Revues générales

Avènement et place des biosimilaires d'anti-VEGF

RÉSUMÉ : Depuis 2004, nous utilisons des anti-VEGF sans forcément comprendre leur origine, leurs mécanismes, la cause de leurs éventuelles complications… Maintenant, des biosimilaires viennent compléter le spectre des traitements. Nous allons essayer de cerner au mieux les produits à notre disposition.

I. AKNIN
Association de rétine méditerranéenne et de développement (ARMD), GOLFE JUAN et CANNES.

Les processus de néovascularisation sont extrêmement complexes et impliquent de nombreuses réactions en chaîne. Une des molécules impliquées est le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*, ou facteur de croissance de l'endothélium vasculaire). Il existe les VEGF A, B, C et D et trois récepteurs : VEGFR 1, 2 et 3. Les deux premiers récepteurs activent l'angiogenèse, et le troisième, la croissance des vaisseaux lymphatiques. Ils agissent notamment sur les cellules endothéliales.

Le VEGF A nous intéresse car c'est celui qui régule l'angiogenèse et la perméabilité vasculaire par l'activation des VEGFR 1 et 2. Il est essentiel dans la physiopathologie des maladies où il y a des néovaisseaux. Néanmoins, ces derniers ne procèdent pas tous du même phénomène physiopathologique. Il y a une multitude de protéines en jeu.

Aussi, bloquer le VEGF est essentiel, mais nous pouvons nous intéresser à d'autres molécules qui pourraient le potentialiser.

Les anti-VEGF

Un anti-VEGF est un médicament biotechnologique qui fonctionne comme un anticorps, s'unit au VEGF et neutralise son action.

Les médicaments chimiques traditionnels (type acide acétylsalicylique) sont de petites molécules aux caractéristiques simples et bien connues, complètement reproductibles. Les génériques sont des copies conformes de ces agents chimiques traditionnels. Tout au plus, l'excipient peut changer, ce qui peut modifier la pharmaco-biologie.

À l'inverse, les médicaments biotechnologiques sont des molécules de plus grande taille, d'une telle complexité que seuls des organismes vivants peuvent les fabriquer. Leur production est donc assurée par des organismes vivants, comme des bactéries, des levures ou des cultures cellulaires.

C'est à cause de la complexité de synthèse de ces éléments que le prix de ces médicaments est tellement élevé, et que la compagnie pharmaceutique concernée dispose d'une exclusivité durant plusieurs années. Une fois le contrat d'exclusivité terminé, il est possible de fabriquer des copies semblables aux molécules originelles, les biosimilaires. Ce ne sont pas des génériques. Leur structure peut varier d'une culture cellulaire à une autre.

Pour que ces molécules soient fabriquées par des cultures cellulaires, on a introduit dans ces cellules le gène qui les code par un système d'ADN recombinant. Ce sont

des organismes génétiquement modifiés, ou transgéniques, combinant des ADN originaires d'espèces différentes. Les protéines ainsi obtenues sont appelées protéines recombinantes : elles sont distinctes des protéines produites naturellement par la lignée cellulaire ou bactérienne originale (***encadré 1*** et ***fig. 1***).

1. Identification de la séquence d'ADN qui va coder pour la protéine que nous désirons synthétiser.
2. Cette séquence d'ADN est injectée dans une cellule hôte qui va pouvoir commencer à produire la protéine dont nous avons besoin.
3. On sélectionne la lignée cellulaire qui produit la protéine de la façon la plus efficace et on la cultive dans un bioréacteur qui va nous permettre d'obtenir la plus grande quantité possible de protéines. Cette étape est appelée fermentation.
4. Les protéines sont séparées des cellules qui les ont produites par filtration ou centrifugation, puis elles seront extraites du bioréacteur.
5. Les protéines sont ensuite stabilisées, purifiées, et traitées pour obtenir le médicament biotechnologique.

Chaque "écrémage" du bioréacteur aura un numéro de lot différent. C'est pour cela que nous avons plusieurs boîtes avec le même numéro de lot. Ce sont des lots produits lors de la même séquence.

Encadré 1 : Mode de production des molécules biotechnologiques.

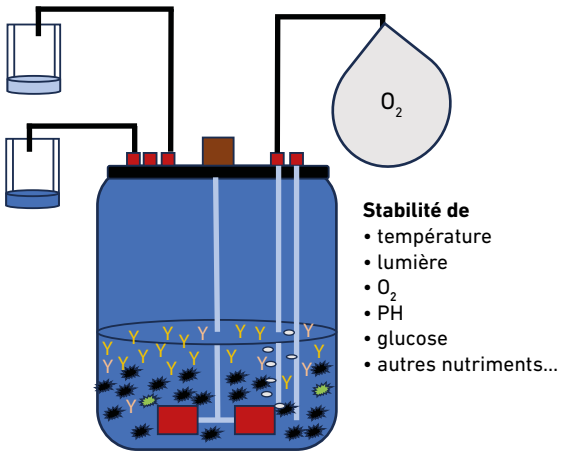

Fig. 1 : Fabrication d'agent biotechnologique.

Fig. 2 : Escherichia coli et hamster chinois.

Pour les anti-VEGF, les laboratoires ont recherché les organismes vivants les plus "efficaces" pour leur production. En l'occurrence, des bactéries Escherichia coli génétiquement modifiées et des cellules ovariennes de hamster chinois (***fig. 2***).

1. Immunogénicité

Les premiers anticorps produits dans les années 1980 étaient d'origine murine. Les réactions immunologiques contre ces anticorps ont diminué leur tolérance et leur efficacité. Pour résoudre ce problème, les anticorps ont été "humanisés". Le premier anticorps complètement humain a été l'adalimumab. C'est un anticorps monoclonal recombinant, produit dans des cellules ovariennes de hamster chinois contre le facteur de nécrose tumorale (TNF). Il a été autorisé en 2003 contre la polyarthrite mais a beaucoup d'indications. En ophtalmologie, on l'utilise contre les uvéites.

Notre organisme a la capacité d'identifier des protéines d'origine étrangère, et de les neutraliser. La portion non-humaine des anti-VEGF sera la cible prioritaire des anticorps produit par l'organisme receveur, les anticorps-antidrogues. Ceux-ci sont présents, quel que soit l'agent biologique, quelle que soit sa structure : anticorps chimériques ou anticorps monoclonaux humanisés (où plus de 90 % de la structure finale est totalement humaine). Les laboratoires ont travaillé pour que les molécules soient le plus neutre possible en termes immunologiques. L'immunotolérance doit être évaluée pour tous les médicaments biotechnologiques. En général, la réaction immunitaire est nulle ou très limitée, d'autant que nous pouvons compter sur le privilège immunitaire de l'œil. Lorsque nous aurons à manipuler des anti-VEGF, il faudra garder ce risque en tête.

2. Les différents anticorps

La majorité des anti-VEGF à notre disposition sont des anticorps ou des fractions d'anticorps humanisés ou des protéines

Revues générales

de fusion. Concrètement, on crée des hamsters transgéniques dans lesquels on introduit l'ADN d'immunoglobulines humaines. Ces hamsters sont croisés avec des hamsters génétiquement modifiés incapables de produire des immunoglobulines murines. Ainsi, on obtient une lignée de hamsters qui ne produit que des anticorps "humains".

Lorsque le VEGF s'est lié avec son anticorps, en principe, il n'y a pas d'activation inflammatoire, et le complexe finit par être protéolysé en acides aminés. En fait, le processus d'élimination de ces protéines et de leurs complexes n'est pas encore très bien connu.

Les techniques d'ADN recombinant permettent de synthétiser des anticorps monoclonaux ou des fractions d'anticorps qui peuvent se lier à des molécules endogènes dont la fonction doit être altérée pour obtenir un effet thérapeutique. L'un des inconvénients est l'immunogénicité de ces protéines. Un des grands défis est de fabriquer des protéines qui passent inaperçues vis-à-vis du système immunitaire. La réaction immunitaire peut apparaître dès la première dose ou à tout autre moment du traitement. Dans ce cas, il faut arrêter le traitement et procéder à un *switch*.

3. Description des anti-VEGF

>>> Ranibizumab et brolucizumab

La bactérie Escherichia coli est particulièrement intéressante pour la production de fragments d'anticorps, puisqu'elle se multiplie à toute vitesse. Le ranibizumab est produit ainsi : production d'anticorps dont les fragments Fab sont isolés par des enzymes protéolytiques. Le brolucizumab est un morceau de la partie variable des chaînes légères et lourdes des anticorps. C'est cette région qui reconnaît l'antigène.

Le ranibizumab est le premier anti-VEGF spécialement synthétisé pour une utilisation intravitréenne [1]. C'est la fraction Fab (il n'a pas la fraction FC) d'un anticorps monoclonal humanisé, donc normalement pas d'action pro-inflammatoire. Il bloque le VEGF A. C'est une molécule de 48 kg Dalton, produite par des cultures d'Escherichia Coli, avec une technique d'ADN recombinant. La purification des molécules d'anti-VEGF est extrêmement minutieuse pour éviter tout fragment bactérien. Le ranibizumab a une très bonne tolérance grâce à son élimination systémique rapide.

Nous l'utilisons depuis près de 20 ans avec une bonne efficacité. Certains patients résistent cependant et requièrent des injections mensuelles prolongées. C'est pourquoi d'autres molécules au temps d'action supérieur ont été recherchées.

Le brolucizumab est un fragment d'anticorps humanisés d'immunoglobulines [2]. Il est un peu plus complexe que le ranibizumab : c'est la fusion de deux fragments variables de la chaîne légère et de la chaîne lourde d'un anticorps monoclonal reliés entre eux par un peptide de connexion. Il est produit comme le ranibizumab par des cultures d'Escherichia coli selon une technique d'ADN recombinant. Avec un poids moléculaire de 26 kg Dalton, c'est la molécule la plus petite du marché pour inhiber le VEGF A. Grâce à sa grande concentration molaire, son effet est majeur.

Cette molécule a une immunogénicité extrêmement importante. La présence possible dans sa séquence d'un épitope linéaire bactérien reconnu par notre système immunitaire a été évoquée.

>>> Aflibercept et faricimab

La technique d'ADN recombinant a permis la synthèse de protéines artificielles appelées protéines de fusion ou protéines recombinantes chimériques comme l'aflibercept. Ce sont des protéines produites à partir d'anticorps monoclonaux lysés et reconstitués, le fragment Fc d'IgG humaine et les parties Fab fixant un anticorps spécifique. Les deux chaînes d'ADN sont combinées pour produire une seule protéine qui est une chimère des deux protéines originelles.

L'aflibercept est une protéine de fusion avec des portions du récepteur VEGFR 1 fusionné avec une portion Fc d'IgG humaine [3]. Ces faux récepteurs VEGFR 1 se combinent non seulement au VEGF A mais aussi au PlGF (*placental growth factor* ou facteur de croissance placentaire) avec une plus grande affinité que les récepteurs naturels. L'aflibercept est obtenu à partir de cultures de cellules d'ovaires de hamsters chinois transgéniques (***fig. 3***).

Le PlGF appartient aussi à la famille des VEGF. Parmi ses fonctions, il permet la

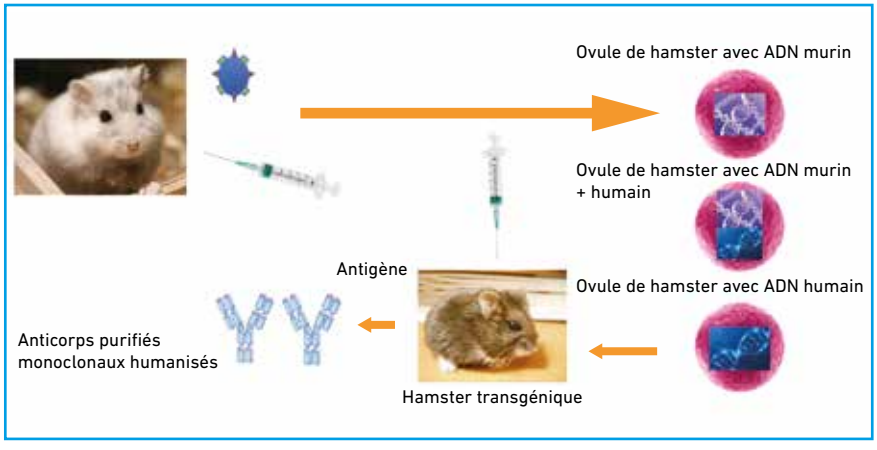

Fig. 3 : Production d'anticorps humanisés.

POINTS **FORTS**

- Les anti-VEGF sont des médicaments biotechnologiques produits par des cultures cellulaires dans des bioréacteurs.
- Ces cultures sont sensibles aux modifications de milieu. Chaque lot a de mini-différences de structure des molécules produites.
- Il y a des anticorps antidrogues avec tous les produits injectés.
- Les biosimilaires font l'objet sur une étude d'1 à 2 mois sur une maladie (DMLA) et sont validés pour toutes les maladies.
- À ce jour, il n'y a pas d'étude publiée sur les biosimilaires avec un régime en "*treat and extend*", ni sur une durée supérieure à 1 an.

survie des cellules endothéliales, a un effet chimiotactique sur les monocytes, et intervient ainsi dans les processus d'angiogenèse. Son inhibition peut potentialiser les effets anti-VEGF A.

L'aflibercept est donc un faux récepteur à VEGF (*VEGF-trap*) qui inhibe son action. Cet effet de blocage est différent de l'action du faricimab qui bloque aussi deux molécules, mais par une action antigénique directe.

La concentration à 8 mg de l'aflibercept a reçu un avis favorable de l'EMA le 10 novembre 2023. La quantité injectée sera de 0,07 mL au lieu de 0,05 mL pour la concentration à 2 mg. La concentration de cette nouvelle formule est 4 fois supérieure à celle de l'aflibercept 2 mg. Il faudra plus de temps pour arriver à la concentration minimale efficace, permettant une rémanence et une efficacité du produit plus longues. Le seul problème que l'on pourrait rencontrer serait une augmentation de la réponse immunitaire face à cette nouvelle concentration. Cet effet n'a pas été observé dans les études.

Le faricimab est un anticorps humanisé avec un poids de 150 kg Dalton. Il est produit avec une technique d'ADN recombinant dans des cellules d'ovaires de hamsters chinois, comme l'aflibercept [4]. Sa particularité est d'être bispécifique, c'est-à-dire que les deux sites d'union aux antigènes ont des spécificités différentes : un bras du Y bloque le VEGF A et l'autre, l'angiopoïétine 2. Ce faisant, le faricimab diminue la perte des péricytes, la perméabilité vasculaire et l'inflammation locale. De plus, il permet à l'angiopoïétine 1 d'occuper le récepteur, stabilisant ainsi la paroi vasculaire. La partie Fc est modifiée pour diminuer l'immunogénicité de la molécule. Malgré cela, une petite réaction immunitaire peut être observée.

Les études de recherche de molécules ADA montrent que l'immunogénicité du faricimab est semblable à celle du ranibizumab, un peu supérieure à celle de l'aflibercept mais bien inférieure à celle du brolucizumab. Sa tolérance cardiovasculaire est semblable à celle des autres molécules.

Les biosimilaires

1. Problématique

Les biosimilaires ne sont pas des génériques. Ils sont similaires, mais pas identiques (***fig. 4***). Les médicaments comme les anti-VEGF étant produits par des organismes vivants, il suffit d'un changement de conditions de culture pour que le résultat final soit différent. Les autorités sanitaires en attendent une structure et une efficacité similaires. Des biosimilaires sont utilisés dans des spécialités comme la rhumatologie ou l'endocrinologie. Leur utilisation extensive en intraoculaire est encore à l'étude. Mais les biosimilaires arrivent. Il faut donc apprendre à les maîtriser.

2. Réglementation

Pour les agences de santé, les compagnies doivent prouver que la différence entre le produit original et le biosimilaire est très légère. Pour la FDA américaine, les différences doivent être dans des parties inactives de la molécule, la partie active n'étant pas prise en compte. Pour l'agence européenne du médicament (EMA), la partie active doit avoir des différences minimes, mais il n'est pas fait mention de la zone inactive. Dans les deux cas, l'important est que l'efficacité et la tolérance des molécules soient semblables. Il y a également une différence d'exigence pour valider les molécules princeps et les biosimilaires.

Cultures cellulaires semblables, mais pas identiques

Fig. 4 : Biosimilaire.

Revues générales

Pour le produit princeps, la compagnie doit prouver que la molécule est produite dans un endroit propre. Après les études cliniques (phases I et II), montrant une absence de toxicité et une bonne tolérance, deux études de phase III doivent être conduites pour chaque pathologie (DMLA, diabète, occlusion veineuse rétinienne, myopie…) montrant à la fois l'efficacité et l'innocuité du produit comparé à un traitement de référence lorsqu'il existe. C'est le principal coût du développement de ces produits.

Pour le biosimilaire, il faut aussi prouver que le produit est fabriqué correctement, dans des bonnes conditions d'hygiène et que les différences structurelles sont minimes avec le princeps. Mais les autorités sanitaires se contentent d'une seule étude clinique pour prouver une efficacité et une tolérance semblables à celle du produit de référence. Pire, cette étude est menée seulement pendant 1 à 2 mois et sur une seule pathologie.

En l'occurrence, les autorités sanitaires ont choisi la DMLA, partant du principe que si un produit est efficace sur cette pathologie, il le sera aussi pour le diabète, les occlusions veineuses, les myopes, les uvéites… L'objectif primaire est à 8 semaines, car l'essentiel du gain d'acuité visuelle se fait dans ce délai. Au-delà, une petite augmentation est possible, mais elle est minime. On observe une sorte de plateau lorsque le traitement est bien conduit (***fig. 5 et 6***). L'hypothèse de départ est que, lorsque le traitement est efficace sur l'acuité visuelle et l'épaisseur maculaire centrale au bout d'1 ou 2 mois, les courbes devraient continuer à se superposer à long terme.

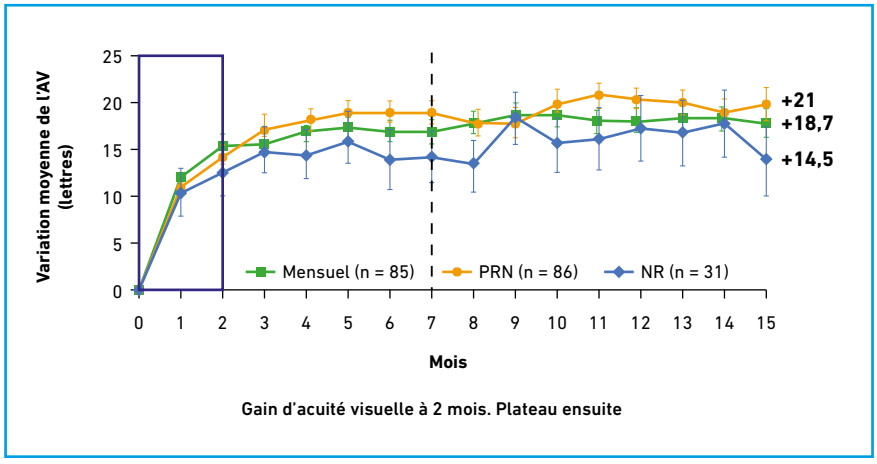

Fig. 5 : Gain moyen d'acuité visuelle en fonction du temps.

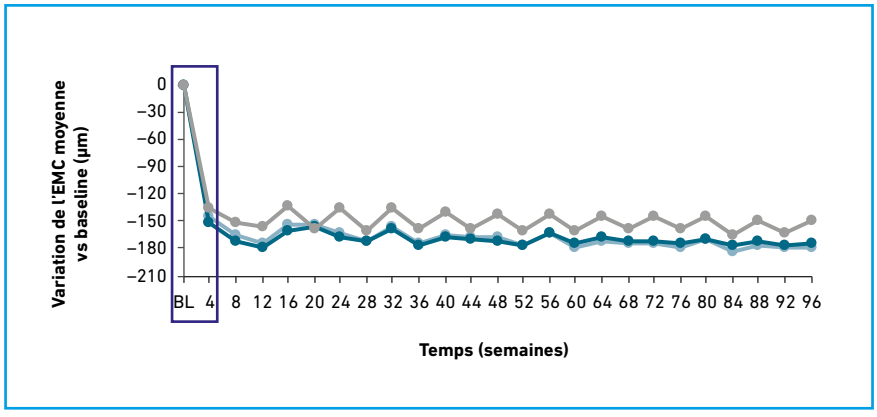

Fig. 6 : Vitesse de diminution de l'épaisseur maculaire centrale.

La FDA a donc choisi le gain d'acuité visuelle à 8 semaines et demande une différence de gain inférieure à 3 lettres entre les deux groupes. L'EMA a choisi comme critère de référence la diminution de l'épaisseur maculaire centrale à 4 semaines sur l'OCT pour la DMLA.

Si le produit est accepté par les deux systèmes, cela nous donne deux critères d'efficacité, sur l'acuité visuelle et sur l'épaisseur maculaire centrale.

D'où d'énormes économies en termes de développement et probablement une possibilité de tarif moindre. L'emploi de biosimilaire permettrait de traiter la population à moindre coût pour les systèmes d'assurance sociale. On peut se dire que les agences gouvernementales font bien leur travail, et qu'à la fin, l'efficacité et la tolérance seront semblables.

3. Tous les biosimilaires sont-ils équivalents ?

Comparons deux publications sur des biosimilaires suivis sur 1 an.

>>> Biosimilaire SB11 (États-Unis)

L'étude présentée par S. Bressler et SJ Woo [5, 6] a inclus 700 patients DMLA ayant reçu pendant 1 an des injections mensuelles soit de SB11, soit de ranibizumab. La différence à 2 mois est inférieure à 1 lettre : gain de 6,2 *versus* 7 lettres. Le gain moyen étant équivalent entre les deux groupes, le produit a été validé par la FDA. L'épaisseur centrale maculaire montrait une amélioration avec 8 µm de différence à 4 semaines, ouvrant à une validation de l'EMA.

Le suivi montre une efficacité semblable entre les deux groupes à 52 semaines : gain de 9,7 lettres avec SB11 et de 10,4 lettres avec ranibizumab ; épaisseur maculaire centrale –128,4 µm avec

SB11 et –133,6 µm avec ranibizumab. La tolérance est bonne. Les auteurs demandaient de la confirmer par une surveillance en vie réelle. L'étude d'immunogénicité n'a pas trouvé de différence entre les deux groupes.

>>> Biosimilaire FYB201 (Europe)

La partie active de ce biosimilaire est semblable à celle du ranibizumab. L'étude présentée par FG. Holz [7, 8] a inclus 477 patients DMLA, placés sous FYB201 (n = 238) ou sous ranibizumab (n = 239). Le gain moyen d'acuité visuelle est équivalent entre les deux groupes à 8 semaines. La différence est inférieure à 3 lettres : + 5,1 lettres pour ce biosimilaire *versus* +5,6 lettres pour ranibizumab. En termes d'efficacité anatomique, il y a une réduction de 203,9 µm (FYB201) et de 205,5 µm à 24 semaines (ranibizumab). Le produit a donc été validé par l'EMA.

L'étude a été prolongée pendant 48 semaines, avec des injections mensuelles. Les courbes d'acuité visuelle et d'épaisseur rétinienne des deux groupes restent parallèles. Étant donné qu'il s'agit de biosimilaires, les études d'efficacité et de tolérance n'ont pas besoin d'être conduites à nouveau, selon l'EMA.

4. Choix des biosimilaires

Restent des questions : pourquoi et comment choisir des biosimilaires ?

Parce que c'est encouragé (rémunéré) ou imposé par la Sécurité sociale ? Les études sont faites avec des injections mensuelles strictes : quelle est l'efficacité en cas de changement de rythme d'injection, en "*treat and extend*", comme nous en avons l'habitude ? Que se passe-t-il au-delà d'1 an ? Puisque les études sont faites sur 1 an d'injections mensuelles, pourquoi les autorités sanitaires nous rémunèrent-elles sur la base de 4 injections annuelles ? Peut-on exiger tel ou tel biosimilaire du pharmacien ou celui-ci aura-t-il le droit de "substituer" ? Peut-on changer de marque de biosimilaire sans risquer un "réveil immunitaire", puisqu'on expose le système immunitaire du patient à des variations de la même molécule, potentiellement immunogène ?

Connaître le mode de production de ces traitements nous permettra d'être plus exigeants sur le niveau de preuve avant de nous laisser convaincre par les sirènes des autorités sanitaires.

BIBLIOGRAPHIE

1. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lucentis
2. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/beovu
3. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/eylea
4. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vabysmo
5. Bressler N, Veith M, Hamouz J *et al.* Biosimilar SB11 *versus* reference ranibizumab in Neovascular age-related macular degeneration: 1-year phase III randomised clinical trial outcomes. *Br J Ophthalmol*, 2023;107:384-391.
6. Woo SJ, Veith M, Hamouz J *et al.* Efficacy and safety of a proposed Ranibizumab Biosimilar product vs a reference Ranibizumab product for patients with Neovascular age-related macular degeneration: A randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*, 2021;139:68-76.
7. www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/ranivisio
8. Holz F, Oleksy P, Ricci F *et al. COLUMBUS-AMD Study Group*. Efficacy and Safety of Biosimilar FYB201 Compared with Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*, 2022; 129:54-63.

L'auteure a déclaré ne pas avoir de liens d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.