine, il est donc primordial de préserver sa structure .[3]



**Figure 3: Les structures spatiales d'une protéine**

### 5.1.3 Modifications Post-Traductionnelles

Une protéine n'est pas seulement caractérisée par sa structure primaire ou sa conformation spatiale, mais aussi par des modifications post-traductionnelles.

La fabrication d'une protéine nécessite deux étapes majeures : la transcription et la traduction. La transcription correspond à la synthèse d'une copie inversée d'un brin d'ADN dans le noyau de la cellule. Une fois la copie obtenue, elle quitte le noyau pour aller dans le cytoplasme afin d'être lue et convertie en une séquence d'acides aminés par le ribosome ; C'est ce qu'on appelle la traduction. Le résultat final constitue une chaîne d'acides aminés.

Une fois la traduction terminée, de nombreuses modifications se produisent : des phénomènes d'agrégation (formation d'agrégat de protéines) et des modifications post-traductionnelles. Ces modifications sont aussi qualifiées de « **phase de maturation** » indispensables avant que les protéines ne soient libérées/sécrétées par les cellules productrices.

Ces modifications consistent à greffer sur des acides aminés définis un ou plusieurs groupements chimiques biologiques, nous avons : **la glycosylation, le clivage de la chaîne polypeptidique, la sulfatation, la formation des ponts covalents, la sulfonation, la phosphorylation...Etc.**[31]

Ces modifications sont essentielles pour que la protéine soit **fonctionnelle**, et ajoutent une complexité pour la production des médicaments issus du vivant.

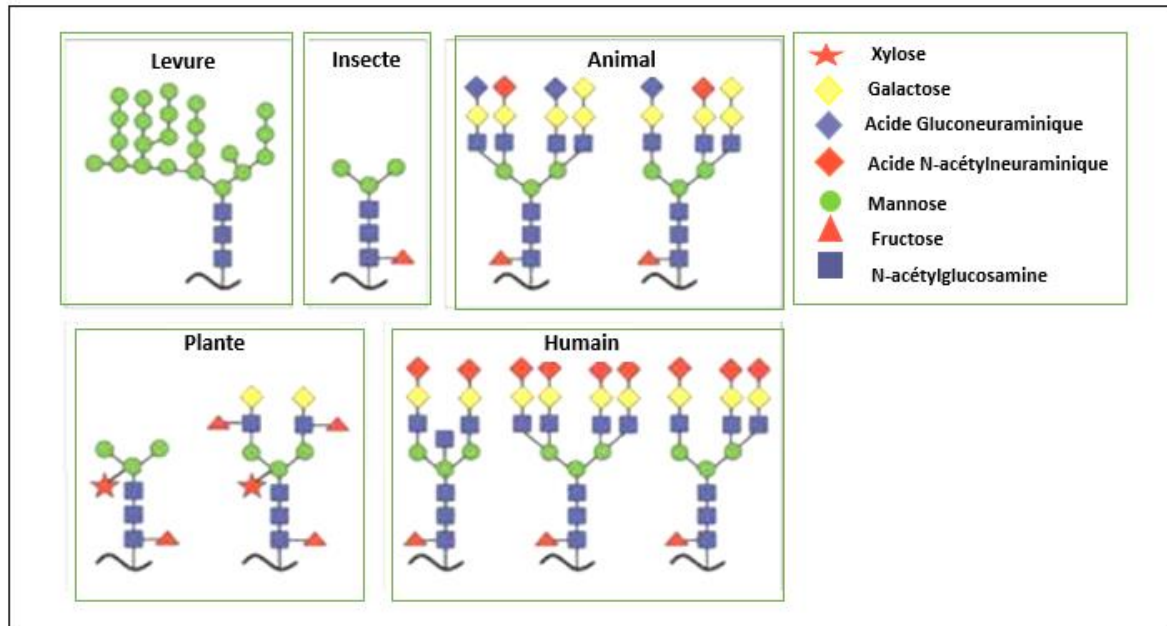
Ces phénomènes peuvent avoir des conséquences sur la clairance, la demi-vie d'élimination et l'activité du biomédicament, à cause du changement de la charge globale et des caractéristiques physico-chimiques ou biologiques des protéines « matures ».

La glycosylation par exemple est la plus fréquente des modifications post-traductionnelles. Des structures glycaniques très complexes sont ajoutées sur le squelette protéique au sein du réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi (les sièges principaux de la glycosylation). Ces molécules glycaniques ajoutent une variabilité globale et une complexité importante à la protéine mature.

Cette modification peut avoir plusieurs rôles : la reconnaissance et l'adhésion cellulaire, le contrôle du repliement des protéines, la modulation métabolique d'enzymes, le transport et l'adressage de protéines ou un rôle structural[32].

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

Il faut noter que les modifications post-traductionnelles ne sont pas sous le contrôle de la séquence du gène qui exprime la séquence protéique, mais sont spécifiques de chaque espèce cellulaire (en fonction notamment de l'équipement enzymatique de la lignée cellulaire exprimant la protéine d'intérêt)[33].



**Figure 4: La capacité de glycosylation en fonction de la ligne cellulaire**

### 5.2 Complexité liée au processus de fabrication (Voir le titre : la production des médicaments biosimilaires)

#### 5.2.1 Source biologique

Les médicaments biosimilaires sont caractérisés par l'utilisation d'une source biologique pour être produits. Ils sont obtenus par des procédés de « biotechnologie » c'est-à-dire en utilisant des organismes génétiquement modifiés pour exprimer des protéines d'intérêt thérapeutique de séquence humaine.

Le système de production de la substance biologique est donc soumis à la variabilité du vivant qui induira une certaine variabilité dans le profil de qualité du produit.

### **5.2.2 Caractérisation et détermination de la qualité**

La qualité pharmaceutique assure que le médicament répond à des normes prédéfinies, et qu'il est adapté à l'utilisation clinique. Elle doit absolument être garantie car la non-qualité peut être dangereuse pour le patient, en apportant des problèmes de tolérance ou en modifiant l'activité thérapeutique du médicament.

Mais à l'inverse des médicaments chimiques, et malgré des analyses complexes, il n'est pas possible de caractériser et d'analyser entièrement des molécules issues d'une source biologique. La complexité de la structure d'une molécule biologique et la diversité des impuretés et des contaminants sont des exemples de freins à une caractérisation complète du produit [34].

### **5.2.3 Procédé de fabrication et son contrôle**

L'organisme vivant est très sensible, même à de légères variations des procédés de fabrication. Pour avoir des produits aussi semblables que possible, il est nécessaire que les conditions de fabrication soient strictement identiques pour garantir la pureté et la sécurité du médicament, car le moindre changement dans le processus va conduire à des risques très élevés sur la qualité et donc la non-conformité du produit.

Tout changement doit donc être rigoureusement analysé et contrôlé. Ces modifications sont encadrées notamment par les guidelines Q5E « Comparability of biotechnology/biological products subject to changes in the manufacturing process » [34].

## **5.3 Complexité du produit fini**

### **5.3.1 La micro-hétérogénéité**

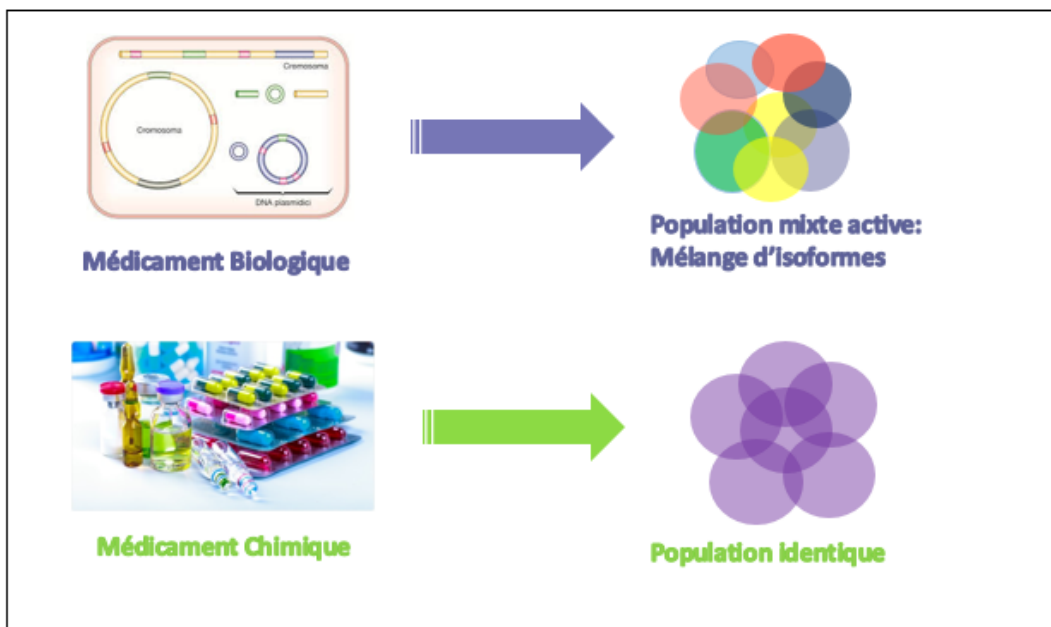
La micro-hétérogénéité peut se définir comme une variabilité mineure liée à la variabilité naturelle du vivant. Cette variabilité n'existe pas dans de la synthèse chimique des médicaments, par contre elle est présente dans la fabrication des médicaments biologiques et biosimilaires.



## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

La substance active peut présenter un faible degré de variabilité intrinsèque, que ce soit dans même lot ,entre divers lots, ou même entre le médicament de référence et son biosimilaire[35].

A la fin de la production, la protéine mature ne va pas se présenter sous une forme moléculaire unique, mais comme un mélange de molécules. C'est une population de molécules présentant la même structure protéique de base (la séquence primaire imposée par la séquence du gène), sur lesquels différents types de chaînes ont été branchées, conférant alors à chaque molécule de protéine sa propre structure mais avec un effet identique. L'analyse de cette population moléculaire permet ainsi de révéler non plus une seule « forme » mais une série d'isoformes[3].



*Figure 5: Illustration sur la micro hétérogénéité des Biosimilaires*

Les développeurs, fabricants ou contrôleurs de médicament sont soumis à de véritables défis scientifiques et technologiques pour garantir un produit sûr, de **tolérance, efficace et sécurité**.

## 6 La production des médicaments biosimilaires

### 6.1 La production des médicaments biologiques

Les substances actives biologiques complexes, proviennent des processus de production eux-mêmes complexes. La moindre variation dans ces derniers peut modifier l'activité de la molécule produite, d'où vient l'expression : « **the process is the product** », qui est souvent employée pour désigner la production des médicaments biologiques.

Dans cette partie nous allons décrire le mode de production des médicaments biologiques et plus particulièrement ceux qui possèdent un biosimilaire sur le marché, qui sont les protéines recombinantes et les anticorps monoclonaux. Cela est dans le but d'illustrer les points « critiques » qui vont conditionner la qualité du produit final.

Les techniques utilisées pour la fabrication des médicaments biologiques sont essentiellement :

- La technologie de l'ADN recombinant : qui utilisée pour la production des protéines recombinantes telles que : l'EPO, l'insuline, l'hormone de croissance...etc.
- La méthode à base d'hybridomes : pour la production d'anticorps monoclonaux. [36]

#### 6.1.1 La production des protéines recombinantes

La technique de l'ADN recombinant est la principale méthode utilisée, et elle permet la production de la majorité des biomédicaments. Son principe est de produire une lignée de cellules hôtes capables de synthétiser et de libérer la molécule active. L'ADN recombinant provient d'une combinaison entre l'ADN d'un organisme donneur (dans le cas des protéines thérapeutiques, Le donneur est l'homme) qui représente le gène d'intérêt, et celui d'un vecteur (qui est généralement une espèce totalement différente).

Le fragment d'intérêt (gène codant) doit être identifié, isolé, puis coupé par des enzymes de restriction, ensuite il est inséré dans le vecteur pour former une nouvelle

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

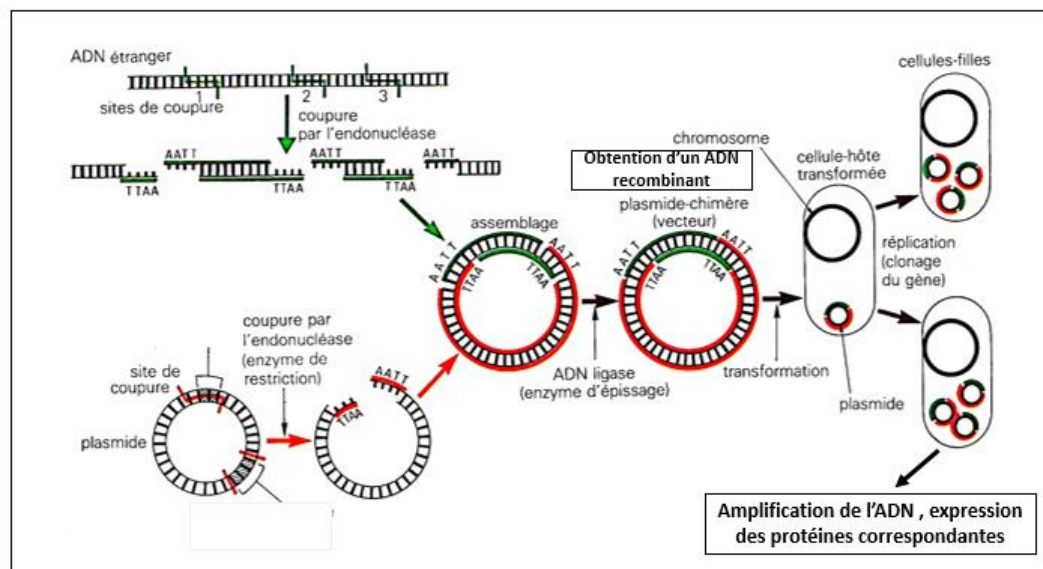
combinaison. Cette nouvelle combinaison d'ADN sera exprimée dans un micro-organisme, des cellules animales, végétales ou dans un organisme supérieur, par la formation d'une protéine dite : recombinante [37].

### 6.1.1.1 Choix du gène codant pour la protéine d'intérêt

Le gène codant pour la séquence protéique d'intérêt est le premier élément clé de ce système, car seule une séquence génique correcte permettra d'obtenir l'expression d'une protéine dont la séquence primaire sera conforme.[3]

Le gène d'intérêt issu de l'ADN humain est alors isolé grâce à des enzymes. Deux enzymes vont jouer un rôle dans l'insertion, une pour cliver l'ADN appelée l'endonucléase, et l'autre pour lier deux fragments d'ADN appelée l'ADN ligase.[36]

Les enzymes de restriction vont découper l'ADN « étranger » humain en des sites spécifiques pour obtenir le fragment du gène d'intérêt et ouvrir l'ADN circulaire « vecteur » appelé plasmide. L'ADN ligase va permettre de souder le fragment d'ADN étranger au plasmide ouvert. On obtient ainsi l'ADN qu'on qualifie de « recombinant » qui est prêt à être inséré dans la cellule hôte qui exprimera le gène d'intérêt.



**Figure 6: La sélection du gène d'intérêt et la constitution de l'ADN recombinant**

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

### 6.1.1.2 Choix de la cellule hôte

Il existe deux familles de cellules hôtes : les procaryotes tels que les bactéries (E.coli, bacilles subtilis...Etc), et les eucaryotes qui comprennent les levures, les cellules de mammifères, les cellules d'insectes et les plantes transgénique...Etc. Le tableau ci-dessous présente les avantages et les inconvénients des principaux hôtes utilisés pour la production d'une protéine recombinante[37].

Le choix de la cellule hôte et du système d'expression dépendent essentiellement de deux critères :

- La complexité de la structure protéique de la molécule d'intérêt, et la nécessité (ou non) d'une phase de modification post-traductionnelles (glycosylation, carboxylation, clivage protéolytique).
- Des critères économiques, sachant qu'une culture à grande échelle d'Escherichia coli est moins onéreuse que s'il s'agit de cellules animales, qui croissent lentement et qui nécessitent des milieux complexes et coûteux.

Le système d'expression, c'est à dire la cellule hôte choisie, a une influence directe sur les caractéristiques du produit, tel que : les impuretés, la répartition des isoformes et autres variants structuraux.

**Tableau 5 : Les différences entre les cellules hôtes utilisées pour la production des protéines recombinantes**

<b>Procaryotes</b>			
Hôte producteur	Avantages	Inconvénients	Exemples d'utilisation
Bactéries (Exp : Escherichia coli)	-Utilisation simple. -Très bonne connaissance de sa génétique. -Bons rendements  -Croissance rapide dans des milieux simples et peu coûteux.	-Limité à la production des protéines ne nécessitant pas des modifications post-traductionnelles.  -Produit des protéines dans des corps d'inclusion qui nécessitent une étape de	-Insuline -Somatotropine -Hormone de croissance

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

			« dénaturation-renaturation » délicate, et qui risque de donner des protéines à conformations anormales et donc une immunogénicité élevée.	
<b>Eucaryotes</b>				
Eucaryotes inférieurs	Levures et Champignons	-Génétique métrisée. -Effectuent des modifications post- traductionnelles simples. -Des conditions de cultures simples. -Rendement proche des systèmes bactériens. -Pas d'endotoxines.	-Limités à des glycosylations simples -Les levures forment des N- glycosylations riches en mannoses, fortement immunogènes chez l'homme (mais des nouvelles souches sont développés afin d'obtenir des N-glycosylations humanisées).	-Insuline -Hirudine -GM-CSF
Eucaryotes Supérieurs	Les cellules isolées d'insectes (Exp : Spodopterafrugiperda et Trichoplusia ni)	-Permettent l'expression de transgène de grande taille. -Effectuent la plupart des modifications post- traductionnelles. -Faible cout de production.	-Complexes à mettre en œuvre -Cout élevé et rendement faible. -Conditions de culture très contraignantes. -Certaines glycosylations peuvent induire des réactions allergiques.	-Vaccins
	Les cellules isolées des mammifères Exp : CHO (chinese hamster ovary)	-Sont les plus utilisées dans la production des protéines recombinantes.	-Croissance relativement lente. -Consommation rapide des nutriments du	-L'utilisation des cellules CHOP pour la production de l'activateur tissulaire du

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

		-Capacité importante à réaliser des MPT de type humain. -Culture dans des milieux sans sérum. -Forte capacité à sécréter des protéines d'intérêt.	milieu. -Production élevée en métabolites toxiques.	plasminogène (t-PA) en 1986 -Anticorps monoclonaux -EPO
	Animaux transgéniques	- synthèse de protéines complexes.	-Coût de production élevé	-Anticoagulants et Hormones de croissance
	Plantes transgéniques	-Synthèse des protéines complexe.	-Contamination de pesticide, herbicide	-Anticorps monoclonaux

### 6.1.2 La banque de cellules

Afin d'assurer l'homogénéité et la reproductibilité de la production de la protéine d'intérêt, un système de banque cellulaire ou encore appelé le système de lot de semence est alors établi. Ce système a deux niveaux :

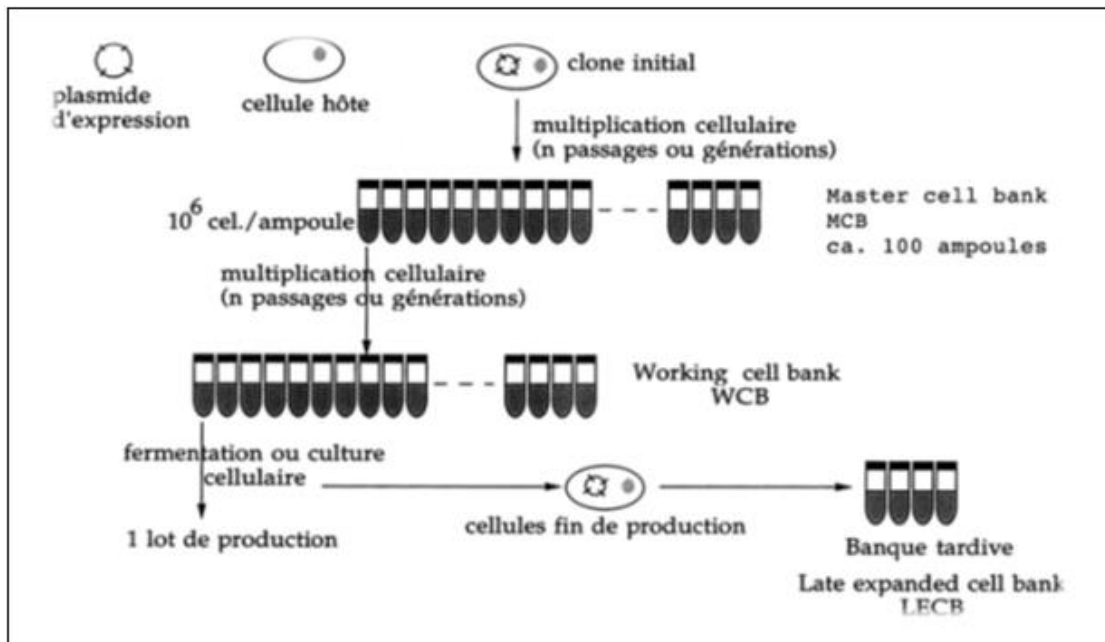
- 1) La banque cellulaire primaire ou « Master Cell Bank » (MCB).
- 2) La banque cellulaire de travail ou « Working Cell Bank » (WCB).

La banque de cellule primaire (MCB) est constituée à partir du clone cellulaire d'intérêt qui renferme le vecteur d'expression, qui est mis en culture, et la population obtenue est répartie dans des tubes qui sont cryo-conservés.

Pour assurer la pérennité de cette MCB, on prépare une banque cellulaire de travail (WCB) en amplifiant un tube de la MCB avec répartition des cellules ainsi produites en cryo-tubes, puis à partir d'un tube de la WCB que chaque lot de production sera initié. Une fois que la WCB commence à être épuisée, on recommence les étapes à partir de la banque cellulaire primaire.

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

On peut déduire que la MCB est une donnée impérative à conserver par le fabricant, il doit garder plusieurs MCB stockées dans différents endroits sécurisés et en quantité suffisante, car il doit assurer que la production sera toujours initiée à partir de la même cellule génétiquement modifiée [3].



**Figure 7: La banque des cellules**

### 6.1.2.1 La culture et L'expansion cellulaire

Elle représente le début de la production industrielle, la banque cellulaire de travail (WCB), après sa décongélation, est mise en culture dans un milieu de culture approprié, c'est l'expansion cellulaire ou le SCALE UP (mise à l'échelle). Une fois que la concentration cellulaire optimale est obtenue, la culture est inoculée dans un bioréacteur industriel d'une capacité de plusieurs milliers de litres.

Le bioréacteur appelé également fermenteur ou propagateur, est une enceinte qui permet la culture de tout type de cellules (animales, végétales, levures et bactéries). Il répond à des critères de conception permettant d'influer efficacement la culture, de contrôler et de piloter les paramètres physico-chimiques tels que la température, le PH, la pression ou l'agitation. Les conditions de la culture, la façon par laquelle la cellule hôte est entretenue,

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

nourrie, oxygénée...Etc, sont des éléments qui déterminent les rendements de production et la qualité intrinsèque de la protéine produite.

Pour illustrer l'importance et la criticité des conditions de culture pour obtenir une protéine de qualité déterminée, il faut rappeler que la qualité et l'intensité de la glycosylation réalisée par les cellules eucaryotes sont notamment sous la dépendance des conditions de cultures auxquelles est soumise la cellule hôte. On observe ainsi, qu'un changement de pH, une modification de la pression partielle d'oxygène ou encore une modification dans la vitesse des apports en hydrates de carbone entraîne des modifications dans la répartition des isoformes glycosylées.

Dans le contexte de la production d'une protéine dite « biosimilaire » on comprend donc que la mise au point d'un procédé de production aussi proche que possible du procédé utilisé pour la produire la protéine de référence, et la maîtrise de la reproductibilité de ce procédé, sont des éléments clés pour garantir que la protéine biosimilaire sera, effectivement, aussi similaire que possible à la protéine de référence, dans tous ses aspects structuraux et physico-chimiques [3].



**Figure 8: Les bioréacteurs pharmaceutiques**

### 6.1.2.2 La Récolte

La technique de la récolte varie selon le type de système d'expression de la protéine :

- Si le système d'expression est intracellulaire, la protéine se trouve à l'intérieur de la cellule, donc pour la libérer, il faut d'abord lyser les cellules, puis récupérer la protéine du milieu de culture.



## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

- Si le système d'expression est extracellulaire, la protéine est sécrétée au dehors de la cellule dans le milieu de culture, on recueille donc ce dernier contenant la protéine recombinante, et on élimine par la suite les cellules.

Cette phase de récolte est particulièrement longue et s'effectue de manière journalière par des prélèvements au sein du bioréacteur. Les techniques de filtration et /ou centrifugation sont mises en pratique pour séparer la protéine d'intérêt des différents constituants indésirables tels que le milieu et les débris cellulaires [36].

### 6.1.2.3 La purification

L'objectif de cette étape est d'éliminer les substances dites « contaminantes », notamment celles issues de la cellule productrice (ADN et protéines), des matières premières utilisées (réactifs, milieu de culture...), et les produits de dégradation. Et aussi d'éliminer les agents pathogènes transmissibles et apportés par les différents éléments biologiques mis en œuvre tout au long du procédé tels que les virus.

Différentes techniques sont utilisées pour extraire et purifier les protéines, chacune présentant un niveau de spécificité (afin de ne sélectionner que la protéine d'intérêt), de rendement (quantité de protéines d'intérêt éliminées avec les effluents) et de maintien de l'intégrité moléculaire de la protéine en cours de purification.[3]

L'une des premières étapes consiste à réaliser une chromatographie d'affinité, qui sert à isoler spécifiquement la protéine d'intérêt en retenant celle-ci sur un support, et d'éliminer la plupart des impuretés. En parallèle, le produit est soumis à une inactivation virale à pH acide.

Ensuite, vient l'étape de polissage qui consiste à éliminer les impuretés restantes comme les entités biologiques liées au procédé (protéines de la cellule hôte, ADN résiduel, protéine A, etc.) et les impuretés liées au produit (agrégats, produits de dégradation). Les deux principales chromatographies utilisées pour le polissage sont la chromatographie par échanges d'ions et la chromatographie par interactions hydrophobes.

Enfin l'ultime étape est celle de l'élimination virale en passant le produit à travers un nano-filtre [36].

## **Partie I : Généralités sur les Biosimilaires**

L'étape de purification peut durer plusieurs mois, on obtient une protéine dite « purifiée » dont le niveau de pureté doit être qualifié et vérifié par rapport à des normes ou spécifications préalablement fixées.

À ce stade du procédé, la protéine est donc considérée comme « substance active » qui peut être stockée pour conservation avant d'être mise en forme pharmaceutique.

Il faut noter que le système de purification peut aussi introduire des différences de profil de qualité de la protéine, entre les lots de production, ou entre les producteurs :

- En sélectionnant des isoformes qualitativement et quantitativement différentes.
- En provoquant, par des conditions plus ou moins drastiques de purification, des dénaturations/dégradations de la molécule purifiée[3].

### **6.1.2.4 La mise en forme pharmaceutique**

La mise en forme pharmaceutique, aussi appelée formulation galénique, consiste à inclure la protéine d'intérêt thérapeutique dans une forme médicamenteuse qui permettra son administration au patient.

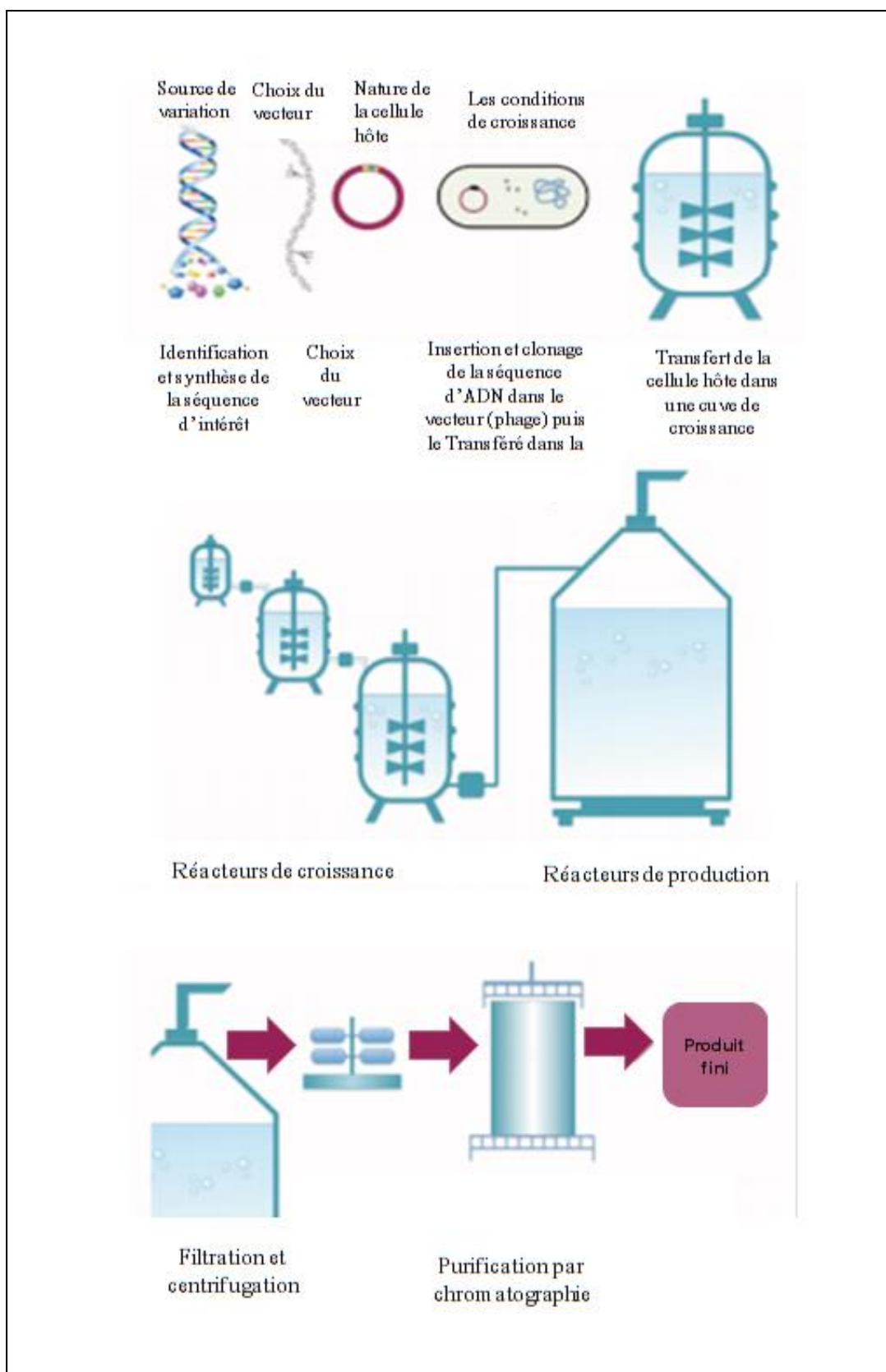
S'agissant de protéines, ces substances ne peuvent pas être administrées par voie orale. Il faut donc préparer un médicament qui sera administré par voie injectable (sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse).

Pour cela, il faut procéder à la mise au point d'une « formule » avec des excipients dont le rôle sera d'assurer la meilleure solubilisation possible de la protéine, et le maintien de son intégrité physique (pas de formation d'agrégats par exemple) et chimique (pas d'altération des propriétés chimiques telles qu'une oxydation, réduction, perte de groupement ou de glycosylation, etc.) puisque toutes les réactions de dégradation sont essentiellement sous le contrôle des conditions chimiques (pH, force ionique, humidité, etc.) et/ou physiques (température de stockage, état liquide ou solide) imposées à la protéine. Cette étape de formulation et de choix des excipients et des conditions de mise en forme pharmaceutique, permet d'assurer la compatibilité de la substance active avec son environnement final d'administration et de garantir la stabilité du principe actif dans le médicament aussi bien au cours de la fabrication que durant toute la conservation.

## **Partie I : Généralités sur les Biosimilaires**

Cette dernière étape doit être intégrée dans le procédé global de production du médicament, comme une source possible de difficultés techniques pour l'obtention d'un médicament de qualité. [3]

Les procédés de mise en forme pharmaceutique actuels font surtout intervenir la lyophilisation, car elle permet de mieux conserver le médicament et de maintenir sa stabilité. Protéines thérapeutiques Une fois formulées, les protéines thérapeutiques nécessitent des précautions d'emploi particulières tout au long de la chaîne de distribution : la chaîne du froid doit être respectée, elles doivent être protégées de la lumière et ne pas être brutalement agitées. Enfin, le remplissage doit être réalisé de manière aseptique afin de ne pas contaminer le produit.[38] .



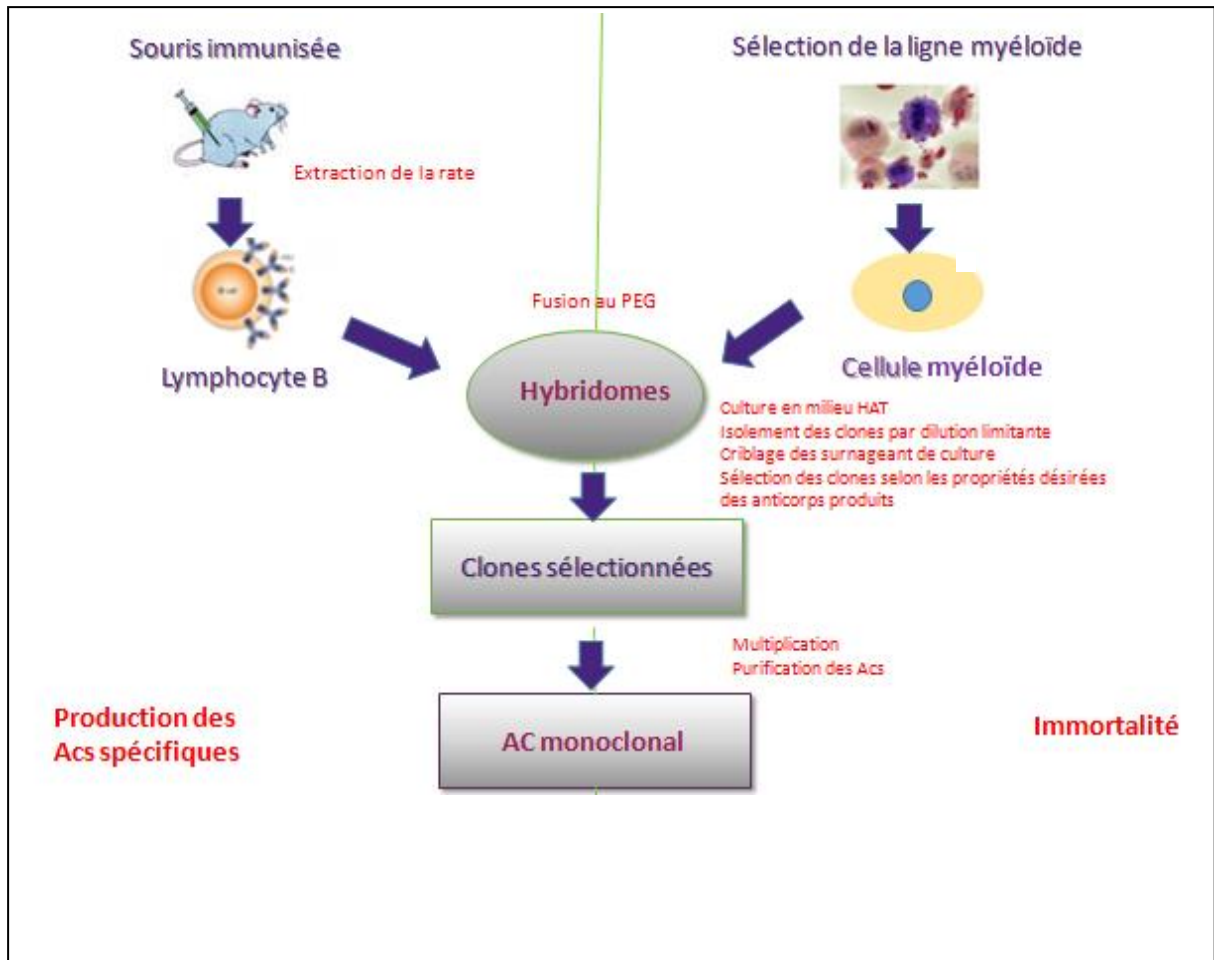
**Figure 9: Le processus de fabrication des biomédicaments**

### 6.1.3 La production des anticorps monoclonaux

Un anticorps monoclonal est un anticorps qui a été fabriqué par une seule et même cellule, clonée en plusieurs milliers de cellules identiques. La spécificité de ces anticorps en fait leur intérêt thérapeutique. La production des anticorps monoclonaux (mAb), commence généralement par la génération de cellules productrices de mAb (c'est-à-dire des hybridomes) en fusionnant des cellules de myélome avec les splénocytes producteurs d'anticorps souhaités.

#### 6.1.3.1 La technique de l'hybridome

- **Immunisation des souris et isolement des splénocytes** : les souris sont immunisées avec un antigène, puis la production d'anticorps est recherchée dans le sang. Les splénocytes produisant des anticorps sont ensuite isolés pour la production d'hybridomes **in vitro**.
- **Préparation des cellules de myélome** : les cellules de myélome sont des cellules immortalisées qui, une fois fusionnées avec des cellules de rate, peuvent produire un hybridome capable de croissance illimitée. Les cellules de myélome sont préparées pour la fusion.
- **Fusion** : les cellules de myélome et les splénocytes isolés sont fusionnés pour former des hybridomes en présence de polyéthylène glycol (PEG), ce qui permet la fusion des membranes cellulaires.
- **Criblage et sélection de clone** : les clones sont criblés et sélectionnés en fonction de la spécificité de l'antigène et de la classe d'immunoglobulines.
- **Caractérisation fonctionnelle** : confirmer, valider et caractériser (Exp : ELISA) chaque colonie permettant potentiellement une production élevée.
- **Extrapolation et sevrage** : extrapoler les clones produisant les anticorps souhaités et sevrer le ou les agents de sélection.
- **Expansion** : développer les clones produisant les anticorps souhaités (Exp : bioréacteurs ou flacon de grande taille).[39]



**Figure 10: La méthode de la production des anticorps monoclonaux**

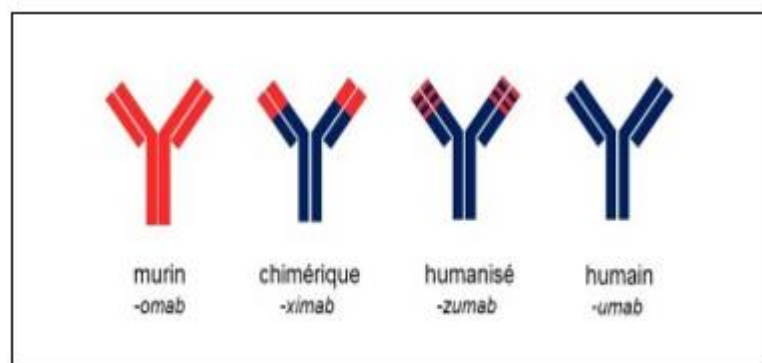
#### 6.1.4 Les types d'anticorps monoclonaux

Seules les IgG seront utilisées en thérapeutique :

- **Les anticorps murins (suffixe -omab)** sont des anticorps produits chez la souris. Le principal défaut de ces anticorps est la production d'anticorps humains anti-souris (HAMA) lorsqu'ils sont utilisés comme agent thérapeutique chez l'homme. Aujourd'hui leur utilisation est limitée.
- **Les anticorps chimériques (suffixe -ximab)** sont humains à 60%. Les parties constantes des chaînes lourdes et légères (CH et CL) d'anticorps humain sont greffées sur les parties variables respectives (VH et VL) d'un anticorps murin.

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

- **Les anticorps humanisés (suffixe -zumab)** sont humains à 90%. Des parties hypervariables (CDR) d'un anticorps murin sont greffées sur une immunoglobuline humaine. L'anticorps humanisé est mieux toléré par l'organisme humain car ressemble plus « au soi ». Son efficacité est renforcée car sa demi-vie est plus longue dans l'organisme.
- **Les anticorps humains (suffixe -umab)** sont humains à 100%. Ils ont l'avantage de limiter l'immunogénicité et diminuent le risque de synthèse d'anticorps humains anti-souris retrouvés lorsque des anticorps chimériques et humanisés sont utilisés.



**Figure 11: Les types d'anticorps monoclonaux**

Tout au long de cette partie (la production), nous avons énuméré et présenté les différents éléments scientifiques et techniques, liés à la nature même des substances biologiques, leur structure moléculaire complexe, leur procédé de production, de purification et leur mise en forme pharmaceutique, qui expliquent pourquoi, lorsqu'il s'agit de « copier » la molécule d'intérêt, il y a trop d'inconnus et de sources de problèmes pour que l'approche « médicaments génériques » soit scientifiquement applicable et suffisante pour garantir la qualité et la sécurité du médicament « copie ».

Seule une comparaison attentive des produits, de leurs conditions de production, de contrôle et de stockage, confortées par des données non cliniques et cliniques vont permettre aux autorités de santé d'assurer que, dans les limites des connaissances scientifiques, et dans les limites des investigations qui ont été menées, il n'a pas été possible de mettre en évidence des différences notables, potentiellement génératrices de profil d'efficacité et de sécurité différents, et qu'à ce titre les deux produits sont considérés comme « biosimilaires ».

### **6.2 La production des biosimilaires : le concept de la biosimilarité**

Pour qu'un médicament biosimilaire obtienne son AMM, la démonstration de sa similarité avec le médicament de référence est jugée nécessaire. Cette similarité est prouvée par une étude de comparabilité entre : le profil de qualité (qui permet de démontrer la forte similarité des propriétés physicochimiques et de l'activité biologique), de sécurité, d'efficacité et de tolérance ( par des études comparatives non cliniques et cliniques) d'un médicament biosimilaire par rapport à ceux de son médicament de référence.

Cet exercice de comparabilité a été instauré pour évaluer les impacts d'un changement dans le processus de fabrication biologique, et prouver la similarité du produit avant et après le changement [36].

#### **6.2.1 L'étude comparative de la qualité**

Cette étude fondamentale a pour but de comparer la structure de la protéine et sa fonction biologique. Il peut exister des différences de structure mineures pour la substance active ou des différences dans les profils d'impuretés, celles-ci peuvent être acceptables si elles sont justifiées en terme de leur impact sur la sécurité et l'efficacité du produit fini.

L'étude est effectuée par une association des tests analytiques physicochimiques et des tests biologiques, qui sont choisis en fonction de la complexité du produit, et en prenant en considération les limites de chaque test tel que : la spécificité et la limite de détection.

L'association de plusieurs méthodes différentes pour évaluer le même critère permet une meilleure détection des différences significatives entre le biosimilaire et le princeps.

Il faut noter que la démonstration de la similarité du produit par rapport au médicament de référence par le biais d'un plan de qualité bien détaillé, permet au fabricant de fournir des données cliniques et non cliniques plus restreintes que celles effectuées lors du développement d'un produit de références.

#### **6.2.2 L'étude comparative non-clinique**

C'est une combinaison d'études pharmacodynamiques et toxicologiques du biosimilaire, effectuée [41] :



## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

- **In vitro**: tel que l'étude de la liaison aux récepteurs, qui permet de comparer entre le mode d'action du biosimilaire par rapport à celui du médicament de référence (cette étude peut être déjà disponible dans les données de qualité et peut être jointe dans la partie non-clinique du dossier). Ainsi que les effets physiologiques immédiats dans les cellules.
- Et complétées par des études **in vivo**: sur des espèces animales pertinentes, sur lesquelles le produit de référence a démontré une activité pharmacodynamique et /ou toxicologique. Cette étude n'est requise que dans certains cas, par exemple lorsque le biosimilaire est produit dans un nouveau type d'organisme, ou s'il contient des nouveaux excipients non utilisés auparavant.

Les études non-cliniques doivent surveiller quand le modèle animal le permet :

- L'activité biologique/pharmacodynamique appropriée à l'application clinique.
- La toxicité non-clinique déterminée à dose unique et répétée, ce test doit inclure la détermination et la caractérisation des réponses humorales (anticorps), y compris les titres d'anticorps anti-produits, la réactivité croisée avec les protéines endogènes homologues, et la capacité de la neutralisation du produit. La durée de cette étude doit être suffisamment longue pour permettre la détection des différences possibles dans la toxicité et les réponses d'anticorps entre le produit biosimilaire et le produit de référence

### 6.2.3 L'étude comparative clinique

Cette étape menée chez l'homme, a pour but d'évaluer l'efficacité et la tolérance du médicament biosimilaire, par le biais d'étapes comparatives de tête en tête avec le médicament de référence en commençant par :

**Des essais cliniques de phase 1**: qui recrutent de patients sains, leur objectif est d'évaluer la bioéquivalence entre le biosimilaire et le médicament de référence (c'est-à-dire lorsqu'ils sont administrés à la même concentration, ils engendrent les mêmes effets), et ça par le biais d'études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

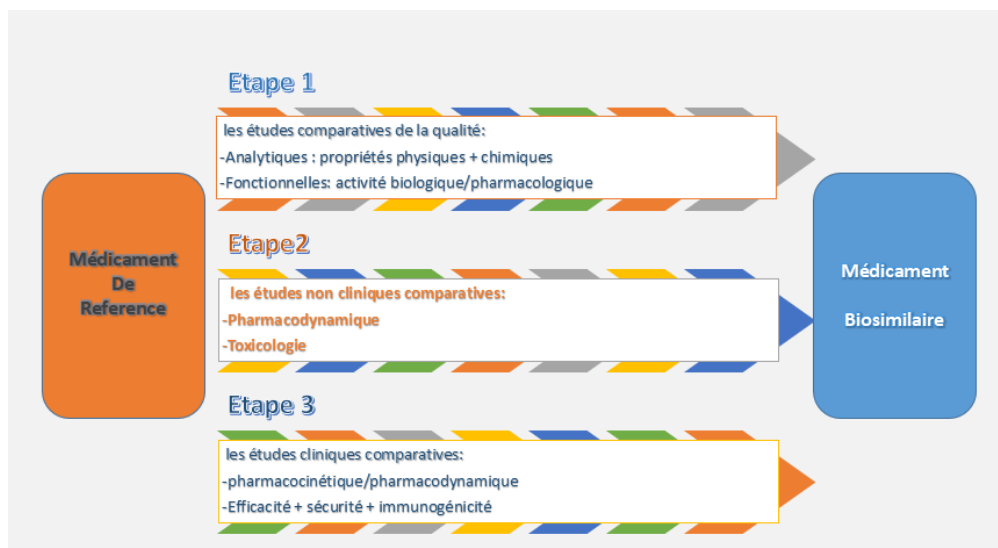
**Des essais cliniques de phase 3** : ils recrutent une population dite « sensible », et a comme objectif d'évaluer la similarité d'efficacité, de sécurité, et d'immunogénicité. Cette étape est

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

primordiale car même si l'efficacité est démontrée, la tolérance risque de ne pas être identique à celle du princeps s'il existe des différences en termes d'attributs de qualité, non apparentes ou difficiles à mettre en évidence au plan analytique, et qui peuvent avoir des conséquences cliniques imprévisibles

**Des études post commercialisation** : afin de suivre les effets indésirables imprévisibles et qui peuvent apparaître à long terme, un programme de pharmacovigilance doit être mis au point après la mise sur le marché du biosimilaire.

**Des études d'immunogénicité comparatives** : Les tests d'immunogénicité du biosimilaire et du produit de référence doivent être réalisés dans le cadre de l'exercice de comparabilité des biosimilaires en utilisant le même format de test et le même calendrier d'échantillonnage. La démonstration d'une incidence similaire des ADA et d'une bonne concordance entre les tests constitue une bonne preuve d'une immunogénicité comparable. La constatation que le biosimilaire est plus immunogène doit déclencher une enquête sur la cause profonde de la différence, y compris les questions méthodologiques [42].



**Figure 12: Le processus comparatif du développement d'un médicament biosimilaire**

Il faut noter que le médicament biosimilaire n'obtient son AMM, que si les résultats de ces études prouvent une efficacité similaire/ non inférieure avec celle de médicament de référence, car une efficacité supérieure contredit l'hypothèse de la similarité, et peut mettre

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

en danger le patient (exemple : problème de sécurité dans le cas d'un médicament à indice thérapeutique étroit). Ainsi qu'un profil d'immunogénicité comparable. [41]

Pour résumer ce que nous avons expliqué précédemment, le tableau ci-dessous fait une comparaison entre la procédure du développement d'un biosimilaire par rapport à celle du médicament de référence :

**Tableau 4: Vue sur l'ensemble du développement d'un médicament biosimilaire par rapport à un médicament de référence [30].**

<b>Médicament biologique contenant une nouvelle substance active (par exemple médicament de référence)</b>	<b>Médicament Biosimilaire</b>
<b>Aucune connaissance préalable concernant la sécurité et l'efficacité</b>	Bénéficie des connaissances en matière de sécurité et d'efficacité accumulées au cours des années d'utilisation clinique du médicament de référence
<b>Le développement vise à démontrer la sécurité et l'efficacité directement chez les patients</b>	Le développement vise à démontrer une sécurité et une efficacité comparables en établissant la biosimilarité
<b>Études de comparabilité uniquement pour les modifications de la fabrication au cours du développement (par exemple production de lots plus importants pour les essais cliniques)</b>	Études de comparabilité exhaustives avec le médicament de référence
<b>Intégralité des données non cliniques (pharmacologie et toxicologie)</b>	Quantité de données non cliniques déterminée par le résultat des études relatives à la qualité
<b>Essais cliniques traditionnels pour démontrer l'efficacité et la sécurité pour toutes les indications thérapeutiques revendiquées</b>	Essais cliniques comparatifs destinés à exclure toute différence significative sur le plan clinique
<b>Essais principalement conçus pour comparer le médicament avec un placebo ou avec un traitement de référence au moyen de critères d'évaluation «absolus» (par exemple résultats à long terme, mortalité, dommages structurels) et dans une population de patients appropriée en vue de démontrer un bénéfice</b>	Essais conçus principalement pour démontrer l'équivalence clinique avec le médicament de référence au moyen de critères d'évaluation sensibles dans une population chez laquelle des différences de performance clinique liées au produit peuvent être décelées
<b>Rapport bénéfice/risque positif principalement établi sur la base des études relatives à la sécurité et à l'efficacité réalisées dans la population cible.</b>	Rapport bénéfice/risque positif fondé sur la démonstration de la bio-similarité (au moyen des études de comparabilité)

### 7 Spécificités des biosimilaires

#### 7.1 Extrapolation

L'extrapolation est un principe scientifique bien établi utilisé régulièrement depuis de nombreuses années, par exemple lorsqu'un médicament biologique pour lequel plusieurs indications sont approuvées ou qu'il connaît d'importantes modifications au niveau de son procédé de fabrication (par exemple un nouveau site de fabrication ou le développement d'une nouvelle formulation).

L'effet potentiel de ces modifications sur la performance clinique du médicament biologique est soigneusement évalué au moyen d'études de comparabilité.

La difficulté rencontrée par les développeurs de biosimilaires est qu'il n'y a généralement pas d'accès direct aux données propriétaires des sociétés créatrices. Le développeur d'un biosimilaire doit alors, nécessairement, mettre en place un nouveau procédé de fabrication en partant de zéro. Si une similarité clinique peut être démontrée entre un médicament biologique de référence et son biosimilaire dans une indication considérée comme représentative, l'extrapolation des données d'efficacité et de sécurité à d'autres indications approuvées pour le médicament biologique de référence peut être envisagée sous certaines conditions [3].

##### 7.1.1 Critères d'extrapolation

D'importantes considérations doivent être prises en compte avant d'autoriser une indication pour un médicament biosimilaire sur la base de données de sécurité et d'efficacité extrapolées. Parmi ceux-ci figurent les éléments suivants:

##### 7.1.1.1 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action de la substance active doit dépendre du ou des mêmes récepteurs pour l'indication initiale et l'indication extrapolée. Si le mécanisme d'action de la substance active est complexe et fait intervenir de multiples récepteurs ou sites de liaison (comme c'est souvent le cas pour les anticorps monoclonaux), il peut s'avérer difficile de définir la contribution de chacun des récepteurs ou sites de liaison pour chaque indication.

## **Partie I : Généralités sur les Biosimilaires**

Dans ce cas, des études supplémentaires (non cliniques ou cliniques) seront nécessaires pour prouver que le médicament biosimilaire et le médicament de référence se comportent de la même manière pour l'indication extrapolée.

### **7.1.1.2 Population de l'étude visée**

Des études exhaustives de comparabilité doivent montrer que le médicament biosimilaire présente une forte similarité avec le médicament de référence (au moyen de données relatives à la sécurité, l'efficacité et l'immunogénicité) pour une indication clé chez une population dans laquelle d'éventuelles différences en matière de performance clinique peuvent être détectées.

### **7.1.1.3 Extrapolation des données de sécurité**

Les données de sécurité ne peuvent être extrapolées qu'après l'établissement d'un profil de sécurité comparable pour le médicament biosimilaire pour une indication thérapeutique. Si la comparabilité est démontrée au niveau structurel, fonctionnel, pharmacocinétique et pharmacodynamique, et que l'efficacité est comparable, alors, les effets indésirables liés à l'action pharmacologique du médicament biosimilaire devraient être les mêmes et se produire à des fréquences similaires.

### **7.1.1.4 Extrapolation des données d'immunogénicité**

L'extrapolation des données d'immunogénicité n'est pas automatique, car elle requiert toujours une justification. Cela s'explique par le fait que l'immunogénicité ne dépend pas uniquement de caractéristiques liées au produit. Il convient également de prendre en considération des facteurs liés aux patients (âge, statut immunitaire), aux maladies (pathologies associées, traitements concomitants) ou au traitement (voie d'administration, durée de l'exposition).

## **7.2 L'interchangeabilité**

### **7.2.1 Définition**

#### **➤ Selon l'EMA**

Interchangeabilité : « désigne la possibilité de remplacer un médicament par un autre médicament censé avoir le même effet clinique. Il peut s'agir de remplacer un produit de

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

référence par un médicament biosimilaire (ou inversement) ou de remplacer un médicament biosimilaire par un autre médicament biosimilaire. »

Ce remplacement peut s'effectuer via deux modalités :

- Permutation : « qui désigne le fait, pour le prescripteur, de remplacer un médicament par un autre médicament avec le même objectif thérapeutique ».
- Substitution (automatique) : « qui désigne la pratique consistant, pour le pharmacien, à délivrer un médicament à la place d'un autre médicament équivalent et interchangeable sans en référer au prescripteur ».

Ainsi, si le changement de traitement est fait à l'initiative du prescripteur, on parlera de permutation, s'il est à l'initiative du pharmacien on parlera de substitution automatique. L'EMA ne se prononce pas concernant l'application de l'interchangeabilité. Elle laisse à chaque Etat membre la compétence pour trancher des règles à appliquer. Ainsi, on retrouve des disparités au sein même de l'UE[30].

### ➤ Selon la FDA

Aux EU, la définition d'interchangeabilité diffère à celle de l'Europe. La FDA donne la définition suivante[43][44] :

“L'interchangeabilité signifie qu'un produit biologique ayant été qualifié d'interchangeable peut être substitué au produit de référence sans l'intervention du prescripteur qui a prescrit le produit de référence. Cette pratique se fait au niveau des pharmaciens.”

Ainsi, la notion d'interchangeabilité aux EU est semblable à la définition européenne du terme « substitution ».

La FDA approuve un statut biosimilaire et peut aussi, à la demande du titulaire de l'AMM et si toutes les exigences sont remplies, octroyer le statut d'interchangeable au biosimilaire via une procédure spécifique. Les exigences sont les suivantes :

- Le produit « interchangeable » doit être un biosimilaire d'un médicament de référence.
- Il doit produire les mêmes résultats cliniques que le produit de référence chez tout patient.

## Partie I : Généralités sur les Biosimilaires

Pour les produits administrés plus d'une fois à un individu, les risques concernant la sécurité et la diminution d'efficacité, d'alterner ou de changer entre le produit «interchangeable» et le produit de référence ne doivent pas être plus hauts que les risques liés à l'utilisation du produit de référence sans alternance ni changement.

La FDA recense tous les produits biologiques, les biosimilaire et les produits biologiques interchangeables approuvés dans un document « Purple Book » mis à disposition sur son site internet. Ils ont même pensés à la création d'un statut de « biosimilaire interchangeable », le fabricant du biosimilaire doit alors apporter la preuve par un essai clinique que l'alternance des traitements ne présente pas plus de risque de perte d'efficacité ou d'intolérance que la poursuite du biomédicament initialement prescrit.

Il est à noter que les lois et pratiques sur la substitution au niveau des pharmacies peuvent différer d'un Etat fédéral à l'autre. Il convient de vérifier la réglementation de chacun des Etats pour s'en informer[45].

**Par conséquent**, il y a un manque d'harmonisation mondiale sur les définitions des termes, qui n'ont pas la même signification selon les régions. Cela peut créer des confusions et il est donc très important de bien prendre connaissance des définitions inhérentes à chaque pays pour s'assurer que l'on parle bien des mêmes concepts [47].

Un certain nombre de pays n'ont encore pas établi de cadre concernant la substitution en pharmacie, cela concerne surtout les zones d'Amérique Latine, **Afrique** et Moyen-Orient, les résultats sont alors issus de ce qui se fait en pratique courante en officine. En revanche, l'Europe, l'Amérique du Nord ou l'Asie-Pacifique ont, en général, des règles ou directives pour guider les politiques et la pratique [64].

### 7.2.2 Concept

Bien que le biosimilaire et son biologique de référence puissent montrer une efficacité similaire, le biosimilaire peut cependant présenter un profil de sécurité très différent en termes de nature, gravité ou encore incidence des effets indésirables. L'enregistrement des biosimilaires requiert davantage de données que pour les génériques classiques. Comme déjà cité, les fabricants doivent démontrer l'efficacité et la sécurité du produit par des études précliniques et cliniques très approfondies.[46]

### 7.2.3 Conditions

L'interchangeabilité doit être raisonnée et tenir compte de l'intérêt du patient. Les trois conditions suivantes doivent être respectées :

- Informer le patient et recueillir son accord
- Assurer une surveillance clinique appropriée lors du traitement ;
- Assurer une traçabilité sur les produits concernés (le produit prescrit doit être inscrit dans le dossier du patient).

### 7.3 Spécificité sur le plan économique

#### 7.3.1 Réduction des coûts

Cet intérêt économique se confirme par la diminution du prix du biosimilaire par rapport à la molécule d'origine. Sur le marché européen, les biosimilaires ont permis une réduction moyenne du prix de 20 à 30% par rapport au médicament de référence. Mais qui reste quand même moins importante que celle des génériques qui permettent eux une économie de 70 à 80%.L'arrivée d'un biosimilaire sur le marché a permis non plus la réduction du prix de son médicament de référence, variant entre 3% et 39% suivant la molécule (à cause de la concurrence que cet arrivée peut engendrer) mais a également un impact sur l'ensemble de la classe thérapeutique à laquelle appartient le médicament, avec des réductions de prix pouvant aller jusqu'à 27% [48].

**Par conséquent**, les médicaments biosimilaires permettent des réductions importantes des dépenses de santé.

Ces économies peuvent être réinvesties dans la santé de plusieurs manières

- Elles peuvent être utilisées pour améliorer l'accès à des molécules innovantes, par exemple en réinvestissant l'argent pour le remboursement des médicaments biologiques.
- Pour donner davantage de moyens humains et matériels aux hôpitaux afin d'améliorer la qualité et l'organisation des soins.
- Ainsi, l'idée du « gain partagé », peut permettre de soutenir l'intégration des biosimilaires sur le marché



- Financer directement la recherche de nouvelles molécules innovantes.[48]

### **7.3.2 Sécurité d'approvisionnement**

Les médicaments biosimilaires permettent une meilleure sécurité d'approvisionnement des médicaments biologiques. Ils permettent de pallier les tensions d'approvisionnement et constituent une alternative en cas de rupture de stock du médicament de référence ou d'un autre biosimilaire. C'est un point positif important car les pathologies traitées sont souvent graves et invalidantes.

Il est donc primordial que le patient puisse avoir la garantie d'avoir toujours accès à son traitement.

### **7.3.3 Autonomie de prescription**

Pour assurer les meilleurs résultats chez les patients, il est essentiel que les prescripteurs disposent du plus large choix de médicaments possible. Disposant d'un arsenal thérapeutique de médicaments biologiques plus important, les prescripteurs peuvent opter pour les traitements les plus adaptés à la situation des patients et obtenir de meilleurs résultats dans la prise en charge médicale.[48]

### **7.3.4 Accessibilité aux patient**

L'arrivée des biosimilaires a permis une augmentation significative de la consommation des molécules biologiques grâce à une concurrence accrue, et ainsi une meilleure accessibilité à ces molécules pour les patients. Cela peut laisser supposer qu'une partie des patients prenant les médicaments de référence est passée sous le biosimilaire. Ceci est donc favorable d'un point de vue économique pour les payeurs.

Ainsi, l'augmentation de l'utilisation des molécules biologiques suite au lancement des biosimilaire démontre l'impact positif qu'ils ont sur l'accessibilité des patients.

**PARTIE II**  
**IMMUNOGÉNÉICITÉ**  
**DES**  
**BIOSIMILAIRES**

### 1 Généralités

Le terme immunité (du latin immun) s'adresse initialement à la résistance des individus vis-à-vis de l'infection microbienne. Cette définition s'est élargie aujourd'hui à l'ensemble de la réaction tendant à éliminer des substances étrangères. Par extension, on désigne aussi sous ce nom l'ensemble des facteurs humoraux et cellulaires, spécifiques ou non de la substance introduite, qui protègent l'organisme contre les agressions infectieuses et parasitaires et les proliférations malignes.

Les réactions immunitaires n'ont pas toujours un rôle favorable, puisqu'elles peuvent entraîner des réactions d'hypersensibilités, par exemple sous la forme d'une anaphylaxie ou d'une maladie auto-immune quand un dérèglement de système immunitaire l'amène à réagir contre les propre tissus de l'organisme.

On distingue désormais deux forme de réponses immunitaire ; la réponse immunitaire innée, et la réponse immunitaire adaptative.

#### 1.1 L'immunité innée

L'immunité innée représente la première ligne de défense conte la substance étrangères, comme son nom indique, elle se met en place d'une manière rapide et spontanée, sans la nécessité de contact préalable avec l'agent étranger. Elle repose sur des effecteurs cellulaires et humoraux qui reconnaissent les motifs communs des agents pathogènes.

Il s'agit d'une réponse transitoire qui n'engendre pas d'une mémoire immunologique, c'est-à-dire, une fois la réponse terminée il ne restera « aucune trace » de la rencontre avec l'agent pathogène qui l'a suscité .Certains des acteurs cellulaires de l'immunité innée une fois activés vont jouer un rôle déterminant dans le déclenchement des réponses immunitaires adaptatives. Ces cellules qui constituent le lien entre les types de réponses sont les cellules dendritiques.

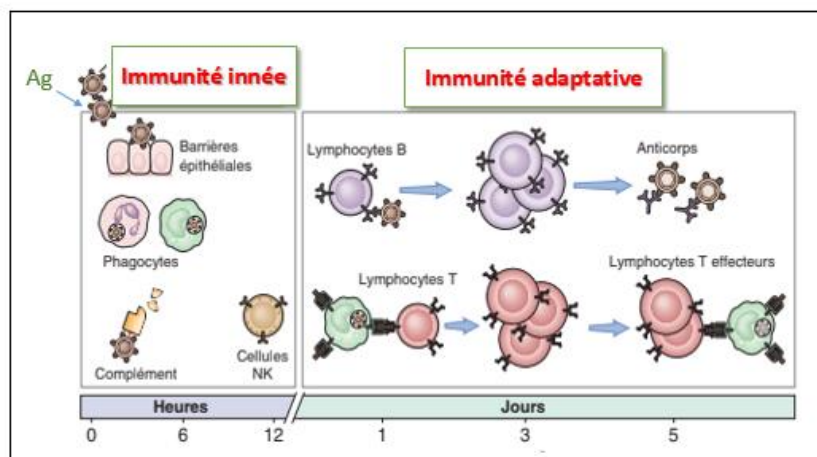
## 1.2 L'immunité adaptative

L'immunité adaptative repose sur l'action coordonnée des différents types de cellules fonctionnellement distinctes. On distingue les cellules présentatrices de l'antigène (CAP), les lymphocyte B (LB) qui produisent des anticorps, et différentes catégories de lymphocytes T auxiliaires qui produisent des cytokines, des facteurs solubles ou membranaires qui interviennent dans le phénomène de coopération et de différenciation cellulaires et qui représente les « hormones » du système immunitaire, et les lymphocyte T régulateurs.

Le dénominateur commun à principales réactions immunitaires adaptatives, qui les distingue des réponses immunitaires innées et qui a une spécificité pour la substance étrangère qui les induit est : « l'Antigène ». Il existe deux type de réactions d'immunité adaptative : la première médiée par les lymphocytes B appelé immunité humorale, et une autre médiée par les lymphocytes T appelée immunité cellulaire.

### 1.2.1 Les antigènes

Les antigènes sont des substances que le système immunologique d'un individu reconnaît comme étrangères, et qui provoquent des réponses immunitaires adaptatives par la production des anticorps. Chaque clone de lymphocytes B ou T exprime un récepteur unique, spécifique d'un antigène appelé : épitope.



**Figure 13: Les mécanismes de l'immunité naturelle assurent la défense initiale contre les infections**

### 2 L'immunogénicité

L'antigénicité est la capacité d'une structure chimique ou biologique (antigène ou haptène) à se lier spécifiquement à certains éléments du système immunitaire adaptatif : récepteurs des cellules T ou anticorps (récepteurs des cellules B).

Une molécule est dite immunogène, lorsqu'elle est capable d'induire une réaction immunitaire. L'immunogénicité est donc la capacité qu'a un antigène de provoquer une réponse immunitaire adaptative. Plus la réponse sera forte et induite facilement, plus l'antigène sera qualifié d'immunogène [50].

Il est important de souligner que la notion d'immunogénicité d'une molécule donnée est relative, quantitative et circonstancielle puisque elle est toujours liée au receveur, et dépend de son génome, de son passé immunologique et de ses conditions physiologiques du moment. Plus la voie d'administration de la substance, de la quantité administrée, de la présence d'adjuvants, etc [51].

Par conséquent, un antigène spécifique n'aura pas nécessairement la même immunogénicité chez tous les individus.[52] Dans ce travail, on s'intéresse à l'immunogénicité des biosimilaires, qui sont devenues la préoccupation majeure des producteurs des protéines thérapeutiques à travers le monde.

Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre I, la nature protéique des biosimilaires, leur grande taille et la complexité de leur structure ainsi que les autres facteurs, les rendent potentiellement immunogènes. Cette immunogénicité se traduit par le développement des « anticorps anti-médicament » ou « anti-drugantibodies » appelés : ADAs chez des patients ou d'individus traités par ce type de médicaments. Cette immunogénicité peut, ou non, avoir des conséquences sur l'efficacité du traitement ou la sécurité du patient.[53]

L'évaluation de l'immunogénicité et des conséquences cliniques possibles de celle-ci est un défi considérable et nécessite des études soigneusement planifiées et prospectives.

### 2.1 Définition ADA

Les protéines ont une grande capacité de liaison et d'interaction spécifiques avec d'autres molécules, une capacité de changement de conformation et d'activité selon les conditions physicochimiques, et enfin une immense variété de séquences et de structures. Toutes ces caractéristiques font des protéines, les molécules organiques les plus actives du vivant. C'est pourquoi le système immunitaire, adaptatif principalement, s'est spécialisé dans la capture, la reconnaissance et le contrôle de ces molécules au sein de l'organisme en produisant des Acs spécifiques de ces protéines.

Les ADA sont définis comme des Acs biologiquement réactifs à un médicament (spécialement les protéines thérapeutiques)[54]. Ils sont le résultat d'une réponse du système immunitaire adaptative humorale, lors de l'introduction d'une molécule thérapeutique de nature protéique dans l'organisme.

Les ADAs sont des immunoglobulines (Ig) de nature glycoprotéines douées d'activité **ANTICORPS**, ils sont présents dans le plasma, les liquides extra vasculaires, et les sécrétions. Ils sont produits par les lymphocytes B, et partagent avec d'autres Acs leur structure, et leur capacité de reconnaissance des antigènes (qui est dans ce cas une protéine thérapeutique), et d'activation des réactions immunitaires non souhaitées qui font apparaître des effets indésirables. [51]

Plusieurs termes sont utilisés pour désigner les ADA tels que : l'anticorps anti-thérapeutique (ATA), l'anticorps anti-produit (APA) ou l'anticorps anti-biologique (ABA).

#### 2.1.1 Structure des ADAs

Toutes les Ig, en dépit de leur très grande hétérogénéité, sont bâties sur un modèle de base commun symétrique ; celui de l'IgG monomère qui fut la première décrite leur poids moléculaire est d'environ 150 KD. Elles comportent toutes 4 chaînes polypeptiques groupées en deux paires identiques de taille inégale :

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

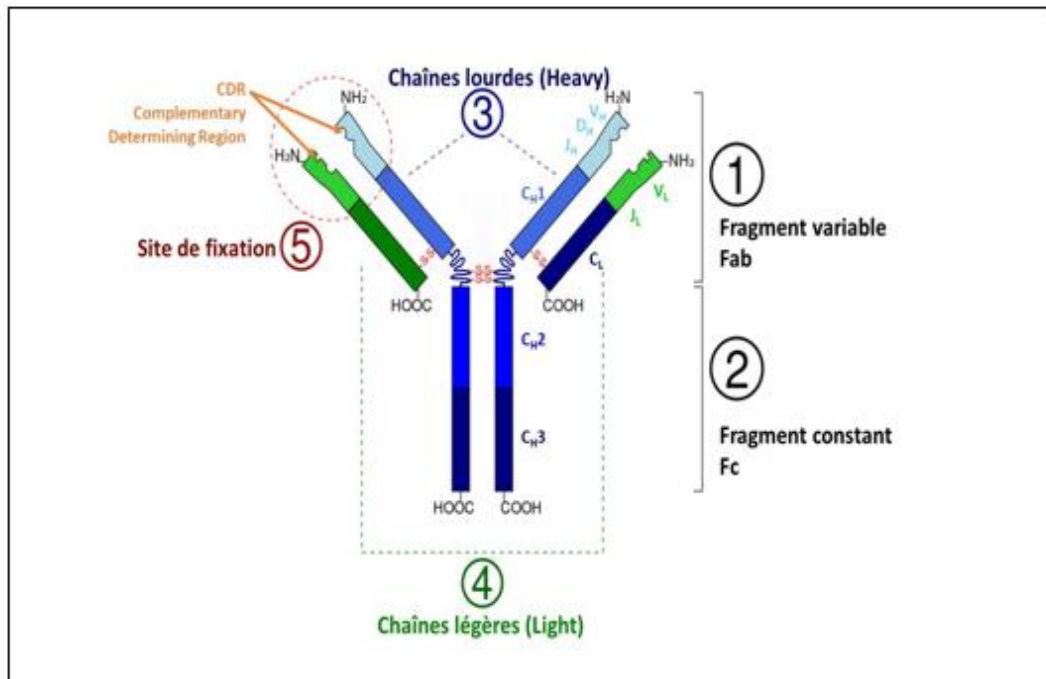
- 2 chaînes lourdes dite H pour « heavy », d'environ 50KD (450 à 600 acides aminés, unies entre elles par un ou plusieurs pont disulfures.
- 2 chaînes légères dites L pour « light » d'environ 25KD d'environ 210 à 220 acides aminés, unies aux chaînes lourdes par un pont disulfure très proche de leur extrémité carboxyterminale.

Les chaînes légères sont communes à l'ensemble des classes Ig des classes d'Ig, mais en distingue 2 types antigéniquement différents : le type **kappa** (k) et type **lambda**. Il n'existe pas de différence fonctionnelle entre les deux types, mais la répartition au sein de l'espèce est variable. Les chaînes lourdes et légères sont constituées d'**un domaine variable (V)** : (VH) et (VL), à l'extrémité N-terminale, et d'**un domaine constant** à l'extrémité C-terminale.

Dans un anticorps, les deux chaînes légères sont toujours du même type. Les chaînes lourdes sont au contraire spécifiques pour chaque classes d'Ig : on distingue cinq isotypes ( gamma , alpha , mu , delta , epsilon ) définissent respectivement les 5 classes d'Ig : IgG (chaînes lourdes  $\gamma$ ), IgA(chaînes lourdes  $\alpha$ ), IgM (chaînes lourdes  $\mu$ ), IgD (chaînes lourdes  $\delta$ ), et IgE (chaînes lourdes  $\epsilon$ ).[51]

Les isotypes d'ADAs secrétés par les plasmocytes peuvent varier en fonction de la nature, la structure, la complexité moléculaire et le potentiel immunologique du médicament biosimilaires. Chaque protéine thérapeutique peut induire diverses réponses d'anticorps polyclonaux, qui varient dans le temps d'apparition, l'amplitude, l'affinité, la sous-classe et la spécificité d'épitope et selon les individus [55].

Par exemple chez les patients qui s'immunisent contre les protéines thérapeutiques, les ADAs dirigés contre la molécule Infliximab, sont des IgG dans la majorité des cas [56], mais on peut également trouver des IgA, des IgM et des IgE occasionnellement [57].



**Figure 14: Structure générale d'un anticorps humain de type IgG**

### 2.1.2 Types ADAs

Chez les patients qui s'immunisent contre les protéines thérapeutiques, les ADA circulants produits peuvent être de différents isotypes. Par exemple, les ADA dirigés contre l'Infliximab, sont majoritairement des IgG, avec une prévalence d'IgG1 et d'IgG4 [56] mais l'on retrouve également des IgA, des IgM et des des IGE, de manière plus rare [57] .

Les ADAs sont aussi classés selon leurs effets, on trouve notamment :

- Des ADAs neutralisants appelés : neutralizing anti-drugantibodies (NADA)
- Des ADAs non neutralisants mais qui peuvent avoir d'autres conséquences tels que : sustaining anti-drugantibodies (SADA), clearing anti-drugantibodies (CADA). (Voir le titre : les conséquences de l'immunogénicité).



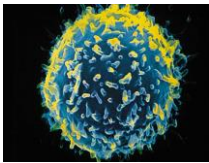
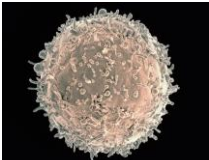
### 3 Les mécanismes cellulaires de l'immunogénicité des biosimilaires

#### 3.1 Les cellules immunitaires intervenant dans la réaction d'immunogénicité

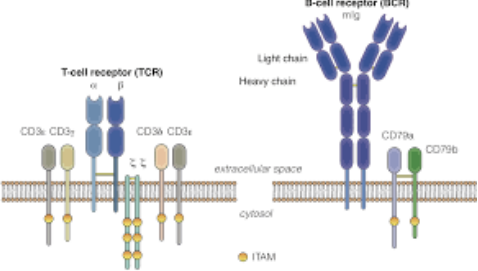
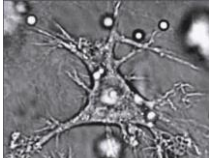
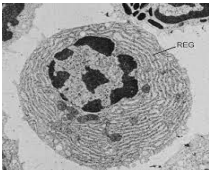
Les cellules de l'immunité, notamment les lymphocytes, les macrophages et les cellules dendritiques, se retrouvent dans les vaisseaux (sanguin et lymphatique) et dans les différents organes et tissus. Ils se regroupent en formations denses au sein des organes lymphoïdes centraux (le thymus et la moelle osseuse), où s'effectue la maturation des différentes familles lymphocytaires, et dans les organes lymphoïdes périphériques (la rate, les amygdales et les ganglions lymphatiques), où se développent la majorité des réponses immunitaires adaptatives. Il s'agit donc d'une répartition ubiquitaire et compartimentée.

Les lymphocytes B et T circulent entre ces différents organes et migrent vers les sites où se opère la rencontre avec l'antigène selon des modalités précises et différentes en fonction de leur origine (B ou T) et de leur état d'activation.[50]

**Tableau 5: Les cellules immunitaires intervenant dans la réaction d'immunogénicité**

Type de cellule	Fonction principale
<p>Les lymphocytes :</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>Lymphocyte T</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Lymphocyte B</p>  </div> </div>	<p><b>-La reconnaissance spécifique des antigènes :</b></p> <p><b>Les LTs :</b> Les médiateurs de l'immunité cellulaire, représente 75% des cellules lymphoïdes circulantes. Elles expriment toutes des récepteurs membranaires spécifiques de nature glycoprotéique (TCR) associés aux protéines de corécepteur (CD3). Il existe 02 types de lymphocytes T :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• les LT CD4+ : sont des LT auxiliaires ou « helper », responsables de la modulation des autres cellules immunitaires.</li> <li>• Les LT CD8+ : Sont des LT cytotoxiques. Elles lysent les cellules exprimant des Ag spécifiques.</li> </ul> <p><b>les LBs :</b> Médiateurs de l'immunité humorale, ils représentent de 5 à 15% des cellules lymphoïdes circulantes.</p>

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

	<p>A l'état natif ils expriment sur leur surface des IgM et IgD de faible affinité et constituent avec le corécepteur CD79 le récepteur spécifique BCR.</p> <p>Ils se différencient en plasmocytes après leur activation et maturation.</p>
<p><b>La cellule présentatrice d'antigène (CAP)</b></p> <p>Cellule Dendritique</p> 	<p><b>-Capture de l'antigène pour le présenter aux lymphocytes</b></p> <p><b>Les cellules dendritiques</b> : elles sont caractérisées par leurs multiples extensions membranaires. Elles présentent une propriété de migration vers les tissus lymphoïdes secondaires par des vaisseaux lymphatiques pour présenter les Ag aux LT, et amorcer les réponses assurées par celle-ci lors de la réponse humorale.</p>
<p><b>Les plasmocytes</b></p> <p>Cellule Plasmocyte</p> 	<p><b>-La production des différents isotypes d'anticorps spécifiques</b></p> <p>Les plasmocytes : Sont des lymphocytes B en phase terminale de différenciation, caractérisés par des cytoplasmes très étendus et des réticulums endoplasmiques très développés. Ils sont presque entièrement dévoués à la synthèse des Acs.</p>

### 3.2 Les réactions immunitaire des réponses adaptative humorale

#### 3.2.1 L'antigène reconnu par les lymphocytes

Toutes les protéines ont un potentiel immunogène, les protéines thérapeutiques telles que les biosimilaires sont susceptibles de provoquer une réponse immunitaire lorsqu'elles

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

sont injectées dans le corps, puisque elles sont dans certains cas détectées comme des molécules invasives (non soi) appelées : antigènes.

La reconnaissance de l'antigène est l'évènement déclenchant des réponses lymphocytaires, l'Ag est reconnue de manière spécifique par deux types de récepteurs lymphocytaires membranaires :

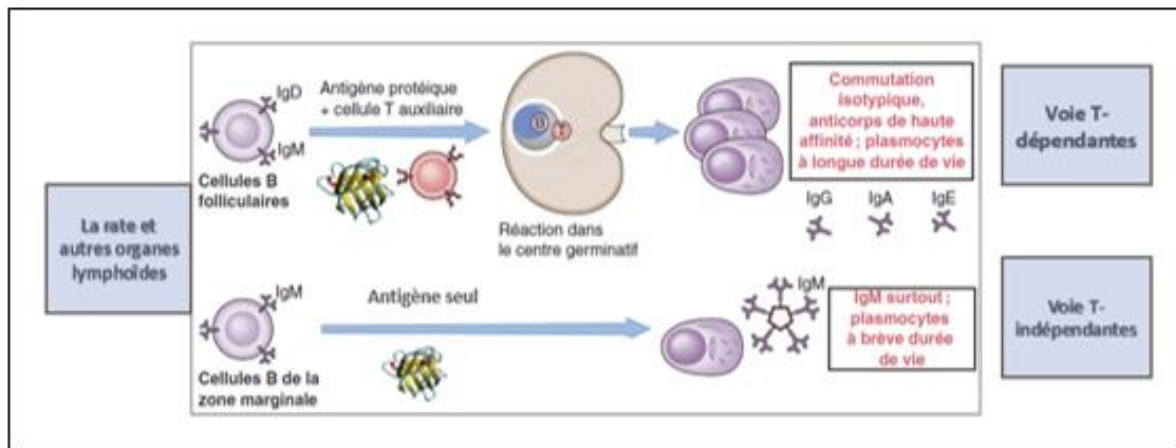
- Les TCR pour les LT.
- Les BCR pour les LB.

Les récepteurs sont distribués de manière clonale. Cela veut dire que chaque clone lymphocytaire présentant une spécificité particulière, possède un récepteur unique différent des récepteurs des autres clones.

Les LB sont capables de reconnaître les différentes formes et conformations des macromolécules protéiques des biosimilaires. Par contre, les LT ne peuvent reconnaître que les peptides exposés à la surface des cellules présentatrices d'antigènes(CAP), liées aux protéines membranaires codées dans le locus génétique du complexe majeur d'histocompatibilité CMH. La reconnaissance de l'Ag se fait par la partie variable V des TCR ou BCR. À l'intérieur de cette région, une majeure particularité de la variabilité des séquences est concentrée dans les petites zones appelés « régions hypervariables » ou « régions déterminant la complémentarité » (CDR). Dans la mesure où ce sont les partie du récepteur qui se lient au Ag (c.-à-d. ils sont complémentaire de la forme de ces Ag). Cette fixation Ag/ AC est non covalente [58].

### 4 Le mécanisme de l'immunogénicité

Généralement, la réponse immunitaire humorale intervient après l'administration d'une protéine étrangère dans l'organisme. Les anticorps sont produits par les deux voies suivantes :



**Figure 15: Mécanisme de la réponse immunitaire humorale**

#### 4.1 La voie T-indépendante

Dans cette voie les Ags sont sous forme libre. Ils seront captés directement par les LB de la zone marginale splénique (B-ZM). Ces Ags activent directement les LB sans l'aide des lymphocytes auxiliaires, grâce à une agrégation massive des récepteurs membranaires des cellules B (BCR). Ce puissant signal de prolifération agit de concert avec l'action de cytokines ou de ligands, qui stimulent la transformation des LB matures en plasmocytes sécrétrices des anticorps ADA de type IgM de très faible affinité [59].

#### 4.2 La voie T dépendante

Une réponse thymo-dépendante d'un Ac à un Ag nécessite l'activation des LB folliculaires par des LT qui répondent au même antigène. Ce phénomène est appelé « la reconnaissance croisée ». Cette réponse implique qu'avant que les LB ne produisent des anticorps vis-à-vis une protéine thérapeutique, des cellules CD4<sup>+</sup> spécifiques doivent d'abord être activées par des CAP[60].

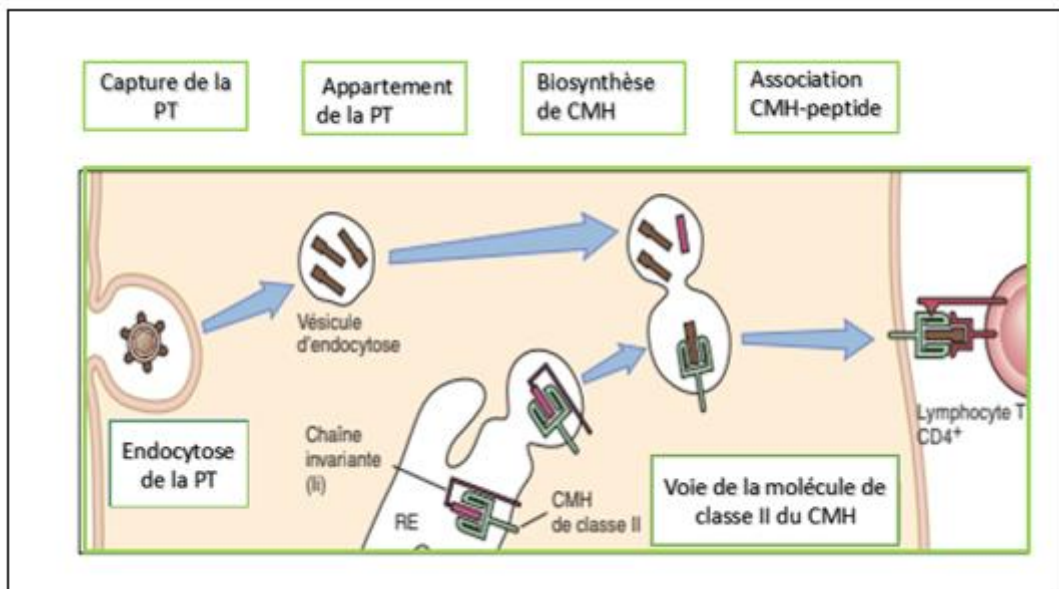
Lorsqu'un médicament biologique (tel qu'un biosimilaire) est introduit dans le corps, il est pris en charge et apprêté par des cellules présentatrices d'antigènes. Les cellules dendritiques ayant capté l'antigène migrent des tissus vers les ganglions-périphériques dans lesquels la réponse immunitaire est déclenchée. Elles deviennent matures grâce à certaines

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

cytokines produites par les réactions de l'immunité innée et se transforment par la suite à des cellules présentatrices d'Ag.

Cette maturation se traduit par une augmentation de la synthèse des molécules de CMH présentant l'Ag au lymphocyte T. D'autres molécules appelées molécules de co-stimulation sont aussi nécessaires pour que la réponse des LT soit complète.

Suite à l'internalisation de la PT dans la cellule dendritique (CD), elle sera dégradée par des endosomes : phagosomes ou les lysosomes, en des peptides de longueur et de séquences variables, présentés à la surface des CPA, associées aux molécules du CMH II (qui sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique (RE)).[50]



**Figure 16: La représentation de l'antigène-CMHII par les CPA**

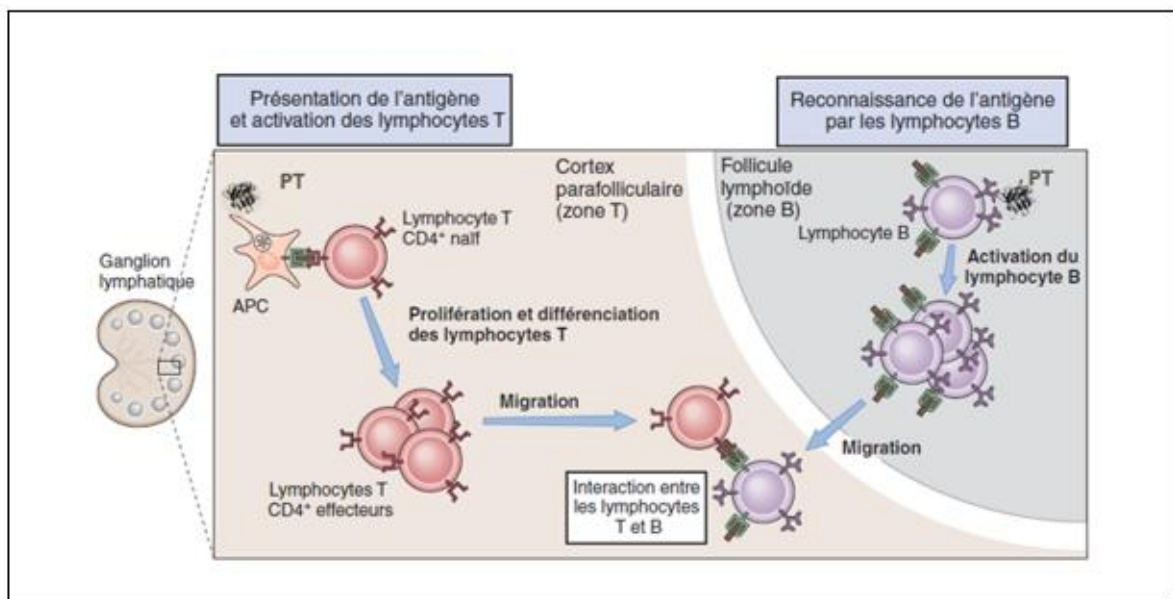
La présentation des antigènes par les CPA dans la zone T, favorise la différenciation des LT auxiliaires en LT folliculaires qui migrent vers la zone B pour y rencontrer les LB dans la jonction T.

Dans la jonction B-T, les LB jouent le rôle des CPA pour les cellules LT auxiliaires. Elles s'activent en reconnaissant le complexe CMH-peptide approprié à la surface de la cellule B. Cette reconnaissance spécifique conduit les LT à synthétiser des protéines solubles et membranaires qui activent de façon synergique les LB.

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

Parmi les interactions membranaires B-T : l'interaction entre CD40 ligand présent sur le LT et CD40 présent sur le LB qui, est fondamentale dans le contrôle de l'activation des LB [60].

Les LBs diffèrent en deux catégories : « LB mémoire » et « plasmocytes ». Ces derniers rejoignent la moelle osseuse et produisent massivement des Acs spécifiques de l'Ag, et se diffusent par la suite dans tout l'organisme, dans le but de fixer à l'Ag à chaque nouvelle rencontre. Les réponses suivantes seront immédiates, plus spécifiques et plus fortes que lors de la réponse primaire, puisque toutes les cellules compétentes pour reconnaître l'Ag sont gardées en mémoire.[61]



**Figure 17: Mécanisme de la réponse immunitaire humorale**

### 4.3 La formation des complexes immuns (ADAs –protéines thérapeutiques)

#### 4.3.1 Effets biologiques des complexes immuns

Après la sécrétion des anticorps par les plasmocytes (anticorps anti médicament : ADA), ils diffusent dans le corps par la circulation sanguin et lymphatique.

Dès leur rencontre avec leur Ag spécifique (qui est dans ce cas la PT), ils forment des complexes immuns (CI) : ADA-PT.

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

Les effets indésirables dus à la formation de ces complexes, sont classés comme des réactions de type II, et L'ADA lié au médicament en circulation donne lieu à des CI circulants (CIC) qui peuvent entraîner des réactions de type III.

La taille des CI et leur capacité à activer le complément sont des facteurs importants. Ces deux facteurs ont une influence sur la capacité des CI à former des dépôts et à l'activation des voies inflammatoires. La taille du complexe affecte également les fonctions médiées par Fc par interaction avec une famille de récepteurs Fc activateurs (FcR) largement distribués. Les niveaux d'expression de FcR varient selon les individus[51] ;La formation des complexes immuns peut être liée à des effets indésirables cliniquement observés (voir le titre : les conséquences de l'immunogénicité).

### 4.3.2 Activation des récepteurs Fc

Les récepteurs Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ R) sont largement exprimés par plusieurs types cellulaires du système hématopoïétique, et jouent un rôle primordial dans les effets pathologiques des CI.

- Le Fc $\gamma$ RI de haute affinité se lie aux IgG monomères.
- les Fc $\gamma$ RII (CD32) et Fc $\gamma$ RIII (CD16) de faible affinité se lient préférentiellement aux IgG complexées. Ils sont présents sous de multiples isoformes :
  - activateurs (Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIIA)
  - inhibiteurs (Fc $\gamma$ RIIB, Fc $\gamma$ RIIIB) selon leurs motifs cytoplasmiques [62]

Le regroupement de FcR à partir de la ligature CI déclenche la libération de médiateurs inflammatoires et de chimiokines chimiotactiques, qui provoquent une activation endothéliale, et un recrutement supplémentaire des cellules immunitaires, fournissant ainsi une explication mécaniste de la capacité du système immunitaire inné à influencer la réponse spécifique à l'Ag du système immunitaire. Les complexes immuns peuvent conduire à une production supplémentaire d'ADA et à la formation potentielle de CI. [51]

### 4.3.3 Activation du complément

En plus du Fc $\gamma$ R, le complément joue également un rôle essentiel dans la médiation des processus inflammatoires en aval de la formation des CI. Les CI activent la cascade du complément par la voie classique en se liant au composant C1q du complément via la partie Fc des CI et en déclenchant une série d'activations enzymatiques et d'événements protéolytiques. Le Fc des CI porteurs d'IgM ADA est très efficace dans cette réaction par rapport au Fc IgG. IgG<sub>3</sub>. Les CI ont une plus grande propension à fixer le complément que les autres sous-classes d'IgG. [51].

Les récepteurs du complément (CR) sur les LB et les CPA, interagissent avec les CI opsonisés entraînent une activation supplémentaire, une augmentation du traitement et de la présentation de l'antigène et donc, une production accrue d'anticorps. Cela pourrait être important parce qu'il permet aux CI : ADA-PT préexistants de conduire à des titres d'ADA plus élevés [63].

### 4.3.4 Déclenchement des voies de signalisation des cytokines

L'engagement de FcR ou CR sur les cellules par réticulation CI entraîne la production de chimiokines et de facteurs de croissance, qui ont un effet en cascade sur le trafic et la croissance des cellules T et B. Ces facteurs solubles jouent un rôle vital, influençant la diaphonie entre les bras innés et adaptatifs de l'immunité [64].

### 4.3.5 Influence directe de l'CI sur les cellules T

Un sous-ensemble de LT folliculaires auxiliaires activé exprime Fc $\gamma$ RIIIa qui peut délivrer un signal d'activation indépendant du CMH de classe II et les inciter à produire de l'IFN- $\gamma$ . La reconnaissance des CI par le Fc $\gamma$ RIIIa entraîne une co-stimulation des LT, et peut représenter une voie alternative reliant les bras innés et adaptatifs de l'immunité [63].



### 5 Facteurs influençant l'immunogénicité

L'immunogénicité des biosimilaires, matérialisée par l'apparition d'ADA chez des patients, est influencée par des facteurs de risque liés au produit, au traitement et au patient. Afin de pouvoir en diminuer au maximum les risques, il est important d'identifier, de comprendre et de maîtriser les facteurs qui en sont à l'origine.

#### 5.1 Liés au patient

Plusieurs paramètres, inhérents au patient, ont des répercussions sur la réponse qu'il peut développer contre une protéine qui lui est administrée. Ils peuvent concerner une cohorte entière ou le patient de manière individuelle. Ils concernent tous le système immunitaire du patient.

##### 5.1.1 Les facteurs génétiques

Les facteurs génétiques semblent également être en mesure de moduler la réponse immunitaire contre un biosimilaire et entraîner ainsi une variabilité entre les patients.

##### ➤ Polymorphisme :

Le polymorphisme allélique dans le complexe majeur d'histocompatibilité CMH (qui a un impact sur l'affinité et la stabilité de l'interaction entre les molécules du CMH et les peptides antigéniques) et les gènes codant pour le récepteur des cellules T auxiliaires peuvent influencer les réponses immunitaires et l'induction de la tolérance immunologique [42].

Une étude rétrospective a montré que l'allèle HLA-DRB1\*03 du CMH était plus répandu chez les patients développant des ADA contre l'Infliximab et traités pour des maladies inflammatoires de l'intestin[67].

D'autres facteurs génétiques influençant l'immunogénicité pourraient être des polymorphismes de gènes pour les cytokines qui jouent un rôle dans le réglage fin de la réponse immunitaire (par exemple interleukine-10, TGF-beta, etc.) [54].

### ➤ **Maladies génétiques :**

Si la protéine thérapeutique est utilisée pour la substitution d'une protéine endogène, des taux réduits ou même l'absence de cette protéine peuvent influencer la tolérance immunologique, puisque pour ces patients l'antigène physiologique peut représenter un néo-antigène.[54]

Pour l'hémophilie A, entre 20 et 30% des patients traités avec du facteur VIII développent des anticorps neutralisants, et ce malgré l'homologie entre la protéine thérapeutique et l'équivalent endogène. Ceci vient du fait que ces patients présentent une déficience en FVIII endogène, induite par une mutation dans le gène codant la protéine. Ces patients présentent donc un défaut de tolérance vis-à-vis de la protéine. Le système immunitaire va ainsi considérer le FVIII comme étranger, avec notamment la mise en place d'une réponse lymphocytaire CD4+ [68].

### ➤ **Statut immunologique et âge :**

Le statut immunitaire des patients semble avoir un impact important sur le développement d'ADA. La réponse immunitaire induite par les protéines thérapeutiques semble en effet être moins importante chez les patients immunodéprimés par rapport aux patients présentant un système immunitaire performant. Cette démonstration a été faite chez des patients atteints de cancer, traités avec du GM-CSF. Il a été observé que 95% des patients immunocompétents développent des ADA neutralisants contre 10% chez les patients ayant un système immunitaire défaillant [69].

Une maladie sous-jacente du patient peut être un facteur important dans le développement d'une réponse immunitaire indésirable. Certains patients atteints d'infections chroniques peuvent présenter une réponse immunitaire intense, car leur système immunitaire est dans un état activé.

Dans d'autres conditions (par exemple, la malnutrition, une maladie métastatique avancée, le SIDA, organes défaillants), la réponse immunitaire contre une protéine thérapeutique pourrait être moins susceptible de se produire en raison d'une déficience du système immunitaire[54].

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

Selon l'âge, le système immunitaire peut présenter un stade de maturité différent chez des patients enfants ou préadolescents, il présente généralement des défaillances chez les séniors. [65].

### 5.2 Liés au traitement

Dans une certaine mesure une baisse du risque d'immunogénicité et de l'efficacité thérapeutique, tout en prenant en compte les facteurs liés au patient et au produit.

#### 5.2.1 Une exposition antérieure à des protéines similaires ou apparentées

Une exposition antérieure à des protéines similaires ou apparentées peut conduire à une pré-sensibilisation et peut provoquer une réponse immunitaire. Pour certaines protéines utilisées pour une thérapie de substitution, les thérapies précédentes peuvent induire une réaction croisée des anticorps ou une mémoire immunologique qui va affecter les thérapies ultérieures[42].

#### 5.2.2 Schéma thérapeutique

Les facteurs qui peuvent augmenter la réponse immunitaire à une protéine thérapeutique peuvent être la voie d'administration, la dose et la durée du traitement.

##### ➤ Voie d'administration

En général, les voies d'administration intradermique, sous-cutanée et par inhalation sont associées à une immunogénicité accrue par rapport aux voies intramusculaires et intraveineuses (IV). La voie IV est généralement considérée comme la moins susceptible de provoquer une réponse immunitaire [70].

De nombreux groupes se sont intéressés à l'impact que pourrait avoir la voie d'administration de la protéine sur son potentiel immunogène. Notamment, il a été montré dès 1987 que la voie intramusculaire pour l'injection d'IFN- $\beta$  était plus immunogène que la voie intraveineuse [71].

Ceci a été confirmé plus récemment dans un modèle murin d'hémophilie, où l'injection de FVIII par voie sous-cutanée aboutit à une immunogénicité accrue par rapport à la voie intraveineuse [72].

### ➤ Dose et durée du traitement

Un traitement à court terme seulement est généralement moins susceptible d'être associé à une réponse immunitaire qu'un traitement à long terme, et les produits administrés en continu sont généralement moins immunogènes que ceux administrés par intermittence.

Un traitement intermittent ou une réexposition après un long intervalle sans traitement peut être associé à une réponse immunitaire renforcée[73].

### ➤ Traitement concomitant

Les thérapies concomitantes peuvent soit diminuer, soit augmenter le risque d'une réaction immunitaire à une protéine thérapeutique. Typiquement, la réaction immunitaire contre une protéine thérapeutique est réduite lorsque des agents immunosuppresseurs sont utilisés de façon concomitante.

Si les essais cliniques sont réalisés en combinaison avec des immunosuppresseurs, une demande d'utilisation de la protéine thérapeutique en monothérapie doit être accompagnée de données cliniques adéquates sur le profil d'immunogénicité en l'absence d'immunosuppresseurs, c'est-à-dire que les données d'immunogénicité provenant de la combinaison avec des immunosuppresseurs ne sont pas pertinentes pour la monothérapie[42].

L'utilisation d'agents limitant l'activation des LT ou activant des LT régulateurs, comme le méthotrexate, a un effet bénéfique sur l'immunogénicité lorsqu'ils sont co-administrés avec une protéine thérapeutique. Ceci a notamment été observé chez des patients atteints de maladie de Crohn, traités par des injections d'Infliximab : le groupe de patients traité avec injections concomitantes de méthotrexate montrait des taux d'ADA bien inférieurs à ceux mesurés pour le groupe traité à l'Infliximab seul [74].

### 5.3 Liés au produit

Les facteurs de risque liés aux produits qui peuvent avoir un impact sur l'immunogénicité des protéines thérapeutiques issues de la biotechnologie comprennent l'origine et la nature de la substance active (homologie structurale, modifications post-traductionnelles), les modifications de la protéine native (par exemple la PEGylation), les impuretés liées au produit et au procédé de fabrication (par exemple la répartition des produits, les agrégats et les protéines de la cellule hôte, les lipides ou l'ADN), et la formulation [41] .

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

### ➤ Origine

Les réponses immunitaires aux protéines non humaines (c'est-à-dire étrangères) sont attendues et, comme expliqué précédemment, peuvent être anticipées pour les protéines humaines endogènes.

Un exemple historique est donné par les insulines d'origine bovine et porcine, qui diffèrent de l'insuline humaine respectivement par 3 et 1 acide aminé. Or, l'administration d'insuline bovine résulte en une production d'ADA supérieure à celle induite en réponse à l'insuline porcine ou humaine. Par ailleurs, l'Insuline Aspartate (IAsp), analogue de l'insuline à action rapide, diffère de l'insuline humaine par un seul acide aminé. Cependant, il a été observé une augmentation de la production d'ADA (23%) comparativement aux patients traités avec l'insuline humaine (16%) [75].

Pour les anticorps monoclonaux, l'origine du produit est un facteur important qui peut influencer l'immunogénicité. Bien qu'il ait été démontré que les anticorps de souris suscitent des réponses immunitaires robustes chez l'homme par rapport aux anticorps monoclonaux chimériques, humanisés et humains, il convient de noter que les anticorps monoclonaux chimériques, humanisés et humains peuvent également susciter un taux élevé d'immunogénicité en fonction du régime de dosage et de la population de patients [70].

L'immunogénicité des anticorps thérapeutiques a d'abord été décrite lors de l'utilisation d'anticorps murins, l'exemple du Muromonab (ou OKT3, un anti CD3) étant le plus documenté. Les patients traités développent dans les deux semaines qui suivent le début du traitement, des anticorps dirigés contre cette protéine d'origine murine [76]. Selon les études pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, comme rapporté pour l'Adalimumab (anticorps complètement humain), il induit un taux de réponse immune de 12 à 44% [77].

### ➤ Structure

Les analogues de protéines endogènes humaines issus de la biotechnologie peuvent déclencher une réponse immunitaire en raison de variations de la séquence d'acides aminés ou de changements de la structure de la protéine résultant de modifications post-traductionnelles, de la dégradation et/ou de la modification physique, chimique ou enzymatique, par exemple la désamination, l'oxydation et la sulfatation, à toutes les étapes du processus de fabrication et pendant le stockage.

### ➤ Glycosylation

La glycosylation est une modification post-traductionnelle fréquente des protéines thérapeutiques issues de la biotechnologie. Ces modifications peuvent différer par le nombre et la position des sites de glycosylation ainsi que par la séquence, la longueur de la chaîne et la ramification de l'oligosaccharide attaché. Par conséquent, lorsque la même protéine est fabriquée dans des conditions différentes (par exemple, en changeant le processus de culture cellulaire), il peut y avoir des changements dans le schéma des modifications post-traductionnelles et le potentiel immunogène de la protéine. Cela signifie également que les anticorps induits par un produit peuvent réagir différemment avec le produit analogue fabriqué dans des conditions modifiées. Il faudra peut-être en tenir compte pour l'évaluation de l'immunogénicité [42]

### ➤ PEGylation

L'ajout d'un groupement de PolyEthylène Glycol (PEG) est une technique couramment utilisée pour augmenter la demi-vie plasmatique d'une protéine thérapeutique, réduisant potentiellement la fréquence des injections [78]. Le Certolizumab Pegol (Cimzia®) est un fragment Fab humanisé, dirigé contre le TNF $\alpha$ , lié à un groupement PEG. Pour la plupart des protéines, l'ajout de groupements PEG ne modifie pas leur structure [79] et à l'instar de la glycosylation, le PEG peut masquer certains épitopes et ainsi contribuer à la réduction de l'immunogénicité d'une protéine.

Cependant, il a récemment été montré l'existence d'anticorps anti-PEG chez des individus sains, avec une prévalence de l'ordre de 22- 25% [80]. Ces anticorps anti-PEG peuvent d'ailleurs entraîner une perte d'efficacité de la protéine thérapeutique, comme observé dans le cas de l'Asparaginase pegylée, utilisée pour le traitement de la leucémie lymphoblastique aigüe [81].

### ➤ Formulation

La composition de la formulation est choisie de manière à conserver au mieux la conformation native des protéines thérapeutiques. Une formulation réussie est robuste dépend

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

de la compréhension de la nature physique et chimique de la substance active et des excipients et leur interaction. La formulation et la source des excipients peuvent modifier l'immunogénicité des protéines thérapeutiques.

L'impact des matériaux du conditionnement primaire et les conditions d'utilisation clinique, par exemple la dilution dans des solutions de perfusion et les dispositifs de perfusion de différents matériaux pourraient également influencer sur le potentiel immunogène d'une protéine thérapeutique [54].

Un des exemples les plus cités dans l'impact de la formulation sur l'immunogénicité des protéines est l'utilisation du polysorbate 80 dans les préparations d'époïétine  $\alpha$ . En effet, la formulation de ce produit a été changée dans les préparations d'Eporex, en substituant en 1998 le PS80 à la HSA. De nombreux cas d'aplasie des globules rouges sont apparus peu de temps après ce changement de formulation, dus au développement chez les patients d'anticorps anti-érythropoïétine endogène [82].

### ➤ Impuretés et contaminants

La présence d'impuretés dans les préparations est rigoureusement contrôlée au cours du « Downstream-process ». Des substances telles que des composants de la cellule hôte, les impuretés liées au procédé de fabrication (telles que la résine des colonnes de chromatographie) et bien entendu les substances apparentées au produit (agrégats, protéine tronquée, mal repliée...) peuvent avoir un effet adjuvant ou être directement immunogène. Un exemple concret concerne le premier biosimilaire de la Somatropine recombinante humaine. Son utilisation a conduit au développement d'anticorps anti-GH chez près de 60% des patients. Cette réponse a été corrélée à la présence de hauts niveaux d'impuretés provenant de la cellule-hôte, E [83]

Néanmoins, ces impuretés font l'objet de limitations, afin de réduire leur impact sur la qualité des produits. Par exemple, le NovoSeven® RT, un FVIIa recombinant, ne peut contenir au maximum que 1,2 ng d'IgG murines, 30 ng d'IgG bovines, issues des procédés de production et de purification, et 19 ng de protéines issues des cellules productrices (BHK) et du milieu de culture, par mg de produit fini [84].

### ➤ Agrégats

L'agrégation ou la formation d'adduits de protéines peut soit révéler de nouveaux épitopes, soit conduire à la formation d'épitopes multivalents, qui peuvent stimuler le système immunitaire. Les facteurs qui pourraient être considérés comme contribuant à la formation d'agrégats ou d'adduits comprennent la formulation, les procédés de purification, les procédures d'inactivation virale et les conditions de stockage des produits intermédiaires et du produit fini. L'utilisation de protéines, par exemple l'albumine, comme excipient peut conduire à la formation d'agrégats plus immunogènes. Il est important de surveiller la teneur en agrégats et en adduits d'un produit tout au long de sa durée de conservation.

Un exemple est donné par l'insuline, qui tend à former des dimères et des hexamères en solution. Les dimères ont pu être retrouvés dans les préparations que les patients s'injectent, en faible quantité cependant, 2.1% dans le cas de l'insuline porc/bœuf, et 1.1% de l'insuline biosynthétique humaine [85]. Ces agrégats étaient notamment capables d'induire une production d'ADA, 30% des patients développant des ADA contre l'insuline monomérique développent également des ADA dirigés contre les agrégats [86].

Un point important à noter est que ces ADA semblaient être en mesure d'adsorber la protéine native. Le Betaferon est l'IFN $\beta$  qui, avec le Rebif, présente la plus grande quantité d'agrégats (entre 9 et 15% de produit présent sous forme d'oligomères [87]).

## 6 Les conséquences de l'immunogénicité

L'immunogénicité des biosimilaires se traduit principalement par l'apparition des anticorps ADA. Ses derniers peuvent, ou non, avoir des conséquences sur l'efficacité ou la sécurité du médicament. Cela dépend de l'épitope reconnu par ces anticorps, l'affinité, et la quantité d'anticorps générés. Parmi ces conséquences on peut citer .

### 6.1 Les conséquences sur le produit

#### 6.1.1 Aucune conséquence



## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

Certains ADA développés par le patient ne modifient aucun paramètre du biosimilaire. Les patients ADA positifs présentent alors la même réponse au traitement que les patients ADA négatifs [65].

### 6.1.2 Les conséquences sur la pharmacocinétique

La diminution de la clairance du biosimilaire : les SADA (sustaining anti-drug antibodies) ou « anticorps de maintien », diminuent la clairance du biosimilaire en formant le complexe immun :BS-SADA qui sera éliminé par les reins plus lentement par rapport au biosimilaire libre et donc une augmentation de l'exposition à la protéine thérapeutique, ce qui peut conduire à un effet prolongé du médicament et un risque de surdosage surtout dans le cas des médicaments à une marge thérapeutique étroite.

L'augmentation de la clairance du biosimilaire : les CADA (Clearing Anti-Drug antibodies) facilitent la filtration du biosimilaire en formant des plus petits complexes immuns, ce qui donne une diminution de l'exposition à la protéine thérapeutique, par conséquence la concentration circulante du médicament risque de ne pas atteindre le seuil thérapeutique et donc le traitement va être inefficace.[65]

Ces deux types d'anticorps sont des ADA non-neutralisants, et ils sont censés être associés à des conséquences cliniques moins graves.[42]

### 6.1.3 La résistance au traitement

Les NADA (ou ADA neutralisants) se fixent sur les sites d'activité biologique des biosimilaires et gênent leur disponibilité par encombrement stérique ou changement de conformation, diminuant alors l'effet thérapeutique du biosimilaire et son efficacité.

Le caractère neutralisant des ADA peut être confirmé par des tests cellulaires *in vitro* ou biochimiques[65] .

Les ADA dirigés alors contre des épitopes non liés à l'activité thérapeutique du biosimilaire, appelés les ADA non-neutralisants, seront associés à des conséquences cliniques moins importantes ou négligeables [54].

### 6.2 Les conséquences sur le patient

#### 6.2.1 Les allergies

##### 6.2.1.1 Des réactions à l'injection IgE-dépendantes

C'est une hypersensibilité de type I, immédiate/anaphylactique, qui se manifeste le plus souvent par une inflammation en présence du biosimilaire. La sensibilité et l'intensité de la réponse peuvent varier d'une inflammation localisée à une altération de plusieurs organes. Cette réaction allergique se développe en trois temps :

la rencontre des cellules immunitaires avec le biosimilaire dans des conditions inflammatoires lors de l'injection de ce dernier, une phase de latence d'environ 10 jours dans laquelle des cellules immunitaires spécifiques du biosimilaire vont se produire ainsi que le développement des ADA, et une réponse immunitaire exacerbée dès l'administration suivante de la molécule au patient.[65] Lorsque l'IgE impliquée dans ce type d'allergies rencontre la protéine thérapeutique du biosimilaire, pour laquelle elle présente une bonne affinité, elle active les récepteurs de forte affinité pour sa partie effectrice présents en surface de cellules mastocytes ou basophiles, en latence dans les tissus. Ces derniers génèrent alors une réponse immunitaire disproportionnée, appelée réaction à l'injection, qui se déroule en 3 phases :

- Une réaction aigue : la sécrétion de molécules vaso-actives (histamine, prostaglandines, leucotriènes, *etc.*) dilatation des artérioles, augmentation de la perméabilité veineuse et apparition des rougeurs cutanées. Ces molécules sont relâchées dans le sang périphérique et ont un effet global, c'est le choc anaphylactique. Ces symptômes peuvent s'arrêter à une inflammation locale, ou mener à une hypotension, un bronchospasme, un œdème laryngé ou pharyngé, une respiration sifflante et/ou une urticaire. [54]
- Une réaction tardive : survient 10 à 12 heures après le choc anaphylactique par le recrutement de lymphocytes CD4<sup>+</sup> Th2. Ils sécrètent des cytokines pro-

## **Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires**

inflammatoires qui provoquent entre autres des rougeurs et gonflements au niveau local [66].

- Une inflammation chronique : caractérisée par une infiltration de cellules immunitaires pro-inflammatoires dans les tissus touchés pouvant être activées rapidement à chaque nouvelle rencontre avec l'Ag qui est le biosimilaire.[66]

### **6.2.1.2 Des réactions IgE-indépendante**

Ces réactions aussi appelées «pseudo-anaphylactiques», ne sont pas de nature allergique, même si elles présentent les mêmes premiers symptômes d'une allergie .Ses symptômes peuvent apparaître dès la première injection du biosimilaire, et varient d'une inflammation locale à la mise en danger de la vie du patient. Ce type de réactions est souvent causé par les anticorps monoclonaux utilisés en cancérologie.

Lorsqu'un anticorps monoclonal se fixe à son Ag exprimé par une cellule immunitaire circulant dans le sang, des chimiokines attirant d'autres cellules immunitaires effectrices et des molécules du complément sont sécrétées. Les cellules recrutées possédant une activité cytotoxique tuent la cellule cible qui relâche des cytokines pro-inflammatoires dans la circulation sanguine, les cellules recrutées relâchent à leur tour ce type de cytokines. Cette réaction peut s'amplifier, allant d'un rélargage cytokinique à un Syndrome de libération de cytokines ou SLC. [65]

En plus des réactions aiguës, il faut tenir compte des réactions d'hypersensibilité retardée (médiées par les cellules T) et des réactions médiées par les complexes immuns. Le risque de telles réactions peut être plus élevé lorsque l'intervalle sans médicament augmente ou lorsque les thérapies sont changées de façon répétée parmi les membres d'une classe de produits. [54]

### **6.2.2 Les anticorps préexistants**

Suite à l'exposition du patient à un Ag environnemental, ou à une molécule thérapeutique préalablement administrée, qui sont homologues de séquence ou de

## **Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires**

conformation avec la molécule du biosimilaire, le corps développe des ADA avant le début de traitement : c'est une réactivité préexistante. Dès la première administration du biosimilaire, ces ADA préexistants peuvent le reconnaître et par conséquent déclencher une réponse immunitaire. Ils peuvent ne pas induire des symptômes, comme ils peuvent aussi influencer la pharmacocinétique, ou être neutralisants. [65]

### **6.2.3 Réactivité croisée avec une protéine analogue endogène et auto-immunité**

Les ADA dirigés contre la molécule du biosimilaire et qui ont des homologues endogènes, peuvent présenter une réaction croisée avec ces protéines endogènes, et risquent alors d'induire des symptômes auto-immuns [65].

## **7 La prédiction de l'immunogénicité**

### **7.1 La méthode in vivo**

Prédire le pouvoir immunogène d'un biosimilaire avant son administration permet d'éviter de graves conséquences qui peuvent avoir lieu chez le patient, et d'optimiser alors la fabrication afin de minimiser cet effet indésirable, et par conséquence, produire des biosimilaires plus efficaces et plus sécurisés, Plusieurs modèles de prédiction sont mis en œuvre, parmi lesquels on cite :

Face au problème que pose la barrière d'espèce, et afin de présenter des caractéristiques moléculaires et/ou cellulaires humaines, des souris humanisées ont été développées.

Ces animaux représentent des modèles d'études vivants intéressants car ils disposent d'un système immunitaire inné et adaptatif fonctionnels. Parmi les modèles de souris utilisés dans ce genre d'études on peut citer :

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

- Les souris transgéniques exprimant la protéine thérapeutique humaine du biosimilaire, qui ont système immunitaire murin tolérant envers cette protéine. Ce modèle permet d'étudier le phénomène de la levée de la tolérance par l'effet de modifications effectuées lors de la fabrication (oxydation, agrégation...etc.) [88].
- Les souris transgéniques dont les CPA expriment un haplotype de molécules HLA de classe II humains. Elles sont obtenues après déplétion des gènes murins CMH de classe II, puis insertion des gènes HLA de classe II [89].
- Les souris immuno-déficients dès la naissance par mutation, qui subissent une transplantation des cellules souches hématopoïétiques humaines afin de reconstituer leur système immunitaire.

Ces modèles peuvent être utilisés pour détecter le développement d'ADA suite à l'administration du biosimilaire, évaluer leur capacité de neutralisation, et à analyser les effets de la présence de ces anticorps sur la pharmacocinétique de la molécule thérapeutique.

Toutefois, cette évaluation comporte de nombreuses incertitudes, en raison principalement d'une reconstitution insuffisante du répertoire des lymphocytes chez ces animaux, et des limites que présente chaque modèle [90]

Elle permet par le biais de l'outil informatique, qui utilise des algorithmes et des matrices mathématique, l'analyse de la structure primaire de la molécule thérapeutique du biosimilaire, et l'identification rapide et à faible cout des épitopes susceptibles de se lier aux molécules de classe II de CMH et d'être reconnus par les lymphocytes T.

### 7.2 La méthode in silico

Cette méthode est utilisée à une étape précoce du processus de sélection d'une molécule, lors du criblage initial et du choix des composés dits : « Leaders », dans le but de guider ensuite les modifications par ingénierie de la protéine , en identifiant quelles mutations/substitutions qui peuvent être sélectionnées et appliquées sans risque au cours du processus d'humanisation .Elle peut aussi être mise à profit pour détecter les séquences immunogènes et les retirer par mutagenèse dirigée ou les substituer par d'autres qui ne seront par reconnues par les lymphocytes T.[90]

### 7.3 La méthode in vitro (analyse de la réponse des lymphocytes T CD4 spécifiques)

Il faut noter que cette méthode, généralement utilisée pendant les premières phases de développement des médicaments biosimilaires, ne garantit pas la conception d'une protéine thérapeutique complètement non immunogène. Elle permet juste d'identifier de potentiels épitopes immunogènes et donc de guider les industriels à l'obtention d'une liste réduite de candidats présentant un risque minimal.

Les tests in vitro détectent la prolifération et l'activation des lymphocytes T CD4+ en présence des CPA porteuses du complexe peptide-CMH II, et détectent aussi si une protéine thérapeutique du biosimilaire peut induire une réponse immune.

- Les essais de liaison HLA : les tests de liaison du CMH de classe II sont utilisés pour prédire la probabilité que l'épitope soit immunogène.

Ils mesurent la capacité des peptides ajoutés de manière exogène à se lier à la surface des cellules B exprimant des allèles de CMH de classe II.

- Les essais sur les cellules T : La surveillance des réponses des cellules T spécifiques de l'antigène in vitro peut impliquer la mesure de leur prolifération au moyen de radio-marqueurs, ou de la libération de cytokines (mesurée par la méthode ELISpot qui peut être réalisée à l'aide de kits commerciaux). [91]

Ces méthodes sont très informatives, mais il faut veiller à n'utiliser que des préparations très pures d'antigènes, si possible proches de leur formulation définitive. En effet, les excipients, les agrégats et tout produit contaminant associé au processus de production peuvent influencer et fausser le résultat final [92].

Malheureusement, ces études de prédiction ne suffisent pas à garantir la sécurité du médicament, il est actuellement impossible de prendre en compte tous les facteurs de risques dans ces modèles à cause des limites de chaque méthodes et à la complexité du fonctionnement du système immunitaire. Pour cela, les résultats doivent être confirmés ou infirmés lors des essais cliniques par le dosage d'ADA.

Cette évaluation clinique de l'immunogénicité, qui un suivi continu du développement des ADA dans le sérum des patients longtemps après la commercialisation et l'administration du

biosimilaire étudié, est alors obligatoire. (Voir le titre : L'évaluation clinique de l'immunogénicité).

### 8 L'évaluation clinique de l'immunogénicité

Le but de l'évaluation clinique de l'immunogénicité est d'évaluer les différences potentielles entre le produit biosimilaire et le produit de référence dans l'incidence et la gravité des réponses immunitaires humaines. Le fait de prouver qu'il n'existe pas de différences cliniquement significatives entre les profils d'immunogénicité de ces deux produits, est un élément clé dans la démonstration de la biosimilarité. Il est important de montrer que l'immunogénicité du biosimilaire proposé n'est pas supérieure à celle du produit de référence.

Cette évaluation est concrétisée par des tests qui se font lors du développement du biosimilaire et longtemps après sa commercialisation. Le principe de ces tests est la mesure des anticorps ADA neutralisants et non-neutralisants dans le sérum des patients traités par cette molécule.

La population choisie pour cette étude comparative doit être justifiée. Généralement c'est la même population et le même schéma thérapeutique du produit de référence pour lesquels le développement des réactions immunitaires avec des effets indésirables est le plus susceptible de se produire.

La période de suivi doit être déterminée selon : le temps nécessaire pour le développement des ADA et l'apparition des symptômes, l'évolution de leur disparition après l'arrêt du traitement, et la durée d'administration du produit.

En effet, l'étendu du programme d'immunogénicité varie en fonction de divers facteurs, y compris la mesure de la similarité analytique entre le produit proposé et le produit de référence, et les conséquences cliniques de la réponse immunitaire pour le produit de référence :

- Si la conséquence clinique du princeps est grave, des évaluations de l'immunogénicité plus étendues seront probablement nécessaires pour le biosimilaire.

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

- Si la réponse immunitaire au produit de référence est rare, deux études distinctes peuvent être suffisantes pour évaluer l'immunogénicité du biosimilaire: **(1)** une étude pré-commercialisation conçue pour détecter des différences majeures dans la réponse immunitaire entre les deux produits et **(2)** une étude post-commercialisation visant à détecter plus des différences subtiles dans l'immunogénicité. [41]

La mise au point d'une stratégie d'analyse adaptée au plan de traitement prévu est essentielle pour élucider la pertinence clinique des données d'immunogénicité. Les tests et les stratégies d'analyse pour l'évaluation des réponses immunitaires doivent être sélectionnés avant le développement clinique, en prenant en compte le produit, les patients et les paramètres cliniques attendus.

Le demandeur doit fournir toutes les informations nécessaires et les données complètes de validation du test pour une évaluation dans le cadre de la demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM).

La stratégie comprend :

- 1) un test de dépistage pour identifier les échantillons/patients positifs aux anticorps,
- 2) une procédure pour confirmer la présence d'anticorps et déterminer la spécificité des anticorps, puis
- 3) des tests pour évaluer la capacité de neutralisation des anticorps.

Tout écart par rapport à ce concept doit être dûment justifié et discuté avec les autorités réglementaires avant la soumission de la demande d'AMM. Dans certains cas, il peut être nécessaire de tester la réactivité croisée des échantillons avec d'autres produits basés sur la même protéine et la protéine endogène, si cela a des implications sur l'efficacité et la sécurité cliniques[42] .

Il existe six tests principaux de détection des ADA, chacun d'eux comporte des paramètres différents (seuil de détection, précision...etc.), ils sont représentés par le tableau ci-dessous :

### **Tableau 6: Les principaux tests de détection des ADA [41].**



## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

Le test	Le principe	Les avantages	Les inconvénients
<b>ELISA</b>	-les ADA sont capturés par la protéine fixée au support -leur détection se fait par des anti-ADA ou la PT marquée.	-sensibilité acceptable -haute capacité de criblage -cout faible	- les résultats peuvent être perturbés par la présence de la PT circulante, et ne pas détecter les ADA issus d'une réponse primaire
<b>RIA (Radio-ImmunoAssay)</b>	-les ADA sont capturés sur une colonne Sepharos -leur détection se fait par la protéine radio-marquée	-excellente sensibilité -capacité de criblage modérée -cout modéré	-les résultats peuvent être perturbés par la présence de la PT circulante, et ne pas détecter les ADA issus d'une réponse primaire
<b>ECLA (Electro-chemiluminescence-assay)</b>	-les ADA sont capturés par la PT -leur détection se fait par des anti-ADA marqués ou ruthénium	-excellente sensibilité -haute capacité de criblage	-cout important selon les réactifs -ne détecte pas bien les ADA dissociant rapidement
<b>SPR (Surface plasmonresonance)</b>	-les ADA sont capturés par la PT ; leur détection se fait par oscillations de la résonance causées par la liaison à la PT	-excellente sensibilité -peut détecter les ADA issus de la réponse primaire et déterminer la classe des ADA	-cout important
<b>PIA (pH-shift anti-Idiotype Antigen-binding)</b>	-les complexes immuns sont dissociés par changement de pH pour libérer les ADA -les ADA libre et les ADA libérés sont détectés par un test de liaison à l'Ag (ELISA, RIA)	-peut différencier entre les ADA libres et les ADA liés à la PT -n'est pas sensible à la présence des PT circulantes	-peu utilisé car son développement est récent
<b>HMSA (Homogenous mobility shift assay)</b>	- les complexes immuns sont dissociés par baisse de pH pour	-excellente sensibilité (détecte toute classe d'ADA)	-capacité de criblage faible -cout important -développement

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

	libérer les ADA ; ils sont capturés par la PT marquée et détectés par fluorescence	-insensible à la présence de PT circulante	récent
--	--	--	--------

### 9 Plan de gestion des risques et pharmacovigilance

Le PGR contribue à la surveillance des médicaments, notamment pour ceux récemment mis sur le marché. Un PGR est requis pour tout médicament contenant une nouvelle substance active.

Il peut aussi être mis en place après la commercialisation du produit si des changements significatifs interviennent (nouvelle indication, nouveau dosage, nouvelle voie d'administration, nouveau procédé de fabrication) ou si un risque important a été identifié après la mise sur le marché. Il implique, si besoin, des mesures complémentaires comme :

- Une pharmacovigilance renforcée sur certains des risques mis en évidence.
- Des études de sécurité d'emploi post-AMM et/ou des études d'utilisation
- Des mesures de minimisation du risque (documents d'information pour les professionnels de santé ou les patients).
- l'évaluation de l'efficacité des mesures de réduction des risques.

Dans le PGR, il convient d'accorder toute l'importance qu'elle mérite à la présentation de l'immunogénicité : les mesures prises pour obtenir des données complémentaires sur l'immunogénicité doivent quant à elles faire l'objet d'une discussion argumentée.[93]

Dans le PGR un concept complet de pharmacovigilance post-autorisation doit être décrit :

- Études PASS (Post Authorization Safety Study) qui ont pour but d'identifier, de caractériser ou de quantifier un risque pour la sécurité, de confirmer le profil de sécurité du médicament ou encore de mesurer l'efficacité des mesures de gestion des risques au long de sa durée de vie.[94]

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

- Etudes PAES (Post Authorization Efficacy Study) exigées en cas de motifs de préoccupation sur les aspects liés à l'efficacité ne pouvant être résolus qu'après la mise sur le marché du médicament.

Il y a lieu à cet égard de prendre en considération les risques identifiés et potentiels inhérents au biomédicament de référence ainsi que, le cas échéant, les risques potentiels supplémentaires découverts au cours du programme de développement du biosimilaire. Il s'agit de décrire avec précision la manière dont les risques sont surveillés et étudiés après la délivrance de l'autorisation.[95]

En ce qui concerne les risques liés à l'immunogénicité, selon l'Agence Européenne du Médicament, il a été décidé ce qui suit :

L'immunogénicité doit être prise en compte pour la section des spécifications de sécurité du PGR des protéines thérapeutiques et, si elle est incluse, le recours à des mesures de pharmacovigilance supplémentaires doit être évalué.

En ce qui concerne les changements dans le processus de fabrication, les implications de ce changement sur le potentiel immunogène pourraient devoir être abordées dans le PGR. Une fois encore, il convient de souligner que l'évaluation de l'immunogénicité est une approche Multidisciplinaire, qui fait appel, dans le meilleur des cas, à des experts en qualité, non cliniques et cliniques.

L'immunogénicité doit toujours être liée à la conséquence clinique. Si l'évaluation ne soulève aucune inquiétude ou incertitude particulière, il n'est pas nécessaire d'inclure par défaut l'immunogénicité comme un risque potentiel ou comme une zone d'information manquante

A l'heure actuelle, les ADA et les concentrations minimales ne sont pas mesurées de façon routinière dans la pratique clinique.

Le suivi des patients traités avec une protéine thérapeutique au cours de la pratique clinique de routine, et la collecte des effets indésirables suspectés signalés spontanément se sont avérés être un outil précieux pour collecter des données sur la sécurité de ces produits. Ces outils de pharmacovigilance peuvent également être utilisés pour l'identification des effets indésirables liés à l'immunogénicité ,

L'identification du produit et du numéro de lot suspectés de provoquer un effet indésirable, la traçabilité, est importante pour les protéines thérapeutiques. Elle est

## Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires

particulièrement importante pour les événements indésirables liés à l'immunogénicité, qu'ils soient détectés par la pharmacovigilance de routine et/ou par des activités de pharmacovigilance supplémentaires.[54]

### 9.1 Mesures de minimisation des risques de l'immunogénicité

#### ➤ A l'échelle industrielle

La prévention au niveau du produit est la meilleure façon de gérer le problème de l'immunogénicité.

#### • Agrégats :

Il est essentiel de minimiser l'agrégation des protéines dans la mesure du possible. Les stratégies et méthodes visant à minimiser la formation d'agrégats doivent être développées aussi tôt que possible dans le développement du produit, et être ensuite validés pour être utilisés dans les évaluations de routine de la libération et de la stabilité des lots.

Ceci peut être fait :

- En utilisant un substrat cellulaire approprié, en sélectionnant des conditions de fabrication qui minimisent la formation d'agrégats,
- En employant un schéma de purification robuste qui élimine les agrégats autant que possible,
- En choisissant une formulation et un système de fermeture du récipient qui minimisent l'agrégation pendant le stockage.

Il est particulièrement important que la datation de la péremption du produit tienne compte de toute augmentation des agrégats de protéines associée à la dénaturation ou à la dégradation des protéines pendant le stockage[96].

#### • Impuretés

Tous les produits protéiques thérapeutiques doivent être évalués pour leur contenu et les réponses immunitaires dirigées vers les composants accidentels du produit, y compris les protéines et les composants non protéiques (impuretés liées au processus et au produit). Un programme de tests doit être conçu sur la base de cette évaluation.

## **Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires**

Les protéines étrangères destinées à un usage thérapeutique doivent être évaluées pour détecter les régions moléculaires qui présentent une forte homologie avec les protéines humaines endogènes. Lorsque de telles homologues existent, l'évaluation des anticorps contre la protéine humaine homologue doit être effectuée en plus de l'évaluation des anticorps contre la protéine thérapeutique étrangère[96].

- **Glycosylation et PEGylation**

Pour les protéines qui sont normalement glycosylées, il est recommandé d'utiliser un système de production de substrat cellulaire et des méthodes de fabrication appropriées qui glycosylent le produit protéique thérapeutique d'une manière non immunogène.

Pour les produits protéiques thérapeutiques pégylés, le test ADA doit être capable de détecter à la fois les anticorps anti-protéines et les anticorps contre la fraction PEG.

Il est très important pour les fabricants de minimiser les types et les quantités de ces impuretés microbiennes ou liées aux cellules hôtes dans les produits protéiques thérapeutiques. Les tests permettant d'évaluer les types d'Impuretés Modulant la Réponse Immunitaire Innée (IIRMI) présents doivent être adaptés au substrat cellulaire concerné.

Étant donné que même des traces d'IIRMI peuvent modifier l'immunogénicité d'un produit protéique thérapeutique, les tests utilisés pour les détecter doivent avoir des sensibilités permettant d'évaluer les niveaux qui peuvent entraîner des réponses immunitaires cliniquement pertinentes.

- **Formulation**

Les excipients doivent être évalués pour leur potentiel à prévenir la dénaturation et la dégradation des produits protéiques thérapeutiques pendant le stockage. Les interactions entre les excipients et les protéines thérapeutiques doivent être soigneusement évaluées, notamment en termes de co-agrégation ou de formation d'adduits protéine-excipient. La stabilité des excipients doit être soigneusement prise en compte lors de l'établissement de la durée de conservation du produit.

- **Après commercialisation :**

## **Partie II : Immunogénicité des Biosimilaires**

Les cliniciens disposent de plusieurs options pour gérer les patients porteurs d'anticorps, en fonction des conséquences cliniques des anticorps.

Dans le cas de faibles taux d'anticorps sans signe de perte d'efficacité ou d'effets secondaires, le traitement peut être maintenu. Cependant, dans de nombreux cas, les anticorps liants précèdent l'apparition d'anticorps neutralisants, et les patients doivent être soumis à des tests répétés de détection des anticorps pendant le traitement. .

Si les patients ont développé des anticorps neutralisants et présentent une perte d'efficacité ou d'autres symptômes d'immunogénicité, le clinicien peut décider d'arrêter le traitement, car la poursuite du traitement n'est pas efficace et peut entraîner l'augmentation ou la prolongation des effets secondaires. Dans certains cas, le traitement peut être remplacé immédiatement par une autre protéine thérapeutique ayant un mode d'action similaire ou par un produit similaire mais moins immunogène, après une période d'élimination.

Le traitement immunosuppresseur est utilisé pour prévenir l'induction d'anticorps avec des produits spécifiques, mais seulement pour les conditions pour lesquelles la suppression immunitaire est également une des causes de la maladie.

Il est possible aussi de prédire l'hypersensibilité que peuvent avoir certains ADA induisant la formation d'IgE par des tests cutanés d'hypersensibilité non invasifs, évitant ainsi de sévères complications pour la santé du patient [97].

# **PARTIE III**

## **Exemples des Biosimilaires**

### **Rituximab & L'insuline**

#### **Glargine**

## 1 Rituximab

### **Immunogénicité du biosimilaire GP2013 du rituximab : un événement rare, mais pas sans conséquences. . .**



J. Avouac<sup>1,\*</sup>, R. Cougnaud-Murail<sup>1</sup>, C. Goulvestre<sup>2</sup>, S. Dumas<sup>3</sup>,  
A. Molto<sup>1</sup>, C. Miceli Richard<sup>1</sup>, O. Conort<sup>4</sup>, F. Batteux<sup>5</sup>,  
Y. Allanore<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Rhumatologie, Hôpital Cochin, Paris

<sup>2</sup> Immunologie, Hôpital Cochin-Port Royal - Centre de planification et  
d'éducation familiale, Paris

<sup>3</sup> Hôpital Cochin, 27, rue du Faubourg Saint Jacques, Paris

<sup>4</sup> Service de pharmacie clinique, Hôpital Cochin, Paris

<sup>5</sup> Immunologie biologique, Hôpital Cochin-Port Royal - Centre de  
Planification et d'Education Familiale, Paris

<sup>6</sup> Rhumatologie A, Hôpital Cochin, Paris

\* Auteur correspondant.

### **INTRODUCTION**

Le Rituximab (RTX) est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre la molécule de surface CD20 (anticorps anti-CD20). Il est souvent indiqué dans la prise en charge de la Le Rituximab (RTX) est un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre la molécule de surface CD20 (anticorps anti-CD20). Il est souvent indiqué dans la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde (PR) ainsi que les leucémies lymphoïdes chroniques. La bioéquivalence entre le Rituximab princeps et son biosimilaire GP2013 a été démontré dans la PR [97].

### **OBJECTIF**

-Etudier le risque d'immunogénicité chez des patients traités par GP2013 pour la PR, et montrer que l'immunogénicité est un phénomène rare [97].



## **METHODE ET PATIENT**

**Lieu de l'étude :** Le service de rhumatologie de l'hôpital Cochin.

**Durée de l'étude :** Entre septembre 2018 et aout 2020.

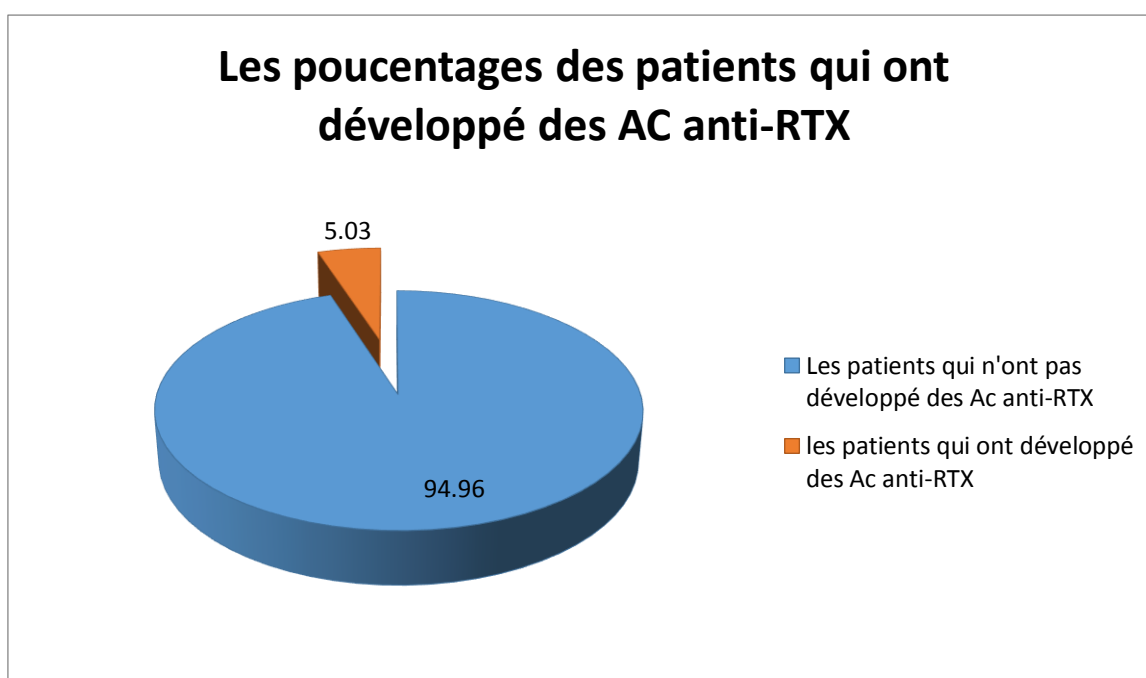
**Type d'étude :** Etude prospective randomisée contrôlée.

**Population :** 159 patients consécutifs traités par GP2013, avec un âge moyen de 59-13 ans et une durée moyenne de la maladie 18-11 ans.

**Méthode :** Dosage des anticorps anti RTX par la technique ELISA( en utilisant le coffret LISA-TRACKER Duo Rituximab, qui permet le dosage par méthode ELISA les anticorps anti-Rituximab dans le sérum) [97].

## **RESULTATS**

L'analyse du 1<sup>er</sup> prélèvement, réalisé avant la seconde perfusion de GP2013 a donné :



**Figure 1 : Fréquence du développement des Ac anti-RTX**

- Sur les 159 prélèvements collectés, 8 prélèvements sont positifs soit environ 5% des patients. 151 patients n'ont pas développé des anticorps et qui représentent environ 95% des patients.
- L'étude a aussi montré que parmi les 8 patients immunisés, deux groupes sont isolés :
  - Un groupe de 5 patients avec un faible taux d'Ac, sans conséquence clinique observée (maintien du traitement, absence de perte d'efficacité, et une seule réaction allergique mineure).
  - Un groupe de 3 patients avec fort taux d'Ac, caractérisé par une réaction allergique sévère lors de la seconde perfusion de GP2013 ayant conduit à l'arrêt du traitement chez un des trois patients [97].

### **DISCUSSION :**

Nous avons remarqué que la fréquence du développement des Ac anti-RTX est très faible (5 %), et que chez les patients immunisés, la gravité des conséquences de cette immunisation dépend du taux d'Ac produits. Dans ce cas, le pourcentage des patients qui ont développé un taux élevé d'Ac anti-RTX égale à : 1,88 % qui est très faible[97].

### **CONCLUSION :**

L'immunogénicité des patients traités par RTX est un phénomène rare. Notre objectif est donc atteint [97].

## 2 L'insuline Glargine



### **Développement des biosimilaires de l'insuline : exemple de l'insuline glargine LY2963016**

Jean-Jacques Altman<sup>1</sup>, Nicolas Chevalier<sup>2</sup>, Brigitte Delemer<sup>3</sup>, Florence Travert<sup>4</sup>, Imane Benabbad<sup>5</sup>

Reçu le 27 mars 2017  
Accepté le 14 juin 2018  
Disponible sur internet le :  
25 septembre 2018

1. Hôpital européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France
2. CHU de Nice, département d'endocrinologie, diabétologie & médecine de la reproduction, 06202 Nice, France
3. CHU de Reims, service d'endocrinologie, maladies métaboliques, pôle digestif, 51100 Reims, France
4. Hôpital Bichat, 75877 Paris, France
5. Lilly France, 92521 Neuilly-sur-Seine, Paris, France

#### **Correspondance :**

J.J. Altman, Hôpital Européen Georges-Pompidou, 20, rue Leblanc, 75015 Paris, France.  
jean-jacques.altman@aphp.fr

## **INTRODUCTION**

ABASAGLAR® est un biosimilaire de l'insuline glargine LANTUS®, il représente la première insuline biosimilaire à avoir reçu une autorisation de mise sur le marché en Europe.

Cet analogue de l'insuline humaine, d'action lente, est indiqué comme un traitement de première intention dans le diabète sucré de l'adulte, de l'adolescent et de l'enfant à partir de 2 ans. Et un traitement de deuxième intention dans le diabète de type 2 de l'adulte. Elle nécessite une seule administration sous-cutanée par jour[98] .

### **Objectif**

- Comparer le profil d'immunogénicité et les effets potentiels sur les résultats cliniques de l'insuline glargine LY2963016 (LY IGLar) et de l'insuline glargine Lantus® (IGlar), produits ayant des séquences d'acides aminés primaires identiques, chez des patients atteints de diabète sucré de type 1 (DT1) [98].

- Montrer la similarité de l'insuline LY IGLAR (ABASAGLAR ®) par rapport à l'insuline de référence IGLar (LANTUS ®) sur la réduction de la glycémie moyenne évaluée par le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1C) après 24 semaines de traitement ainsi que l'incidence des événements d'hypoglycémie, lorsque ces deux insulines sont administrées d'une manière randomisée une fois par jour à des patients diabétiques de type 1 [98] .

## **METHODE**

**Lieu de l'étude :** L'étude a été réalisé par :

1. **Jacques Altman**, à l'Hôpital européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France
2. **Nicolas Chevalier**, au CHU de Nice, département d'endocrinologie, diabétologie & médecine de la reproduction, 06202 Nice, France
3. **Brigitte Delemer**, au CHU de Reims, service d'endocrinologie, maladies métaboliques, pôle digestif, 51100 Reims, France
4. **Florence Travert**, à l'Hôpital Bichat, 75877 Paris, France

5. **Imane Benabbad**, Lilly France, 92521 Neuilly-sur-Seine, Paris, France.

**Période de l'étude** : 24 semaines.

**Le type de l'étude** : prospective, parallèle, ouverte, randomisée.

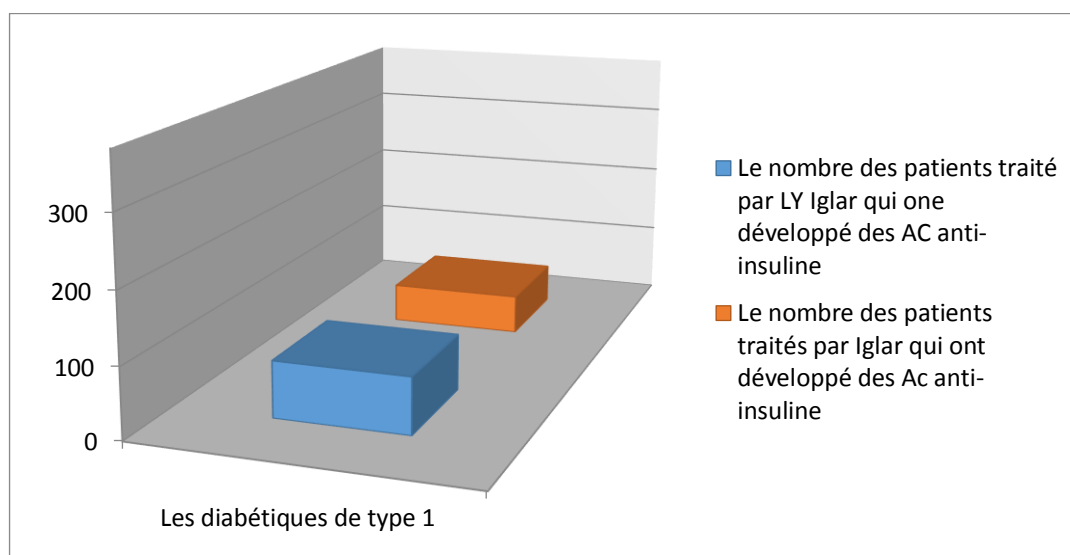
**La méthode** : Les échantillons pour la détermination des anticorps ont été collectés avant la randomisation et lors de visites préspecifiées pendant le traitement. La détermination des anticorps anti-insuline a été effectuée par Millipore (St. Charles, MO, USA). Les anticorps anti-LY IGLar ont été quantifiés en pourcentage de liaison à l'aide d'un dosage radio-immunologique où le pourcentage de liaison est le pourcentage de la quantité totale de traceur radio-marqué (LY IGLar) qui co-précipite avec les anticorps [98] .

**Tableau 7:Résumé sur les informations qui concernent les patients incriminés dans cette étude.**

<b>La catégorie des patients</b>	Diabétiques de type 1	
<b>Le nombre total des patients</b>	N=535	
<b>Le nombre de patients qui ont reçu chaque type d'insuline</b>	LY IGLar	IGlar
	N=268	N=267
<b>Autres médicaments pris durant la période d'essais</b>	L'insuline rapide Lispro avant les repas.	
<b>Les critères d'inclusion</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- L'HbA1c des patients devait être inférieur à 11,0 %</li> <li>- les patients ne devaient avoir présenté aucun épisode d'hypoglycémie sévère au cours des 6 derniers mois</li> </ul>	

## RESULTATS

### 1. L'IMMUNOGENICITE



**Figure 18: Le développement des anticorps anti-insuline glargine chez les patients traités par le biosimilaire LY IGLar et le princeps IGLar**

- Chez les diabétiques de type 1, 80 patients traités par le biosimilaire LY IGLar ont développé des anticorps anti-insuline glargine (30%), versus 90 patients traités par le princeps IGLar (34%) [98].

### DISCUSSION 1

La proportion de patients atteints de DT1 présentant des anticorps anti-insuline détectables était similaire entre les deux groupes de traitement. Aucune différence statistiquement significative entre les traitements n'a été observée car : après 24 semaines : 30,2% des patients traités par LY IGLar , versus 33,7% dans le cas des patients traités par l'IGlar ;  $p = 0,404$  ;  $p$  est supérieur à 0,05 donc la différence entre les pourcentages des patients qui ont développé des anticorps chez les deux médicaments, est non significative [98].

## CONCLUSION 1

Le biosimilaire LY IGlAr et le princeps IGlAr ont des profils d'immunogénicité similaires [98]

## 2. L'EFFICACITE CLINIQUE

**Tableau 8: Variations moyennes des taux d'HbA1C**

La variation du taux d'HbA1c (Valeur initiale – Valeur après 24 semaines)	Le biosimilaire LY IGlAr	Le princeps IGlAr	La différence LY IGlAr - IGlAr
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Moyenne des moindres carrées (%)</li> <li>➤ Intervalle de confiance 95%</li> <li>➤ P</li> </ul>	0,350%	0,456%	0,106%  [-0,005 ; 0,217]  0,061
Les hypoglycémies : Taux global après 24 semaines (événements/patient/année)	87	89	/

- **Le taux d'Hémoglobine glyquée :** Après 24 semaines de traitement, chez les diabétiques de type 1 : le taux d'HbA1c initial qui vaut : 7,8% est diminué de 0,35% par le biosimilaire LY IGlAr, et de 0,46% par le princeps IGlAr [98].
- **Les événements d'hypoglycémie :** Après 24 semaines, une moyenne de 87 événements/patient/année sont déclarés chez les patients traités par le biosimilaire LY IGlAr, et 89 événements/patient/année chez les patients traités par le princeps IGlAr [98].

## DISSCUSSION 2

La différence entre la diminution du taux de l'HbA1c du LY IGlAr et du IGlAr qui vaut : 0,106%, est incluse dans l'intervalle de confiance 95% qui se situe entre : [-0,005 ; 0,217] et le p qui est égal à 0,061 est supérieur à 0,05 ( $p > 0,05$ ). IL n'y a donc pas de différence significative entre les traitements pour les autres mesures d'efficacité.

Aussi, l'étude a montré que dans les deux cas, l'incidence moyenne des hypoglycémies est comparable entre les deux insulines glargine testées [98].

#### **CONCLUSION 2**

LY IGlAr et IGlAr, ont permis un contrôle glycémique similaire, ainsi que des profils de sécurité similaires.

Cette étude a montré que l'immunogénicité du biosimilaire LY IGlAr est comparable par rapport à celle du princeps IGlAr, ainsi que la similarité du contrôle glycémique et du profil de sécurité des deux. Notre objectif est donc atteint.[98].

## REFERENCES

---

### Conclusion :

Les objectifs de ce travail sont atteints. Nous avons trouvé que l'immunogénicité des médicaments biosimilaires est manifestée par le développement des ADA. Elle est influencée par plusieurs facteurs de risques, liés aux patients : tels que les facteurs génétiques et le statut immunitaire, liés au traitement : tels que l'exposition antérieure à des protéines similaires, ou liés au produit : comme la structure protéique complexe et la diversité des modifications post-traductionnelles qu'elle subit, ainsi que la formulation galénique.

Cette immunogénicité peut ou non avoir des conséquences sur l'efficacité ou la sécurité, cela dépend des types d'ADA produits et de leurs taux. Certains ADA neutralisent l'effet du produit en se liant sur son site d'action, tandis que d'autres ne sont pas neutralisants, ils modifient la pharmacocinétique du médicament par formation des complexes : Biosimilaire-ADA.

Parmi les conséquences de l'immunogénicité sur la patients : l'apparition des réactions allergiques, et un risque d'auto-immunité en cas de présence d'une protéine endogène analogue à la protéine thérapeutique.

L'évaluation clinique de l'immunogénicité est concrétisée par des tests qui mesurent les ADA dans le sérum des patients traités par le biosimilaire. Elle se fait lors du développement de ce dernier, et longtemps après sa commercialisation. Son but est de prouver que l'immunogénicité du biosimilaire proposé n'est pas supérieure à celle du produit de référence.

Les exemples d'études faites sur les biosimilaires Rituximab et l'insuline ABASAGLAR®, ont montré que l'immunogénicité du Rituximab est un phénomène rare, et que la fréquence de l'apparition de cette immunogénicité du biosimilaire de l'insuline ainsi que son efficacité, son comparables à ceux de l'insuline de référence.

La prédiction de l'immunogénicité permet de choisir dès le départ du développement, des molécules à risque diminué. Et le plan de gestion des risques mis en œuvre pour chaque biosimilaire, propose des mesures pour gérer ou pour minimiser l'immunogénicité : Tels que des mesures préventives qui concernent les premières étapes du développement du biosimilaire (minimisation de l'agrégation des protéines, des impuretés, et le choix calculé des excipients), ainsi que des mesures après la commercialisation (remplacement du traitement si l'effet du biosimilaire est neutralisé, proposition des traitements immunosuppresseurs pour prévenir l'apparition des ADA, ainsi que la modification des doses administrées si les ADA influencent la pharmacocinétique).



## REFERENCES

---

- [1] P. AVENAS, [Livre]“Étymologie :À propos des biotechnologies - La Jaune et la Rouge.”
- [2] “Ces biotechnologies qui révolutionnent la santé | Leem,” *Leem*, 2018. [Online]<https://www.leem.org/ces-biotechnologies-qui-revolutionnent-la-sante> (accessed Jun. 29, 2021).
- [3] J.-L. P. et J.-H. Trouvin,[Livre] *Les Biosimilaires*, vol. 138, no. Reapproved. 2011.
- [4] M. Broutin and H. Watier, “Les biomédicaments 1 re partie : cadre général,” 2016. Accessed: Jun. 08, 2021. [Online]:Available: <http://mabimprove.univ-tours.fr/wp-content/uploads/biomedicaments1.pdf>.
- [5] État des lieux sur les médicaments biosimilaires. Ansm, “État Des Lieux Sur Les Médicaments Biosimilaires,” *L’agence Natl. Secur. du médicament des Prod. santé*, 2016, [Online]: <https://ansm.sante.fr/>.
- [6] B. Vialettes, M. Daul, and C. H. Debeuret, “How to get ready for the launching of biosimilar insulins,” *Med. des Mal. Metab.*, vol. 9, no. 3, pp. 345–349, 2015, doi: 10.1016/s1957-2557(15)30090-0.
- [7] H. Chneiweiss, “L’envol des biosimilaires,” *Brèves magazine*, p. 831, 2012.
- [8] G. B. F. Z. BEYAZ FAHEM Aouatef, “Médicaments biosimilaires : entre évolution de la règlementation et...bon sens,” *Alger. J. Heal. Sci.*, vol. 29, p. 54, 2019.
- [9] “Lois, réglementations et documents d’orientation de la FDA,” *FDA*, p. 08, 2012.
- [10] “Les biomédicaments, une nouvelle génération de traitements | Leem,” *Leem les entreprise des médicaments*. <https://www.leem.org/les-biomedicaments-une-nouvelle-generation-de-traitements> (accessed Jun. 30, 2021).
- [11] H. Watier, “Biothérapies, immunothérapies, thérapies ciblées, biomédicaments... De quoi faut-il parler?,” *Medecine/Sciences*, vol. 30, no. 5. Editions EDK, pp. 567–575, 2014, doi: 10.1051/medsci/20143005021.
- [12] P. Bannas, J. Hambach, and F. Koch-Nolte, “Nanobodies and nanobody-based human heavy chain antibodies as antitumor therapeutics,” *Frontiers in Immunology*, vol. 8, no. NOV. Frontiers Media S.A., p. 1603, Nov. 22, 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.01603.
- [13] J.-D. Lelièvre, “Les vaccins de demain,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 2019, no. 512, pp. 52–63, 2019, doi: 10.1016/s1773-035x(19)30258-8.
- [14] P. Andr, “L’interleukine 2 en immunothérapie clinique,” 2021.
- [15] K. Bachmaier, S. Toya, and A. B. Malik, “Therapeutic administration of the chemokine CXCL1/KC abrogates autoimmune inflammatory heart disease,” *PLoS One*, vol. 9, no. 2, Feb. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0089647.
- [16] S. Pestka, C. D. Krause, and M. R. Walter, “Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors,” *Immunological Reviews*, vol. 202. Immunol Rev, pp. 8–32, Dec. 2004, doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x.

## REFERENCES

---

- [17] A. M. Aliper, V. P. Frieden-Korovkina, A. Buzdin, S. A. Roumiantsev, and A. Zhavoronkov, "A role for G-CSF and GM-CSF in nonmyeloid cancers," *Cancer Med.*, vol. 3, no. 4, pp. 737–746, 2014, doi: 10.1002/cam4.239.
- [18] N. Rainville, E. Jachimowicz, and D. M. Wojchowski, "Targeting EPO and EPO receptor pathways in anemia and dysregulated erythropoiesis," *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 20, no. 3. Taylor and Francis Ltd, pp. 287–301, Mar. 03, 2016, doi: 10.1517/14728222.2016.1090975.
- [19] H. J. Out, S. G. A. J. Driessen, B. M. J. L. Mannaerts, and H. J. T. C. Bennink, "Recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin beta, Puregon) yields higher pregnancy rates in in vitro fertilization than urinary gonadotropins," *Fertil. Steril.*, vol. 68, no. 1, pp. 138–142, 1997, doi: 10.1016/S0015-0282(97)81490-2.
- [20] G. G. Adams *et al.*, "Characterisation of insulin analogues therapeutically available to patients," *PLoS One*, vol. 13, no. 3, Mar. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195010.
- [21] D. A. Meriem, "Introduction Au Génie Génétique," 2021.
- [22] "Définition | Hémophilie - Hémophilie classique - Maladie de Christmas - Maladie de Rosenthal | Futura Santé." <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-hemophilie-12477/> (accessed Jun. 30, 2021).
- [23] M. Ujihara, "Congenital hypogonadotropic hypogonadism," *Nippon rinsho. Japanese J. Clin. Med.*, vol. Suppl 2, pp. 216–219, 2009, doi: 10.1007/978-1-59259-727-7\_5.
- [24] A. Alhenc-Gelas M, "Activateur tissulaire du plasminogène ( t-PA )," pp. 12–13.
- [25] D. En Pharmacie and C. Carnoy, "Guide des anticorps monoclonaux et protéines de fusion à usage thérapeutique Hélène KAPLON."
- [26] D. Roy and N. S. Sadick, "Therapeutic uses of botulinum toxin," *G. Ital. di Dermatologia e Venereol.*, vol. 140, no. 5, pp. 561–568, 2005, doi: 10.1056/nejm199104253241707.
- [27] "Médicaments biosimilaires - ANSM," 2021. Accessed: Jul. 05, 2021. [Online]. Available: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/medicaments-biosimilaires>.
- [28] Melle Anne-Sophie Limonier, "La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie," 2018.
- [29] P. Descartes and I. Umr, "Actualités sur les biosimilaires (Aspects réglementaires et Aspects économiques)," 2017.
- [30] Commission européenne des médicaments, "Ce qui'il faut savoir sur les médicaments biosimilaires," 2013.
- [31] S. Berrada, "LES PROTEINES : STRUCTURE, PROPRIETES ET APPLICATIONS TECHNOLOGIQUES 1," pp. 1–13, 2009.
- [32] F. Hoonhorst and G. Pivert, "Biologie moléculaire," *IRBM News*, vol. 34, no. 1, p. 119, 2013, doi: 10.1016/j.irbmnw.2012.12.006.

## REFERENCES

---

- [33] P. T. Schaefferbeke, “Biosimilaires :,” vol. 12, 2015.
- [34] J. Edge, “ICH Topic Q 6 B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products Step,” *ELT J.*, vol. 40, no. 17, pp. 121–124, 1999, doi: 10.1093/elt/40.2.121.
- [35] “le rôle du pharmacien dans le cadre des différents thérapies,” 2019, Accessed: Jul. 01, 2021. [Online]. Available: <https://slidetodoc.com/gsasa-27-29-mars-2019-barcelone-personalised-hospital/>.
- [36] S. Sellak, “Biosimilaires : caractéristiques, enjeux économiques et politiques,” 2018.
- [37] G. DIRIBARNE, “Technologie de l’ADN recombinant,” 2018.
- [38] S. Baccouchi, “Validation du procédé de fabrication des biomédicaments : quelles sont les exigences réglementaires et les recommandations ? Exemples d’ approches et de stratégies employées dans le cadre de la production d’ anticorps monoclonaux To cite this version :,” vol. 12–13, 2017.
- [39] faculté de pharmacie de lille service immunologie, “Guide des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique.” [https://acthera.univ-lille.fr/co/module\\_Acthera\\_5.html](https://acthera.univ-lille.fr/co/module_Acthera_5.html) (accessed Jul. 02, 2021).
- [40] “Production d’anticorps monoclonaux, mAb | Molecular Devices.” <https://fr.moleculardevices.com/applications/monoclonal-antibody-production#gref> (accessed Jul. 02, 2021).
- [41] M. K. BOUKHALFA, “Titre La réglementation européenne et américaine des médicaments biosimilaires,” 2013.
- [42] “Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins | European Medicines Agency.” <https://www.ema.europa.eu/en/immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins> (accessed Jul. 02, 2021).
- [43] D. of the P. S. Franklin, Joe J.D., Ph.D., “Biosimilar and Interchangeable Products : The U.S.FDA Perspective,” *Aacr 2018*, 2018.
- [44] FDA, “Prescribing Interchangeable Products,” *FDA*, p. 1.
- [45] Accenture, “Biosimilars – Emergence of a third market dynamic between original products and generics,” p. 12, 2009.
- [46] D. Lenox, “Biosimilaires a l’officine,un avenir en suspens,” *siphal salon international de la pharmacie et parapharmacie*, 2019.
- [47] A. DENARIE, “Médicaments biologiques et biosimilaires : Comment aborder l’interchangeabilité ?,” 2019.
- [48] IEUCIENNE C. E. J. BACH, “IMMUNOLOGIE,” *Tropicultura*, pp. 17–55, 2009, [Online]. Available: [https://books.google.dz/books?id=c2mkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=immunologie&hl=fr&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?id=c2mkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=immunologie&hl=fr&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).

## REFERENCES

---

- [49] A. k. A. and A. H. Lichtman, *les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*, La 3e édit. 2009.
- [50] M. Krishna and S. G. Nadler, *Immunogenicity to biotherapeutics - The role of anti-drug immune complexes*, vol. 7, no. FEB. Frontiers Research Foundation, 2016.
- [51] "Définition | Immunogénicité | Futura Santé." <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-immunogenicite-13234/> (accessed Jul. 02, 2021).
- [52] A. Ishii-Watabe *et al.*, "Immunogenicity of therapeutic protein products: Current considerations for anti-drug antibody assay in Japan," *Bioanalysis*, vol. 10, no. 2, pp. 95–105, Jan. 2018, doi: 10.4155/bio-2017-0186.
- [53] G. Shankar *et al.*, "Assessment and reporting of the clinical immunogenicity of therapeutic proteins and peptides - Harmonized terminology and tactical recommendations," *AAPS J.*, vol. 16, no. 4, pp. 658–673, Apr. 2014, doi: 10.1208/s12248-014-9599-2.
- [54] S. M. Tatarewicz, D. T. Mytych, M. S. Manning, S. J. Swanson, M. S. Moxness, and N. Chirmule, "Strategic characterization of anti-drug antibody responses for the assessment of clinical relevance and impact," *Bioanalysis*, vol. 6, no. 11, pp. 1509–1523, Jul. 2014, doi: 10.4155/bio.14.114.
- [55] M. Kosmač, T. Avčin, N. Toplak, G. Simonini, R. Cimaz, and V. Č. Šerbec, "Exploring the binding sites of anti-infliximab antibodies in pediatric patients with rheumatic diseases treated with infliximab," *Pediatr. Res.*, vol. 69, no. 3, pp. 243–248, Mar. 2011, doi: 10.1203/PDR.0b013e318208451d.
- [56] P. A. Van Schouwenburg *et al.*, "Functional analysis of the anti-adalimumab response using patient-derived monoclonal antibodies," *J. Biol. Chem.*, vol. 289, no. 50, pp. 34482–34488, Dec. 2014, doi: 10.1074/jbc.M114.615500.
- [57] CHATENOU, BACH" *Immunologie*" [Livre] - 6e édition - Google Livres. .
- [58] "la réponses T-dépendantes et T-indépendantes." [https://www.researchgate.net/figure/Schema-simplifie-des-reponses-T-dependantes-et-T-independantes-Les-lymphocytes-B-naifs\\_fig1\\_279991045](https://www.researchgate.net/figure/Schema-simplifie-des-reponses-T-dependantes-et-T-independantes-Les-lymphocytes-B-naifs_fig1_279991045) (accessed Jul. 03, 2021).
- [59] B. weil, "laboratoire d'immunologie .faculté de médecine cochin-port royal .la reponse humorale." [http://lvts.fr/Pages\\_html/Encyclopedies/Cours\\_Immuno/chapitre11.htm](http://lvts.fr/Pages_html/Encyclopedies/Cours_Immuno/chapitre11.htm) (accessed Jul. 03, 2021).
- [60] G. carecelain, *Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements thématique et ... - Collège des Enseignants d'Immunologie - Google Livres. .*
- [61] K. G. C. Smith and M. R. Clatworthy, "FcγRIIB in autoimmunity and infection: Evolutionary and therapeutic implications," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 10, no. 5, pp. 328–343, 2010, doi: 10.1038/nri2762.
- [62] A. K. Chauhan and T. L. Moore, "Immune complexes and late complement proteins

## REFERENCES

---

- trigger activation of Syk tyrosine kinase in human CD4 + T cells,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 167, no. 2, pp. 235–245, Feb. 2012, doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04505.x.
- [63] A. D. Luster, “The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity,” *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 14, no. 1, pp. 129–135, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0952-7915(01)00308-9.
- [64] A. Azam, “Etude de la réponse des lymphocytes T spécifiques de l’hormone humaine H2-relaxine et de modifications non-naturelles : perspectives pour la réduction de l’immunogénicité des protéines et peptides thérapeutiques Thèse,” 2018.
- [65] B. S. Bochner and L. M. Lichtenstein, “Anaphylaxis,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 324, no. 25, pp. 1785–1790, Jun. 1991, doi: 10.1056/NEJM199106203242506.
- [66] T. Billiet *et al.*, “Immunogenicity to infliximab is associated with HLA-DRB1,” *Gut*, vol. 64, no. 8. BMJ Publishing Group, pp. 1344–1345, Aug. 01, 2015, doi: 10.1136/gutjnl-2015-309698.
- [67] D. W. Scott, K. P. Pratt, and C. H. Miao, “Progress toward inducing immunologic tolerance to factor VIII,” *Blood*, vol. 121, no. 22, pp. 4449–4456, May 2013, doi: 10.1182/blood-2013-01-478669.
- [68] “Europe PMC.” <https://europepmc.org/> (accessed Jul. 04, 2021).
- [69] T. P. Products, “Guidance for industry: Immunogenicity assessment for therapeutic protein products [excerpts],” 2013. doi: 10.1089/blr.2013.9927.
- [70] M. W. Konrad, A. L. Childs, T. C. Merigan, and E. C. Borden, “Assessment of the antigenic response in humans to a recombinant mutant interferon beta,” *J. Clin. Immunol.*, vol. 7, no. 5, pp. 365–375, Sep. 1987, doi: 10.1007/BF00917014.
- [71] A. Peng, P. Gaitonde, M. P. Kosloski, R. D. Miclea, P. Varma, and S. V. Balu-Iyer, “Effect of route of administration of human recombinant factor VIII on its immunogenicity in hemophilia A mice,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 98, no. 12, pp. 4480–4484, 2009, doi: 10.1002/jps.21765.
- [72] G. Shankar *et al.*, “White Paper Assessment and Reporting of the Clinical Immunogenicity of Therapeutic Proteins and Peptides-Harmonized Terminology and Tactical Recommendations,” doi: 10.1208/s12248-014-9599-2.
- [73] F. Baert *et al.*, “Influence of Immunogenicity on the Long-Term Efficacy of Infliximab in Crohn’s Disease,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, no. 7, pp. 601–608, Feb. 2003, doi: 10.1056/nejmoa020888.
- [74] P. Raskin, R. A. Guthrie, L. Leiter, A. Riis, and L. Jovanovic, “Use of insulin aspart, a fast-acting insulin analog, as the mealtime insulin in the management of patients with type 1 diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 23, no. 5, pp. 583–588, May 2000, doi: 10.2337/diacare.23.5.583.
- [75] G. Goldstein, A. J. Fuccello, D. J. Noeman, C. F. Shield, R. B. Colvin, and A. B.

## REFERENCES

---

- Cosimi, "OKT3 monoclonal antibody plasma levels during therapy and the subsequent development of host antibodies to OKT3," *Transplantation*, vol. 42, no. 5, pp. 507–511, Nov. 1986, doi: 10.1097/00007890-198611000-00013.
- [76] C. L. Krieckaert, M. T. Nurmohamed, and G. J. Wolbink, "Methotrexate reduces immunogenicity in adalimumab treated rheumatoid arthritis patients in a dose dependent manner," *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol. 71, no. 11, Ann Rheum Dis, pp. 1914–1915, Nov. 2012, doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201544.
- [77] F. M. Veronese and A. Mero, "The impact of PEGylation on biological therapies," *BioDrugs*, vol. 22, no. 5, BioDrugs, pp. 315–329, 2008, doi: 10.2165/00063030-200822050-00004.
- [78] M. L. Gou *et al.*, "A novel injectable local hydrophobic drug delivery system: Biodegradable nanoparticles in thermo-sensitive hydrogel," *Int. J. Pharm.*, vol. 359, no. 1–2, pp. 228–233, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.03.023.
- [79] Y. Liu *et al.*, "A double antigen bridging immunogenicity ELISA for the detection of antibodies to polyethylene glycol polymers," *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, vol. 64, no. 3, pp. 238–245, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.vascn.2011.07.003.
- [80] J. K. Armstrong *et al.*, "Antibody against poly(ethylene glycol) adversely affects PEG-asparaginase therapy in acute lymphoblastic leukemia patients," *Cancer*, vol. 110, no. 1, pp. 103–111, Jul. 2007, doi: 10.1002/cncr.22739.
- [81] N. Casadevall, E. Dupuy, P. Molho-Sabatier, G. Tobelem, B. Varet, and P. Mayeux, "Autoantibodies against Erythropoietin in a Patient with Pure Red-Cell Aplasia," *N. Engl. J. Med.*, vol. 334, no. 10, pp. 630–633, Mar. 1996, doi: 10.1056/nejm199603073341004.
- [82] "Assessing the efficacy and safety of Omnitrope - The British Journal ...," *Br. J.*, 2021, Accessed: Jul. 04, 2021. [Online]. Available: <https://www.yumpu.com/en/document/read/10872319/assessing-the-efficacy-and-safety-of-omnitrope-the-british-journal->
- [83] "Official Patient Website for NovoSeven® RT (coagulation Factor VIIa, recombinant)." <https://www.novosevenrt.com/> (accessed Jul. 04, 2021).
- [84] D. C. Robbins and P. M. Mead, "Free covalent aggregates of therapeutic insulin in blood of insulin-dependent diabetics," *Diabetes*, vol. 36, no. 2, pp. 147–151, Feb. 1987, doi: 10.2337/diab.36.2.147.
- [85] D. C. Robbins, S. M. Cooper, S. E. Fineberg, and P. M. Mead, "Antibodies to covalent aggregates of insulin in blood of insulin-using diabetic patients," *Diabetes*, vol. 36, no. 7, pp. 838–841, 1987, doi: 10.2337/diab.36.7.838.
- [86] J. G. Barnard, K. Babcock, and J. F. Carpenter, "Characterization and quantitation of aggregates and particles in interferon- $\beta$  products: Potential links between product quality attributes and immunogenicity," *J. Pharm. Sci.*, vol. 102, no. 3, pp. 915–928, 2013, doi: 10.1002/jps.23415.

## REFERENCES

---

- [87] S. Hermeling, W. Jiskoot, D. Crommelin, C. Bornæs, and H. Schellekens, “Development of a transgenic mouse model immune tolerant for human interferon beta,” *Pharm. Res.*, vol. 22, no. 6, pp. 847–851, Jun. 2005, doi: 10.1007/s11095-005-4578-z.
- [88] Z. Chen *et al.*, “Humanized transgenic mice expressing HLA DR4-DQ3 haplotype: Reconstitution of phenotype and HLA-restricted T-cell responses,” *Tissue Antigens*, vol. 68, no. 3, pp. 210–219, Sep. 2006, doi: 10.1111/j.1399-0039.2006.00656.x.
- [89] B. Maillère, S. Delluc, and G. Ravot, “La prédiction de l’immunogénicité des protéines thérapeutiques,” *Medecine/Sciences*, vol. 28, no. 1, pp. 81–88, Jan. 2012, doi: 10.1051/medsci/2012281021.
- [90] A. S. De Groot and L. Moise, “Prediction of immunogenicity for therapeutic proteins: State of the art,” *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.*, vol. 10, no. 3, pp. 332–340, 2007.
- [91] P. Stas and I. Lasters, “Immunogénicité de protéines d’intérêt thérapeutique: Les anticorps monoclonaux thérapeutiques,” *Medecine/Sciences*, vol. 25, no. 12. Editions EDK, pp. 1070–1077, Dec. 01, 2009, doi: 10.1051/medsci/200925121070.
- [92] M. E. Soukaina, “MÉDICAMENTS BIOLOGIQUES : SPÉCIFICITÉS ET APPLICATIONS EN ONCOLOGIE.,” 2020.
- [93] R. Williams *et al.*, “Cardiovascular safety of vildagliptin in patients with type 2 diabetes: A European multi-database, non-interventional post-authorization safety study,” *Diabetes, Obes. Metab.*, vol. 19, no. 10, pp. 1473–1478, Oct. 2017, doi: 10.1111/dom.12951.
- [94] M. Abou Taam, C. Ferard, P. Rocle, and P. Maison, “Interest of pharmacoepidemiology in pharmacovigilance: Post-authorization safety studies in regulatory pharmacovigilance activity,” *Thérapie*, vol. 74, no. 2, pp. 301–306, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.therap.2019.01.001.
- [95] H. Schellekens, “The Immunogenicity of Therapeutic Proteins,” *Discov. Med.*, vol. 9, no. 49, pp. 560–564, Jun. 2010.
- [96] A. Matucci *et al.*, “Allergological in vitro and in vivo evaluation of patients with hypersensitivity reactions to infliximab,” *Clin. Exp. Allergy*, vol. 43, no. 6, pp. 659–664, Jun. 2013, doi: 10.1111/cea.12098.
- [97] J. Avouac *et al.*, “Immunogénicité du biosimilaire GP2013 du rituximab : un événement rare, mais pas sans conséquences...,” *Rev. Rhum.*, vol. 87, pp. A102–A103, 2020, doi: 10.1016/j.rhum.2020.10.175.
- [98] J. J. Altman, N. Chevalier, B. Delemer, F. Travert, and I. Benabbad, “LY2963016 insulin glargine: The first biosimilar insulin approved in the European Union,” *Press. Medicale*, vol. 47, no. 10, pp. 854–866, 2018, doi: 10.1016/j.lpm.2018.06.004.

## RESUME

Un médicament biosimilaire est un médicament qui, comme tout médicament biologique, est produit à partir du vivant par la génie génétique. Sa qualité, son efficacité et ses effets indésirables sont équivalents à ceux de son médicament biologique de référence.

Comme les médicaments biosimilaires sont de nature protéique, et d'une grande complexité structurale, ils risquent de déclencher une réponse non voulu du système immunitaire, qui se manifeste par la formation des anticorps anti médicaments (ADA) : c'est l'immunogénicité. Le potentiel immunogène de ces médicaments est devenu un grand défi à qui font face les industriels.

Ce travail est fait afin de comprendre le mécanisme de cette immunogénicité, les facteurs qui l'influencent, ses conséquences, comment l'évaluer et comment peut-on l'éviter ou la minimiser. Egalement pour comparer entre le profil d'immunogénicité et ses effets potentiels sur les résultats cliniques d'un biosimilaire par rapport à son médicament de référence.

Pour le faire, nous avons illustré ce travail par deux études publiées : la première étudie le risque d'immunogénicité chez des patients traités par GP2013 biosimilaire du Rituximab (RTX) pour leur rhumatisme inflammatoire chronique. Et la deuxième, compare entre le profil d'immunogénicité de l'insuline glargine LY IGlAr (ABASAGLAR®) et de son médicament de référence IGlAr (LANTUS®), ainsi que les effets de cette immunogénicité sur les résultats cliniques chez des patients diabétiques.

Les résultats ont montré dans la première étude que l'immunogénicité des patients traités par le GP2013 est un phénomène rare. Et la deuxième étude a révélé qu'aucune différence significative entre les traitements n'a été observée en ce qui concerne les taux d'anticorps anti-insuline glargine produits, et la non-infériorité de l'efficacité de l'insuline LY IGlAr par rapport à celle de l'insuline IGlAr.

Les biosimilaires proposent un cout moins élevé que les princeps, et augmentent la disponibilité des médicaments biologiques sur le marché, chose qui permet de limiter les tensions d'approvisionnement. Les producteurs des biosimilaires n'ont qu'à prouver la similarité de la qualité, de l'efficacité et de la sécurité du biosimilaire qu'ils produisent avec le médicament de référence pour encourager les professionnels de la santé à promouvoir ces médicaments grâce à l'interchangeabilité.

**Mots clés : Biosimilaires, Immunogénicité, protéine recombinante, ADA.**



## ABSTRACT

A biosimilar drug is a drug that, like any biological drug, is produced from living organisms through genetic engineering. Its quality, efficacy and adverse effects are equivalent to those of its reference biologic drug.

As biosimilar drugs are of protein nature, and of great structural complexity, they risk causing an unwanted response of the immune system, which is manifested by the formation of anti-drug antibodies (ADA): this is immunogenicity. The immunogenic potential of these drugs has become a great challenge for the industry.

This work is done in order to understand the mechanism of this immunogenicity, the factors that influence it, its consequences, how to evaluate it and how to avoid or minimize it. Also to compare the immunogenicity profile and its potential effects on the clinical results of a biosimilar compared to its reference drug.

To do so, we have illustrated this work with two published studies: the first one investigates the risk of immunogenicity in patients treated with GP2013 biosimilar to Rituximab (RTX) for their chronic inflammatory rheumatism. The second study compares the immunogenicity profile of insulin glargine LY IGLar (ABASAGLAR®) and its reference drug IGLar (LANTUS®), as well as the effects of this immunogenicity on clinical outcomes in diabetic patients.

The results showed in the first study that immunogenicity in patients treated with GP2013 is a rare phenomenon. And the second study found that no significant difference between treatments was observed in the levels of anti-insulin glargine antibodies produced, as well as similar efficacy of IGLar LY compared to IGLar insulin.

Biosimilars are less expensive than originator drugs, and they increase the availability of biologic drugs in the market, which help reducing supply tensions. Biosimilar producers need only to prove the similarity of the quality, the efficacy and the safety of the biosimilar they produce with the reference drug to encourage health care professionals to promote these drugs through interchangeability.

**Key words: Biosimilars, Immunogenicity, recombinant protein, ADA.**

## RESUME

Un médicament biosimilaire est un médicament qui, comme tout médicament biologique, est produit à partir du vivant par la génie génétique. Sa qualité, son efficacité et ses effets indésirables sont équivalents à ceux de son médicament biologique de référence.

Comme les médicaments biosimilaires sont de nature protéique, et d'une grande complexité structurale, ils risquent de déclencher une réponse non voulu du système immunitaire, qui se manifeste par la formation des anticorps anti médicaments (ADA) : c'est l'immunogénicité. Le potentiel immunogène de ces médicaments est devenu un grand défi à qui font face les industriels.

Ce travail est fait afin de comprendre le mécanisme de cette immunogénicité, les facteurs qui l'influencent, ses conséquences, comment l'évaluer et comment peut-on l'éviter ou la minimiser. Egalement pour comparer entre le profil d'immunogénicité et ses effets potentiels sur les résultats cliniques d'un biosimilaire par rapport à son médicament de référence.

Pour le faire, nous avons illustré ce travail par deux études publiées : la première étudie le risque d'immunogénicité chez des patients traités par GP2013 biosimilaire du Rituximab (RTX) pour leur rhumatisme inflammatoire chronique. Et la deuxième, compare entre le profil d'immunogénicité de l'insuline glargine LY IGlAr (ABASAGLAR®) et de son médicament de référence IGlAr (LANTUS®), ainsi que les effets de cette immunogénicité sur les résultats cliniques chez des patients diabétiques.

Les résultats ont montré dans la première étude que l'immunogénicité des patients traités par le GP2013 est un phénomène rare. Et la deuxième étude a révélé qu'aucune différence significative entre les traitements n'a été observée en ce qui concerne les taux d'anticorps anti-insuline glargine produits, et la non-infériorité de l'efficacité de l'insuline LY IGlAr par rapport à celle de l'insuline IGlAr.

Les biosimilaires proposent un cout moins élevé que les princeps, et augmentent la disponibilité des médicaments biologiques sur le marché, chose qui permet de limiter les tensions d'approvisionnement. Les producteurs des biosimilaires n'ont qu'à prouver la similarité de la qualité, de l'efficacité et de la sécurité du biosimilaire qu'ils produisent avec le médicament de référence pour encourager les professionnels de la santé à promouvoir ces médicaments grâce à l'interchangeabilité.

**Mots clés : Biosimilaires, Immunogénicité, protéine recombinante, ADA.**