



Biyoteknolojik İlaçlarda Preklinik Çalışmalar

Prof. Dr. Alper B. İskit

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
alperi@hacettepe.edu.tr

04.11. 2017, İzmir



June 2016
EMA/CHMP/SMP/723266/2016
Committee for medicinal products for human use (CHMP)

ICH guideline S6 (R1) – preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals
Step 5

Part I (Parent guideline)	
Transmission to CHMP	November 1996
Release for consultation	November 1996
Deadline for comments	May 1997
Final approval by CHMP	September 1997
Date for coming into operation	March 1998
Part II (Addendum)	
Transmission to CHMP	November 2009
Release for consultation	November 2009
Deadline for comments	February 2010
Final approval by CHMP	July 2011
Date for coming into operation	December 2011

Konvansiyonel kimyasal ilaçlardan farklı çalışmalar

Guidance for Industry
S6 Preclinical Safety Evaluation of
Biotechnology-Derived
Pharmaceuticals



U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)
July 1997
ICH

Guidance for Industry

S6 Addendum to
Preclinical Safety Evaluation
of Biotechnology-Derived
Pharmaceuticals

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)
May 2011
ICH

Beş alt başlık...

- Hayvan türü seçimi
- Çalışma tasarımı
- İmmünojenisite
- Üreme ve gelişimsel toksikoloji
- Karsinojenisite

İki alt başlık...

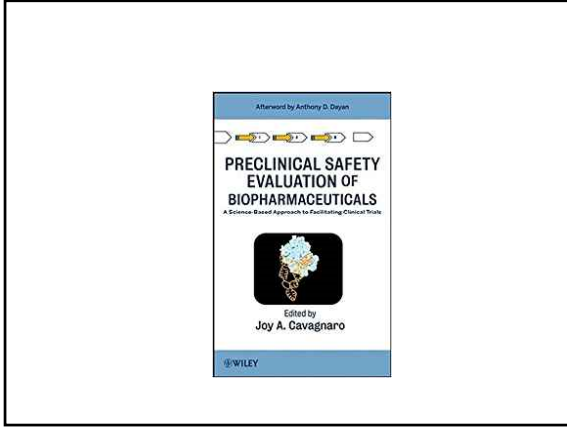
- Uygun hayvan türü seçimi
- İmmünojenisite

Rutin preklinik testler (FK/FD, Toksikite...)

Dosya bazında değerlendirme

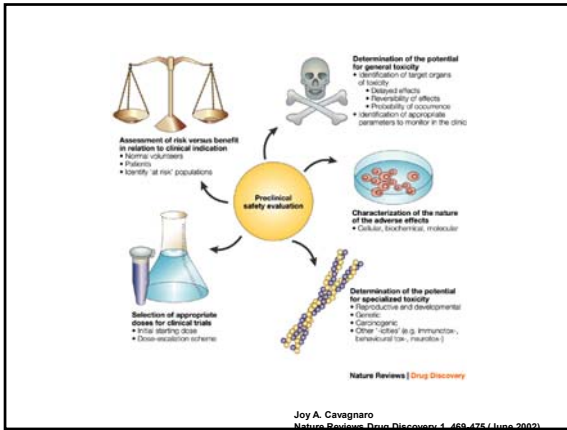
EMA yaklaşımı...

ICH kılavuzu, tüm ürünler için tek bir kuralın bu alanda uygulanamayacağı esasına dayanmaktadır



Prelinik alışmaların amacı...

- Üreme ve gelişme üzerine etki
- Genotoksisite
- Karsinojenisite
- Lokal tolerans testleri



Advantages

- Increased prediction of:
 - Duration
 - Toxicity values for patient populations
- Direct estimation of therapeutic index
- Identification of potential biomarkers for clinical trials
- Potential for increased sensitivity
- Reduced time/resources to evaluate safety or efficacy in humans
- More efficient clinical protocols

Disadvantages

- Limited sensitivity
- Might only reveal one aspect of a disease
- Animals might be too sick to distinguish compound-related toxicity from disease effects
- Minimal treatment may not generate health and/or spontaneous disease pathology
- Increased sensitivity might not be relevant
- Models might not be available in time for development plan
- Minimal impact on animal welfare
 - 100% humane
 - Do not require analgesia
 - Too few animals

Joy A. Cavagnaro
Nature Reviews | Drug Discovery 4, 469-475 (June 2005)

Prelinik alışmaların amacı...

- Klinik alışma için insanda güvenli, etkin başlangıç dozu
- Toksikiteye maruz kalabilecek organlar, varsa toksisitenin geri dönüşü mü?
- Klinikte monitorizasyon için güvenlik parametreleri

"In vitro değerlendirmelerinin ardından in vivo alışmalar"

EMA/CHMP/BMWP/42832/2005

1. Hücre kültürü

Biyolojik karakterizasyon/aktivasyon çalışmaları (in vitro alışmalar)

Reseptör bağlanma çalışmaları (afinite),
Hücre siklusu,
Hücre içi yollarının inhibisyonu,
DNA tamir mekanizmaları, apoptozis,
Damarlanmanın durumu, hücre göçü,
Tümör hücresi öldürme...

2. Farmakoloji çalışmaları için deney hayvanı tür seçimi

İki farklı tür, "rodent" ve "non-rodent"

Ürünün reseptör/epitop dağılımı

Farmakodinami çalışmaları

Farmakodinami hasta veya normal organizmalar üzerinde ilaçların etkisinin araştırılmasıdır

İlacın etki gücü ve canlı organizma üzerindeki diğer etkiler (*in vivo* ve *in vitro* çalışmalar)

etki mekanizması,
reseptör-ilaç ilişkisi,
doz-etki ilişkisi,
ilacın etkisini değiştiren faktörler

Reseptör / Epitop Dağılımı

(Cevapsız hayvan)

Epitop, antijenin özgüllüğünü belirleyen ve antijenin kendi özgül antikoları ile birleşmesini sağlayan kimyasal gruplardır (determinant)

Reseptör veya epitop ekspresyonu yoksa hayvan türü uygunsuzdur (monoklonal antikolar vb, primatlar)

Transjenik hayvanlar (ekspresyon yapan)

Farmakodinami çalışmaları

1. Hücre kültüründe çalışmalar

bağlanma, antijen-antikor bağlanması vb

2. *In vivo* yöntemler ile etkinin gösterilmesi

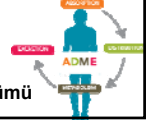
ilaç etkileşimleri

Farmakokinetik çalışmalar

ADME verileri, maksimum doz tespiti,

Klerens, yarılanma ömrü...

RIA, işaretlenmiş proteinlerin dokuda ölçümü



rHu	Rodent	Primate	Human
IL-1	+	+	+
IL-2	+	+	+
IL-3	+/-	+	+
IL-4	-	+	+
IL-5	+/-	+	+
IL-6	+	+	+
IL-7	+	+	+
IL-8	+	+	+
IL-9	-	+	+
IFN-g, β	-	[+]	+
TNF	+	+	+
G-CSF	+	+	+
GM-CSF	+/-	+	+
EPO	+	+	+
TPA	+	+	+

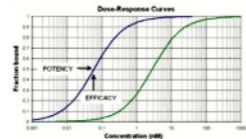
İnsan olmayan primat tercihi: *Macaca Fascicularis-Cynomolgus* maymunları
Macaca Mulatta-Rhesus maymunları

Modified from Hayes, T.J., 1990;
Green JD, biogen idec, ODAC 2006

FD/FK çalışmaları sonucunda uygulama yolu ve doz seçimi

- Uygulama yolu ve sıklığı
- Biyoyararlanım (Farmakokinetik)
- Doz seçimi
- Doz-cevap ilişkisi
- Maksimum doz, toksik doz

Klinik çalışmaya ön bilgi



3. Farmakolojik Güvenlilik, Toksikoloji (Safety Pharmacology)

Kontaminasyon ve safsızlıklar ?

FD/FK bulgular kullanılarak çalışma başlatılır
Tek doz (14 gün takip, yüksek doz),
Tekrarlı (çoklu) doz (40 hafta takip)

Subkronik ve kronik değerlendirme:

Hasarın geçici/kalıcı olması,
İlacın dozu-maruziyet süresi,
Toksistide hedef organlar

Nelere dikkat edilir...

1. Klinik gözlem, davranış
Toksosite semptom ve belirtileri
2. Vucud ağırlığı ve değişimler
3. Beslenme ve su tüketimi
4. Klinik patoloji
Serum enzim, elektrolit, glukoz ve lipid profilleri
(organ hasarı belirteçleri)
Hematolojik inceleme
İdrar analizi

Güvenlilik çalışmaları için deney hayvanı tür seçimi

İki farklı tür

Eğer ürünün biyolojik aktivitesi çok iyi biliniyorsa
tek tür

Bazen kısa dönem toksisite için iki, uzun dönem
için tek tür

Birçok ürün tür ve/veya dokuya özgündür
Standart toksisite testleri bazen işe yaramayabilir
Cevapsızlıkta KVS/ Solunum fonksiyonları değerlendirilir

Nelere dikkat edilir...

5. Farmakokinetik / Toksikokinetik
Doza ve uygulama şekline bağımlı mı?
6. Patoloji

Güvenlilik çalışmaları için deney hayvanı tür seçimi

Farmakokinetik (FK), Farmakodinamik (FD) ve/veya
güvenlik çalışmaları

Hayvan çalışmaları 3R (replacement, refinement,
reduction) kuralı göz önünde bulundurularak
tasarlanmalıdır

4. İmmunotoksosite

- İmmunoreaktivite
- Aşırı farmakodinamik yanıt
- Antikor oluşumu (normal dokuya ?)
- İmmun kompleks oluşumu
- Kobay (guinea pig) kullanılabilir
- ELISA ile antikor ölçümü vb

Öncelikle olası anafilaksi riski için...

(Monoklonal antikorlar ve sitokinler için öncelikli...)

5. Reprodüktif ve gelişimsel toksisite çalışmaları

- Embryotoksosite
- Peri-postnatal toksisite (gebelik ?)
- Fertilite
- Genel üreme performansı

8. Lokal Tolerans çalışmaları

- Lokal uygulamaya bağlı olası toksisite
- Enjeksiyon yeri irritasyonu ?

6. Genotoksisite çalışmaları (DNA ?)

- Proteinlerin DNA ile etkileşmesi zor
- Mutajenik etki ?
- Mutajenlerin birikimi kanser sebebi
- Yüksek dozda peptit, protein uygulama DNA hasarına neden olabilir
- Ames...Micronucleus testi

Uyarı...

Hayvan çalışmaları klinikte neler olabileceğinin en iyi tahmin yöntemleridir

- Hiçbir hayvan modeli insanda gözlenen ilaç yanıtına %100 uymaz
- Hayvan çalışmaları bazan güvenilirlik konusunda aldatıcı olabilir
- Bu modeller mekanizmaların ve olası toksisitelerin incelenmesi açısından faydalıdır

7. Karsinojenisite

Büyüme faktörleri ve immunsupresifler

Yüksek dozlar kullanılır

In vitro veya *in vivo* modellerde çalışma, gözlem, ilaç grup bilgisi...

Uyarı...

Hayvan çalışmaları klinikte neler olabileceğinin en iyi tahmin yöntemleridir

- Çalışmalar sağlam hayvanlarda yapılmakta, ilaçlar hasta insana verilmekte

