
praktyczne informacje przydatne w ordynacji biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych

Autor: dr n. farm. Leszek Borkowski.

Pracę zatwierdził Komitet Terapeutyczny Szpitala Wolskiego w składzie:
dr n. farm. Leszek Borkowski, dr Arkadiusz Ciupak, dr Jacek Dudzik,
dr n. med. Marcin Geremek, mgr piel. Beata Goszczyńska-Tatarczuk,
dr Paulina Kostecka, dr n. med. Arleta Kuczyńska-Zardzewiały,
dr n. med. Andrzej Marciniak, dr Joanna Mikulska,
mgr farm. Janusz Mioduszewski, dr Agnieszka Rytel-Rylska,
mgr piel. Jadwiga Saganowska, dr Mariusz Saganowski,
dr hab. n. med. Marek Stańczyk, dr Anna Stefanowska,
dr n. med. Dariusz Wojciechowski, dr David Zira.

Akceptacja merytoryczna:

Dyrektor ds. Lecznictwa dr Arkadiusz Ciupak.

Zgoda wydawnicza:

Dyrektor Naczelny Szpitala Wolskiego mgr n. praw. Robert Mazur.

Materiał ma charakter wewnętrzny
i został dostosowany do potrzeb fachowego personelu Szpitala Wolskiego
im. dr Anny Gostyńskiej w Warszawie, ul Kasprzaka 17.
Przygotowano go w celu zwiększenia bezpieczeństwa leczenia
Pacjentów.

Warszawa 2018

Nr ISBN 978-83-950851-5-4

Celem niniejszego opracowania jest podręczna informacja na podstawie danych pozyskanych z charakterystyk produktów leczniczych, raportów oceniających EPAR w części jawnej, komunikatów EMA (w tym komunikatów PRAC, CMDh, CHMP), publikacji naukowych oraz rekomendacji organów kompetentnych i ciał kolegialnych.

PODZIĘKOWANIA

Znakomitym firmom farmaceutycznym – Amgen, Mylan, Roche, Sandoz – bardzo dziękuję za przekazanie zdjęć ilustrujących opisywane zjawiska. Dziękuję także sympatycznym pracownikom wymienionych firm za czas poświęcony na rozmowy konsultacyjne.

SPIS TREŚCI

1. Biologiczne leki	5
1.1. Wstęp	5
1.2. Biomarkery i ich podział.....	6
1.3. Szlaki sygnałowe	8
1.4. Biologiczne leki dopuszczone do obrotu na polskim rynku.....	11
1.5. Proces otrzymywania biologicznych leków (wersja uproszczona dla pacjenta oraz wersja wykładowa)	12
1.6. Badania analityczne	14
1.7. Porównywalność a podobieństwo.....	16
1.8. Produkty biolepsze	17
1.9. Dopuszczenie do obrotu biologicznych produktów leczniczych	18
2. Przeciwciała mono- i poliklonalne stosowane w terapii jako produkty lecznicze	20
2.1. Wstęp	20
2.2. Immunoglobuliny – naturalne przeciwciała	20
2.3. Budowa przeciwciał	23
2.4. Skrócona historia przeciwciał.....	25
2.5. Chimeryzacja i humanizacja przeciwciał	25
2.6. Przykładowe zastosowanie przeciwciał w lecznictwie	26
2.7. Wymagania farmakologiczne	28
2.8. Ryzyko terapii przeciwciałami	29
2.9. Nomenklatura przeciwciał terapeutycznych.....	30
2.10. Zasady terapii przeciwciałami.....	30
2.11. Równoległe stosowanie dwóch przeciwciał	32
2.12. Biokoniugaty i ich przykłady terapeutyczne.....	33
2.13. Premedykacja w przypadku podawania przeciwciał	35
3. Biologiczne leki biopodobne /bionastępcze/	37
3.1. Wpływ na bezpieczeństwo pacjenta – specyfika wytwarzania biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych	37
3.2. Zmiany procesu wytwarzania dotyczące wszystkich leków biologicznych referencyjnych i biopodobnych	37

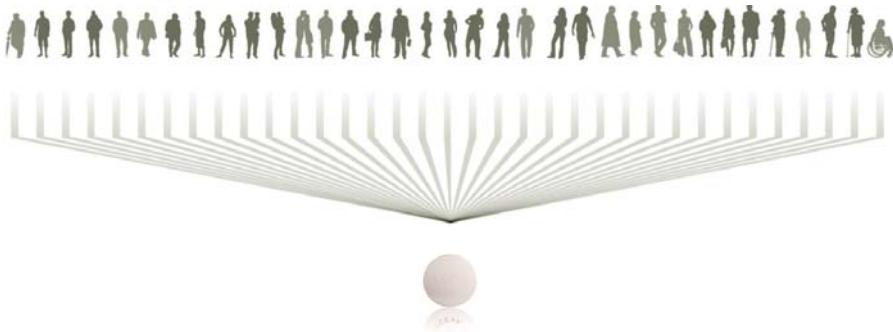
3.3. Czystość biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych	41
3.4. Immunogenność biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych	41
3.5. Potencjalne zagrożenia dla pacjenta przyjmującego biologiczny lek biopodobny wynikające z produkcji w organizmie chorego przeciwciał przeciwko lekowi /ang. ADA/	43
3.6. Porównanie dwóch przeciwciał monoklonalnych oraz jednego białka fuzyjnego, będących inhibitorami TNF alfa.....	47
3.7. Epoetyny biopodobne	50
3.8. Filgrastym biopodobny /88/.....	50
3.9. Ekstrapolacja wskazań w procesie rejestracji biologicznych leków biopodobnych	51
3.10. Bezpieczeństwo substytucji biologicznych leków	53
3.11. Administracja służby zdrowia poprzez Politykę Lekową Państwa Polskiego na lata 2018-2022 wspierająca leki biopodobne dopuszczone do obrotu	57
4. Piśmiennictwo.....	59

1. Biologiczne leki

1.1. WSTĘP

Dynamika wzrostu liczby pacjentów, będąca paradoksalnie efektem postępów medycyny, wymusza poszukiwanie nowych produktów leczniczych o coraz lepiej poznawanych mechanizmach działania. Dawniej uzyskanie pozytywnego efektu terapeutycznego było wystarczającą odpowiedzią dla badaczy, dzisiaj jednak coraz częściej mówimy o możliwości pełniejszego wykorzystywania leków dzięki poznaniu ich mechanizmów działania wraz ujawnianiu mechanizmów powstawania chorób.

Leczenie tradycyjne, to jest leczenie standardowe, polega na tym, że pacjenci z identycznym zespołem chorobowym są identycznie leczeni.



Leczenie personalizowane, to jest leczenie dostosowane do konkretnego pacjenta, polega na podawaniu właściwego leku właściwemu choremu we właściwym czasie. I tą drogą medycyny personalizowanej / ang. *personalized medicine*/ staramy się podążać.



Leczenie celowane, to jest leczenie przy zdefiniowanym celu ataku terapeutycznego, stanowi przyszłość leczenia wielu schorzeń. W komórce musimy znaleźć cel molekularnego ataku, którym jest białko powstałe na matrycy nieprawidłowego genu. Powodzenie tej terapii zależy od oceny genetycznej pacjenta.

Posłużmy się przykładami.

Mamy geny wpływające na ryzyko zachorowania i przebieg choroby w

raku piersi – zaliczamy do nich m.in. geny BRCA1, BRCA2, TP53, PALB2, CHEK2, REQL.

Rak piersi i rak jajnika spowodowane mutacjami w genie BRCA1 i BRCA2 charakteryzują się tym, iż są bardzo trudne do wczesnego wykrycia, to zaś warunkuje sukces terapeutyczny. Dlatego też kobietom, u których ma miejsce mutacja tych genów, proponuje się prewencyjne usunięcie jajnika, jajowodów oraz piersi.

Rak piersi z mutacją w genie TP53 to nowotwór występujący u kobiet w bardzo młodym wieku. Ta grupa powinna unikać ekspozycji na promieniowanie RTG, ponieważ promieniowanie to inicjuje u nich raka piersi.

Z kolei rak piersi z mutacją w genie PALB2 jest wyjątkowo złośliwy i aby z nim walczyć, musimy go wykryć przed osiągnięciem przez guzka wielkości 2 cm.

W praktyce istotne jest łączenie leczenia celowanego z personalizacją działań terapeutycznych.

Przykładem takiego podejścia może być leczenie nawrotu raka piersi HER2 dodatniego, kiedy konieczne jest ponowne oznaczanie statusu białka HER2 przy wznowie raka piersi. Należy tak postępować, ponieważ komórki nowotworowe po pewnym czasie mogą stracić ten receptor, ale także go zyskać. Ta informacja personalna przypisana do konkretnego pacjenta pozwala w przypadku utrzymującej się nadekspresji receptorów HER2 lub amplifikacji genu HER2 ponownie podać np. trastuzumab, pertuzumab.

1.2. BIOMARKERY I ICH PODZIAŁ

Dzisiaj rozumiemy, że czynniki genetyczne warunkują efekty wielu terapii. Komórki organizmu człowieka produkują od 30 000 do 120 000 rodzajów białek. Większość z nich to białka konstytutywne, występujące w ponad 10 000 kopii w różnych typach komórek, ale każda z nich zawiera też od kilkudziesięciu do kilkuset rodzajów białek swoistych dla danego rodzaju komórek lub tkanek /1/. Te białka, których stan odzwierciedla ryzyko, występowanie lub stopień zaawansowania choroby oraz efekty terapii, nazywamy **biomarkerami**, inaczej znacznikami /2/.

Optymalne stosowanie leku biologicznego wiąże się z równoczesnym badaniem u pacjenta poziomu biomarkerów diagnostycznych. Uprzednio stosowane klasyczne czynniki prognostyczne w celu zróżnicowania postaci nowotworu – jak wielkość guza pierwotnego, typ histologiczny raka, stopień złośliwości oraz stan węzłów chłonnych określany w badaniu mikroskopowym – nie dawały zadowalającej odpowiedzi, jak leczyć pacjenta. Niestety, jesteśmy dopiero na początku tej drogi. Pewna nadzieja pokładana jest w biomarkerach, które bardziej precyzyjnie mogą odpowiedzieć na pytanie, jak najlepiej leczyć chorych.

Oznaczanie biomarkerów, białek będących celem ataku biologicznego leku, wymaga zawsze współpracy z wiarygodnym, profesjonalnym laboratorium, konieczna jest bowiem wysoka ranga laboratorium referencyjnego w celu zapewnienia wyników o zadowalającej wiarygodności.

Stężenia biomarkerów zależą od: masy i stopnia ukrwienia guza, tem-

pa ich uwalniania z komórek nowotworowych, biologicznego półokresu trwania /czasu zanikania/, przy czym stężenia markerów nowotworowych będące w normie nie wykluczają obecności choroby nowotworowej – oznaczamy je dla oceny skuteczności leczenia, wczesnego wykrycia wznowy. W trakcie monitorowania chorych nie obowiązuje w zasadzie pojęcie „normy”, ważna jest kinetyka zmian w górę i w dół.

Warto też podkreślić, że monitorowanie winno być oparte na zestawie jednego producenta – wyniki zależą bowiem od używanej specjalistycznej aparatury, stosowanych odczynników, doświadczenia analityków laboratoryjnych, stosowania zasad dobrej praktyki laboratoryjnej.

Omawiany problem zilustruję przykładami.

Przykład A

Częstość występowania mutacji w genie EGFR pozostaje w zależności od rodzaju materiału diagnostycznego. Dlatego aby po właściwym zinterpretowaniu otrzymanego wyniku rozpocząć prawidłowe leczenie pacjenta, ważne jest ujawnianie metody, nazwy testu oraz jego producenta. W sytuacji gdy mamy do czynienia z 226 chorymi z mutacją w genie EGFR, 123 osoby spośród nich mają delecję w eksonie 19, 98 chorych ma substytucję L858R, a ponadto statystycznie występuje 5 rzadkich mutacji. Oto powód, dla którego z grupy 226 pacjentów tylko około połowa odpowie pozytywnie na zastosowane leczenie.

Przykład B

Zanim zacniemy leczyć pacjenta chorego na raka jelita grubego atakującego okrężnicę i odbytnicę, należy go przebadać na obecność mutacji genów KRAS i NRAS. W trakcie analizy cytomolekularnej obserwujemy eksony 2, 3 i 4 w obu badanych genach. Potwierdzenie występowania u chorych szukanych mutacji w określonych eksonach pozwala na leczenie takich pacjentów standardową chemioterapią z dodatkiem bewacyzumabu, przeciwciała monoklonalnego wykazującego silne działanie antyangiogenne. Tymczasem kohorta pacjentów, u których nie znaleziono mutacji genów KRAS i NRAS, powinna być leczona innymi przeciwciałami monoklonalnymi, zaliczanymi do grupy anty-EGFR, jak np. cetuksymab czy panitumumab.

Od dawna wiadomo, że mutacje w genach KRAS i NRAS są czynnikami predykcyjnymi oporności na leczenie za pomocą przeciwciał monoklonalnych anty-EGFR. Zanim jednak dowiedziono, że leczenie chorych na raka jelita grubego za pomocą przeciwciał anty-EGFR jest skuteczne wyłącznie wówczas, gdy gen KRAS funkcjonuje prawidłowo, wielu pacjentów zmarło. Dalsze badania wykazały, że dobrym czynnikiem prognostycznym dla chorych na raka jelita grubego leczonych produktami leczniczymi z grupy anty-EGFR było występowanie mutacji BRAF, która wyklucza się z mutacją KRAS.

Odkrycia te niosły postęp terapeutyczny także w wielu innych nowotworach, gdzie szlak sygnałowy EGFR jest istotnym elementem w powstawaniu i progresji choroby, w tym w raku piersi, raku płuc, nowotworach głowy i szyi.

Badania czynników predyspozycji dziedzicznych do zachorowania na raka jelita grubego wykazały, że geny oznaczone symbolami MSH2, MLH1, MSH6 i APC mogą powodować u ludzi w wieku ok. 45. roku życia rozwój nowotworu. Stąd zalecenia dla tej grupy zdrowych obywateli do wykonywania wcześniejszych profilaktycznych badań kolonoskopowych. Leczenie chorych na raka jelita grubego daje efekty, gdy gen KRAS funkcjonuje prawidłowo.

Konkludując, należy pamiętać, że czym innym jest obecność genu wpływającego na ryzyko zachorowania, a czym innym mutacja i jej rodzaj w konkretnym, często innym genie, wskazująca na rokowanie i/lub wybór leku stosowanego w zwalczaniu raka /np. nowotwór jelita grubego, rak piersi czy rak płuca/. Na pozytywny efekt leczenia często ma wpływ mechanizm działania zastosowanego leku. Dlatego w celu skutecznego zabezpieczenia pacjentów, np. chorujących na szpiczaka mnogiego, musimy dysponować pełną gamą produktów leczniczych o różnych punktach uchwytu, stosowanych w różnych liniach terapeutycznych.

Leczenie celowane, leczenie personalizowane czy leczenie biologiczne są wyzwaniem rzuconym poważnym chorobom obecnych czasów.

Biomarkery w praktyce dzielimy na:

a/ prognostyczne /3/, czyli pozwalające określić rokowanie niezależne od sposobu leczenia – zaliczamy do nich receptory hormonów, markery angiogenezy, markery proliferacji;

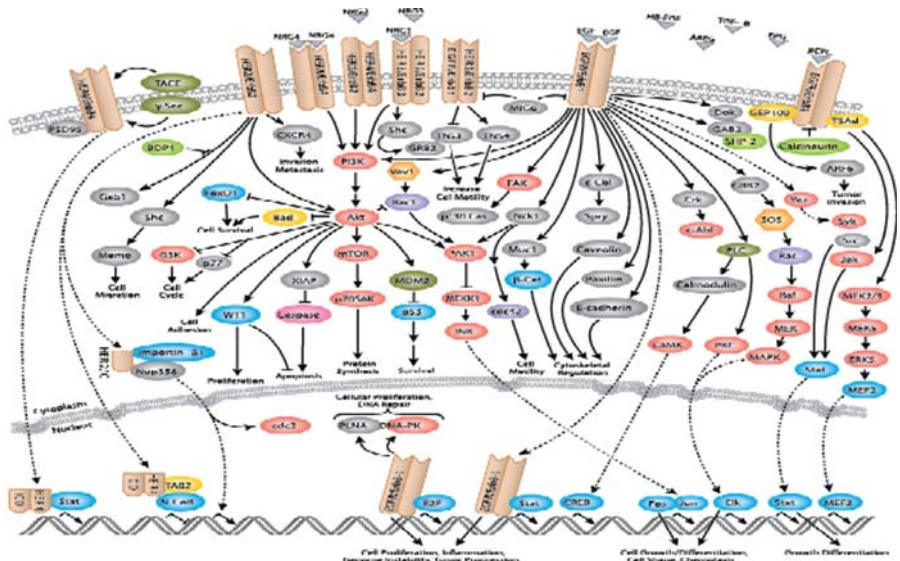
b/ predykcyjne, czyli pozwalające określić prawdopodobieństwo remisji w przypadku zastosowania określonej metody leczenia.

Podstawowym źródłem zmienności wewnątrz naszego gatunku są różnice w obrębie genomu, najczęściej związane z polimorfizmem pojedynczych nukleotydów czy zmienną liczbą kopii genów. Przy czym pojęciem polimorfizmu określa się występowanie większej liczby genotypów w określonej populacji z częstością powyżej 1%, jednak bez cech mutacji. Polimorfizm genetyczny odpowiedzialny za zmienności indywidualnych cech pacjenta jest powodem występowania lub nie działań niepożądanych, różnych ich rodzajów oraz różnego nasilenia.

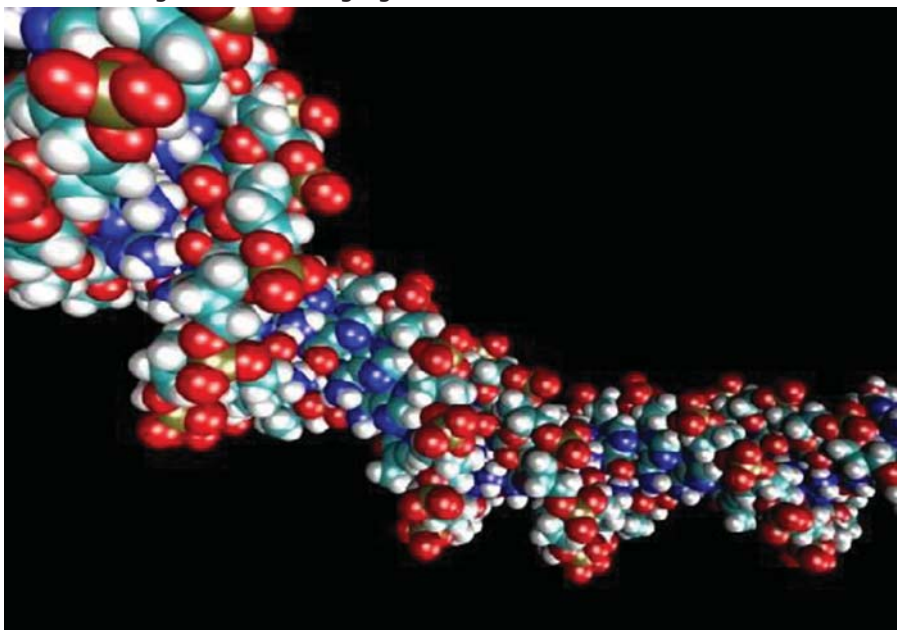
Zakończenie sekwencjonowania ludzkiego DNA rozpoczęło erę poszukiwań związku pomiędzy indywidualnymi różnicami w genomie a odpowiedzią na leki biologiczne. Praktycznie we wszystkich przypadkach nowych leków biologicznych poszukuje się wariantów genów, które mogą dać pozytywną reakcję na terapię.

1.3. SZLAKI SYGNAŁOWE

Szlaki sygnałowe rodzącej się patologii są niestety wielokierunkowe, a ich wykrycie wymaga także określenia ich wagi w rozwoju choroby. Przy takiej wiedzy leczenie celowane przynosi bardzo dobre rezultaty.



Model fragmentu ludzkiego genomu



Jako ludzie mamy geny złe, czyli onkogeny, i geny dobre, tzw. geny supresorowe. Jedni z nas mają aktywne odmiany genu zwiększające ry-

zyko zachorowania, a inni – zmniejszające. Mamy też odmiany genów, które kodują białka bardzo aktywnie rozkładające leki – w takiej sytuacji leczenie pacjenta wymaga większych dawek i personalizacja terapii musi być niezwykle starannie prowadzona. Część genów śpi, a molekularne znaczniki je budzą. Istnieją także teorie impulsów magnetycznych wybudzających geny, stąd np. pacjentom onkologicznym w okresie remisji choroby odradza się w ramach różnych zabiegów prozdrowotnych kontakt z emiterami różnego rodzaju promieniowania. Wtedy bowiem może dojść do ekspresji genów i zainicjowania procesu patologicznego.

Określenie danego zaburzenia genetycznego oraz dobranie właściwego leku ma kluczowe znaczenie dla pacjenta i rezultatów jego walki z chorobą. Niestety, nie ma jednej zbiorczej metody diagnozowania wszelkich typów zaburzeń genetycznych.

Ze złych genów, z genów zmutowanych, powstają złe białka – nośniki złych wiadomości. Zaczyna się choroba – kaskada różnych białek, które trzeba albo blokować, albo tworzyć, albo zwiększać ich stężenie, by leczyć pacjenta. Badania genetyczne pacjentów przed rozpoczęciem terapii pozwalają wyselekcjonować chorych, którzy uzyskają największą korzyść terapeutyczną z zastosowanego leczenia. Dodatkowe badania genetyczne, już po ocenie wyciętego materiału, pozwalają lepiej dobrać lek. Badania cytogenetyczne służą ocenie morfologii chromosomów – wykryciu aberracji.

Badania genetyki molekularnej zaś – wykryciu mutacji, a polegają na badaniu struktury DNA. Niestety, nie zawsze badanie mutacji daje odpowiedź. Także niezmutowane geny wchodzi w fuzje z innymi genami, produkując białka inicjujące rozwój chorób.

Biologiczny lek to produkt, którego substancją czynną jest substancja biologiczna, czyli substancja produkowana lub ekstrahowana ze źródła biologicznego /4/. Leki biologiczne stosujemy wówczas, gdy organizm człowieka sam nie wytwarza niezbędnych białek lub wytwarza je, ale w zbyt małej lub nadmiernej ilości w stosunku do potrzeb.

I tak na przykład, chora trzustka potrzebuje insuliny, której jej brakuje. Do 1982 roku podawano insulinę z trzustek wieprzowych – i pojedynczy pacjent potrzebował rocznie ok. stu takich trzustek... A zatem bez insuliny rekombinowanej dzisiaj na świecie musielibyśmy hodować dwa miliardy świń tylko po to, by zabezpieczyć insulinę dla dwustu milionów pacjentów.

Chore nerki potrzebują erytropoetyny, której brakuje do pobudzenia wytwarzania krwinek czerwonych; rekombinowana erytropoetyna stymuluje erytropoezę /dializowani pacjenci/.

Niedobory ludzkiego czynnika wzrostu wymagają znów podania pacjentom /osoby niskorosłe/ rekombinowanego czynnika wzrostu, somatotropiny.

Endogeny G-CSF, czynnik wzrostu kolonii granulocytów, wytwarzany jest przez komórki hematopoetyczne, takie jak monocyty, makrofagi

i limfocyty, ale także przez aktywowane fibroblasty, komórki śródbłonna, astrocyty i komórki zrębu szpiku kostnego /5/. Pacjenci otrzymujący chemioterapię, zagrożeni ciężkim lub nawracającym zakażeniem, z przeszczepem komórek progenitorowych krwi obwodowej bądź nosiciele wirusa HIV cierpią na gorączkę neutropeniczną. W celu skrócenia trwania neutropenii zagrażającej życiu tych chorych niezbędne jest podanie filgrastymu G-CSF, czyli egzogenego czynnika wzrostu kolonii granulocytów. Filgrastym stymuluje neuropoetyczne komórki progenitorowe i proces ich różnicowania na granulocyty oraz aktywuje funkcjonalnie dojrzałe granulocyty. Zastosowanie progenitorowych komórek krwi obwodowej zmobilizowanych filgrastymem zmniejsza czas i nasilenie trombocytopenii po chemioterapii mielosupresyjnej lub mieloablacyjnej.

Przy zapaleniu wirusowym wątroby podjemy interferony – białka rekombinowane ratujące życie pacjentom.

W stwardnieniu rozsianym także stosujemy interferony beta, ale do dnia dzisiejszego nie wiemy dokładnie, dlaczego przynoszą one korzyść pacjentom. Te białka, otrzymywane na drodze rekombinacji DNA, stosowane są w tzw. pierwszej linii w systemie terapii ciągłej.

Inne choroby autoimmunologiczne, jak np. RZS, łuszczycowe zapalenie stawów, choroba Leśniowskiego-Crona, są zabezpieczane przez leki biologiczne z grupy przeciwciał i białek fuzyjnych.

1.4. BIOLOGICZNE LEKI DOPUSZCZONE DO OBROTU NA POLSKIM RYNKU

Wśród biologicznych leków dopuszczonych do obrotu na polskim rynku wyróżniamy:

- a) białka pochodzenia zwierzęcego, np. końska surowica odpornościowa, trombina bydlęca,
- b/ szczepionki,
- c/ albuminy ludzkie,
- d/ ATMP – terapie genowe,
- e) białka otrzymywane na drodze rekombinacji DNA lub innych technik biotechnologicznych:
 - rekombinowana hialuronidaza ludzka – 1 lek
 - rekombinowane insuliny – 86 leków
 - analog ludzkiego glukagonopodobnego peptydu GLP-1 – 2 leki
 - glukagon – 2 leki
 - szczepionki, w tym oparte na rekombinowanym białku – 30 leków
 - rekombinowane czynniki hormonu wzrostu – 6 leków
 - rekombinowany czynnik krzepnięcia krwi:
 - klasa A – ludzki czynnik krzepnięcia krwi izolowany z osocza ludzkiego, otrzymany na drodze izolacji materiału biologicznego – 1 lek;
 - klasa B – leki biologiczne, ludzki czynnik krzepnięcia krwi otrzymany na drodze rekombinacji DNA – 54 leki
 - filgrastym wolny i pegylowany – 11 leków

- interferony wolne i pegylowane – 14 leków
- leki w chorobach rzadkich (rekombinowane enzymy) – 56 leków
- erytropoetyna wolna i pegylowana – 3 leki
- białka fuzyjne (np. IgG1 + peptyd) – 5 leków
- heparyny drobnocząsteczkowe – 5 leków
- inne białka rekombinowane (np. abcyksymab) – 7 leków
- przeciwciała monoklonalne jedno- i wielofunkcyjne oraz poliklonalne – 44 leki.

W sumie do obrotu w Polsce dopuszczono ok. 430 leków biologicznych.

Do leków biologicznych zaliczamy produkty lecznicze otrzymywane w technologiach standardowych i zaawansowanych. I tak, technologie zaawansowane pozwoliły nam otrzymać m.in. hormony, cytokiny, komórki macierzyste, komórki autologiczne, allogeniczne, ksenogeniczne, szczepionki DNA, wektory wirusowe i syntetyczne konstrukty, liposomy, dendrymery, geny terapeutyczne, chimeryczne białka fuzyjne, przeciwciała monoklonalne, białka rekombinowane.

1.5. PROCES OTRZYMYWANIA BIOLOGICZNYCH LEKÓW (WERSJA UPROSZCZONA DLA PACJENTA ORAZ WERSJA WYKŁADOWA)

Biotechnologia to termin zaproponowany po raz pierwszy przez węgierskiego ekonomistę Károly Erekyego w 1919 roku. Do dzisiaj ta nazwa jest aktualna i stosowana.

W procesach biotechnologicznych wykorzystujemy żywe organizmy komórkowe. Produkty biologiczne uzyskiwane za pomocą technologii zaawansowanych, ale całkowicie od siebie niezależnych i odmiennych, nie są w 100% powtarzalne – skomplikowany proces wytwarzania, formulacji, analityki oraz procedur stabilizacji jest bowiem własnością wytwórcy. W przeciwieństwie do jednorodnych produktów małącząsteczkowych produkty biologiczne są zbudowane ze złożonych cząsteczek wielowymiarowych. Każdy etap złożonego procesu wytwarzania nadaje wyjątkowe właściwości uzyskiwanemu produktowi biologicznemu, co prowadzi do stwierdzenia, że produkty biologiczne wytwarzane w całkowicie odmiennych procesach wytwarzania nie mogą być identyczne, mimo że podczas rutynowej produkcji monitorowany jest każdy etap procesu z użyciem testów kontroli międzyoperacyjnej opracowanych w fazie rozwoju procesu, aby zapewnić jednolitość parametrów.

Wersja uproszczona dla pacjenta

Z genomu ludzkiego wycinamy pożądaną gen odpowiedzialny za produkcję białka, którego zmieniony poziom jest powodem choroby. Nożyczkami wycinającymi pożądaną gen są restrykcyjne endonukleazy – specyficzne enzymy. I ten wycięty gen, jak wagonik, przyczepiamy do pociągu zwanego wektorem, którym może być np. kulisty plazmid bakteryjny. Taki pociąg zawierający wagonik ludzkiego DNA wjeżdża do komórki, np.

Escherichia coli, rozpoczynając tym samym proces produkcji oczekiwanego białka, które po oczyszczeniu stanie się lekiem. W komórce gospodarza matryca DNA, czyli wagonik z ludzkim genem, ulega rekombinacji, a więc powieleniu wraz z powieleniem komórki gospodarza, stając się bazą do wytwarzania nowej substancji. W wyniku ekspresji informacji ludzkiego genu otrzymujemy oczekiwane białko, które po wyizolowaniu i oczyszczeniu staje się biologicznym lekiem.

Synteza tego aktywnego białka nie jest możliwa w przysłowiowej probówce, bo nie wiemy, jak to zrobić na drodze syntezy chemicznej, a żywe komórki pochodzące z różnych organizmów dają sobie z tym radę.

Wersja wykładowa

Białka rekombinowane otrzymujemy, wykorzystując technologię rekombinacji DNA, która polega na:

- 1/ izolacji wybranego fragmentu DNA z ludzkiego genomu za pomocą restrykcyjnych endonukleaz;
- 2/ przeniesieniu go za pomocą wektora do wybranej obcogatunkowo komórki;
- 3/ wprowadzeniu fragmentu DNA do DNA wybranej obcogatunkowej komórki;
- 4/ klonowaniu tej komórki, co zwiększa skalę ekspresji rekombinowanego DNA i w rezultacie umożliwia wytwarzanie terapeutycznego białka w skali przemysłowej;
- 5/ procesach izolacji i oczyszczania;
- 6/ formulacji rekombinowanego białka /już na zakończenie/, tak aby nie uszkodzić jego struktury III-rzędowej ani nie doprowadzić do innych zmian fizykochemicznych, takich jak agregacja niwelująca działanie terapeutyczne otrzymanego produktu leczniczego.

Każdy producent:

- a/ ma inną własną linię komórkową do produkcji leków biologicznych;
- b/ stosuje inne nośniki genowe /nazywa się to fachowo unikatowością wektora/;
- c/ ma inną charakterystykę wprowadzania DNA do komórek zatrudnionych jako miejsca powstawania biologicznego leku;
- d/ ma inną technologię ograniczania ilości zmutowanych komórek, czyli takich, które nie nadają się jako komórki robotnice do wytwarzania biologicznego leku.

Jednak dzięki specjalistycznej kontroli procesów – zaczynając od sekwencjonowania DNA aż po transfekcję komórek i utworzenie macierzystego banku komórek matek robotnic, oznaczanych z języka angielskiego skrótem MCB – w konkretnej fabryce wszystko to prowadzi do wytwarzania biologicznego leku nieskończenie długo. MCB jest źródłem wszystkich przysyłanych hodowli namnażanych komórek robotnic i stanowi największy skarb producenta, niezwykle pilnie chroniony – linia komórkowa robotnic, w której wszystkie komórki są klonem tej początkowej komórki matki stanowi kluczowy element procesu biotechnologicznego. Kradzież MCB można więc traktować na równi z kradzieżą całej fabryki.

Proces hodowli komórek robotnic, czyli klonów komórek matek, obejmuje trzy podstawowe etapy, a są to:

- a/ linia posiewu,
- b/ linia inokulum,
- c/ linia ilościowo-produkcyjna.

Przy czym za krytyczny uznawany jest proces oczyszczania białek będących lekami. Polega on na zatrzymaniu właściwego białka będącego lekiem, a odrzuceniu immunogennych zanieczyszczeń. W trakcie tych czynności należy usunąć rozmaite wirusy, które są mniejsze od pożądanego produktu białkowego. Po oczyszczeniu pożądanego białka liofilizuje się je, czyli zamraża, a następnie rozmraża i miesza z substancjami chemicznymi stabilizującymi białko będące biologicznym lekiem do czasu jego rekonstrukcji i podania pacjentowi.

Przy produkcji białek mających zastosowanie terapeutyczne o optymalnej aktywności i minimalnym ryzyku dla bezpieczeństwa wybrane przez wytwórcę komórki gospodarza powinny wytwarzać formy o ogólnych strukturach kowalencyjnych równoważnych naturalnie występującym postaciom. Przyłączenie węglowodorów do białek zależy od linii komórek gospodarza, warunków hodowli oraz wszelkich modyfikacji linii komórkowych. Każdy węglowodan nieobecny w białku ludzkim, a stwierdzony w białku rekombinowanym jest potencjalnie immunogenny, co oznacza, że pacjenci wytwarzają przeciw takiemu leкови przeciwciała.

Jako przykład można przytoczyć znany fakt, że różnice w węglowodanach na powierzchni erytrocytów odpowiadają za typy grupy krwi: A, B i O. Osoby z typem O rozpoznają typy A i B jako obce, ponieważ nie wytwarzają dodatkowych typów węglowodanów stwierdzonych na erytrocytach od dawców z grup A i B. Natomiast pacjenci z grupami A i B mogą przyjmować krew typu O bez rozwoju takiej odpowiedzi na substancje obce.

1.6. BADANIA ANALITYCZNE

Wszeczhronne scharakteryzowanie produktów biologicznych jest możliwe jedynie poprzez połączenie badań analitycznych z wynikami badań nieklinicznych i klinicznych. Ta stosunkowo nowa klasa produktów leczniczych wymaga dynamicznego rozwoju zaawansowanych technik analitycznych, aby uwzględnić złożoność na poziomie cząsteczkowym oraz stopień skomplikowania procesów wytwarzania, w tym wytwarzanie w organizmach żywych takich jak bakterie, drożdże czy komórki pochodzące od ssaków.

Wymogi kontroli produkcji oraz wymogi rejestracyjne obejmują solidną strategię testów analitycznych zaprojektowanych tak, aby zapewnić jednolitą jakość produktu, który przeszedł badania przedkliniczne i kliniczne w celu wykazania bezpieczeństwa i skuteczności. Samo badanie analityczne nie przesądza o bezpieczeństwie i skuteczności wyrobu, ponieważ nie pozwala na odtworzenie prawidłowe całej struktury związku, co ma miejsce przy klasycznych substancjach chemicznych.

Badania analityczne leków biologicznych mogą być stosowane w celu ograniczonej oceny wytworzonego produktu, ale nie nadają się do oceny

podobieństwa tych samych leków biologicznych otrzymanych w różnych, niezależnie opracowywanych procesach. Metody analityczne stają się coraz bardziej wyrafinowane, specyficzne i wrażliwe. Są one opracowywane w celu zagwarantowania jakości surowców stosowanych w procesie wytwarzania, scharakteryzowania produkcyjnej linii komórkowej, wsparcia obszernej charakterystyki – walidacji procesu pod kątem usuwania zanieczyszczeń związanych z procesem, związków przypadkowych oraz źle połączonych lub wręcz nieaktywnych wariantów związanych z produktem w celu zapewnienia jakości oraz kontrolowania krytycznych cech jakości, takich jak czystość i siła działania.

Spektrum stosowanych metod analitycznych obejmuje:

- biotesty oparte na komórkach – mierzone cechy: siła działania;
- testy immunologiczne – mierzone cechy: zanieczyszczenia związane z procesem;
- testy jakości i endotoksyn – mierzone cechy: bezpieczeństwo stosowania leku;
- degradacja Edmana – mierzone cechy: struktura pierwszorzędowa, cięcia proteolityczne;
- testy enzymatyczne – mierzone cechy: siła działania, tożsamość;
- testy wiązania – mierzone cechy: wiązanie z receptorem;
- NMR – mierzone cechy: struktura wyższego rzędu;
- elektroforeza żelowa i kapilarna – mierzone cechy: analiza glikanów, cięcia proteolityczne;
- ultrawiórowanie analityczne – mierzone cechy: analiza agregatów;
- chromatografie – mierzone cechy: struktury, agregaty, heterogeniczność ładunku, utlenianie;
- spektroskopie – mierzone cechy: struktury wyższego rzędu.

Od wielu lat do analizy białek wykorzystujemy różne techniki spektrometrii mas z rozdziałem mieszanin za pomocą chromatografii niskiego przepływu, elektroforezy żelowej i kapilarnej.

Porównanie masy badanego białka z masą znaną z sekwencji aminokwasowej dostarcza wiedzy o przyłączanych fragmentach reszt chemicznych. Analizujemy widma masowe oraz ich częstotliwość. Do najpopularniejszych i najefektywniejszych metod modyfikacji białek należą:

- mapowanie peptydów z wykorzystaniem techniki MALDI-ToF /ang. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight*/, czyli spektrometria mas z jonizacją poprzez desorpcję próbki laserem z matrycy, gdzie rozdział jonów zachodzi w analizatorze mierzącym czas lotu jonów /6/;
- sekwencjonowanie peptydów modyfikowanych z zastosowaniem pary układu chromatografii ciekłej, LC /ang. *Liquid Chromatography*/ ze spektrometrem mas MALDI-ToF /6, 7/.

Dzięki spektrometrom mas MALDI-ToF określamy masy cząsteczkowe peptydów z dokładnością do 5 ppm.

Niestety, opisywane metody wymagają trawienia białek bezpośrednio przed analizą. Jedynie metoda ISD /ang. *In Source Decay*/, czyli rozpad w źródle – badanie fragmentacji zachodzącej w źródle jonów – pozwala na

badanie całego białka i częściowe określenie jego sekwencji oraz miejsc modyfikacji /7/.

Analiza postępów analityki wyraźnie wskazuje na brak możliwości wykazania, że produkty białkowe produkowane w różnych procesach są identyczne. W rzeczywistości dochodzimy do wniosku, że postęp w analityce wykazuje, iż produkty biologiczne są bardziej złożone niż uprzednio sądzono. Przykładem może tu być lek Alteplaza, dopuszczony w 1987 roku do leczenia zawału mięśnia sercowego oraz w ostrym udarze niedokrwionym. Przez 30 lat lek ten był najszerzej opisanym rekombinowanym białkowym produktem leczniczym. I nagle, w 2009 roku, zgłoszono do EMA odkrycie nowych, wcześniej nierozpoznanych struktur glikonowych w pozycji 61 aminokwasu treoniny oraz obecność wcześniej niestwierdzonych niewielkich poziomów glikanów zajmujących pozycję 142 aminokwasu asparaginy.

1.7. PORÓWNYWALNOŚĆ A PODOBIENSTWO

Porównywalność /ang. *comparability*/ to termin używany w odniesieniu do leków biologicznych wytwarzanych w tym samym zwalidowanym procesie technologicznym w celu np. porównania serii produktu u tego samego wytwórcy. Ocenę porównywalności prowadzi się w celu potwierdzenia ustalonego profilu bezpieczeństwa i skuteczności produktu biologicznego dostępnego w obrocie po wprowadzeniu ściśle określonych przyrostowych zmian procesu poprzez podmiot, który opracował oryginalny proces wytwarzania /8, 9/.

Aby zapewnić, że niewielkie zmiany procesu nie wpływają na profil jakości produktu, badania porównywalności obejmują szeroko zakrojone badania procesu i jakości produktu, w tym:

- ocenę/walidację parametrów procesu;
- badania przy zwalnianiu partii do obrotu;
- rozszerzone analizy charakteryzujące oraz badania trwałości.

Podobieństwo /ang. *similarity*/ to termin używany w odniesieniu do leków biologicznych wyprodukowanych u różnych wytwórców. Ocenę biopodobieństwa prowadzi się w celu ustalenia profilu bezpieczeństwa i skuteczności produktu biopodobnego. Ocena ta wymaga porównawczych badań przedklinicznych, klinicznych i tych dotyczących jakości.

Produkt biopodobny w stosunku do zarejestrowanego produktu referencyjnego z definicji wytwarzany jest w niezależnie opracowanym, znacząco odmiennym procesie wytwarzania. Różnice w procesie obejmują:

- zmianę komórek gospodarza,
- zmianę wytwarzania hodowli komórek,
- zmiany odzysku produktu,
- zmiany obiektów i wyposażenia,
- zmiany surowców,
- zmiany miejsca uzyskiwania substancji pomocniczych i pojemników,
- zmiany w testach przeprowadzanych przy zwalnianiu partii w badaniach trwałości oraz w rozszerzonych testach charakteryzujących /10/.

Ocena podobieństwa ma ułatwić dopuszczenie do obrotu produktów biopodobnych w ramach skróconej drogi rejestracyjnej. Eksperci i organy kompetentne zwracają uwagę, że produkty biopodobne wytwarzane w znacząco odmiennych procesach z punktu widzenia bezpieczeństwa pacjenta zawsze powinny być oceniane pod kątem podobieństwa na drodze porównawczych testów jakości produktu oraz badań przedklinicznych i klinicznych. Istotne jest potwierdzenie równoważnego profilu bezpieczeństwa i skuteczności /11/.

1.8. PRODUKTY BIOLEPSZE

Produkty biolepsze /ang. *Biobetters*/ to termin, który po raz pierwszy użyty został przez G.V. Prasada, wiceprezesa i dyrektora generalnego firmy dr Reddy's Laboratories, w 2007 roku podczas sympozjum *Bio-Invest Held* w Bombaju w wykładzie zatytułowanym „Better Be Prepared for Biobetters Scenario Indian Patents”. Miał on opisywać produkty referencyjne zmodyfikowane, np. poprzez pegylację cząsteczek, co dawało dłuższy efekt działania.

Oto przykłady leków biologicznych, które mogłyby być klasyfikowane jako produkty biolepsze.

Przykład A

Cząsteczka erytropoetyny ma do łańcucha polipeptydowego dołączone węglowodany – 4 łańcuchy – a do nich maksymalnie 14 reszt kwasu sjałowego. Im tych reszt jest więcej, tym dłuższy jest okres półtrwania w surowicy krwi, ale mniejsze powinowactwo do receptora EPO-R. Poszukiwania nowych leków o większej i dłuższej aktywności erytropoetycznej dały nowy produkt biologiczny o dodatkowych 2 łańcuchach węglowodanowych i 8 resztach kwasu sjałowego /całkowita liczba do 22 reszty kwasu sjałowego/ oraz zmienionej strukturze aminokwasowej łańcucha polipeptydowego /zmiana struktury pierwszorzędowej/. Tak powstała darbopoetyna alfa, której wytwarzanie zachodzi w komórkach jajnika chomika chińskiego.

Przykład B

Dalsza modyfikacja chemiczna cząsteczki epoetyny beta, uprzednio otrzymanej na drodze biotechnologicznej poprzez dołączenie do łańcucha polipeptydowego cząsteczki glikolu metoksypolietylenowego, doprowadziła do otrzymania glikolu metoksypolietylenowego epoetyny beta, który to związek działa 15 razy dłużej przy podaniu dożylnym i 5 razy dłużej przy podaniu podskórnym.

Przykład C

Kolejnym przykładem „ulepszenia” jest pegfilgrastym, następca filgrastymu, który wytworzony w komórkach *Escherichia coli* za pomocą technik rekombinacji DNA połączony został w reakcji polikondensacji z glikolem polietylenowym PEG /12/.

Wszystkie opisane tu przykłady pokazują, jak firmy farmaceutyczne, wprowadzając do leczenia białka rekombinowane, pracują nad „ulepszeniem cząsteczek”. Z punktu widzenia bezpieczeństwa pacjentów takie leki muszą jednak przechodzić całą procedurę rejestracyjną bez stosowania

żadnych uproszczeń. Praktyka kliniczna pokazuje bowiem, że nie zawsze te „ulepszenia” są całkowicie korzystne dla organizmu pacjenta. Pegylowane cząsteczki białka, niestety, szybciej ulegają aglomeracji i mogą prowadzić do silniejszej odpowiedzi immunologicznej. Agregacja rekombinowanego białka wyzwała negatywną odpowiedź immunologiczną chorego. Z tego powodu w procesie produkcyjnym niezwykle starannie opatentowuje się drogę minimalizacji stopnia agregacji białka.

Agregacja, czyli proces łączenia się cząsteczek, zachodzi zawsze. Nam zależy, aby ten proces zminimalizować. W wyniku agregacji otrzymujemy dimery, oligomery, multimery izoform białka, które nie posiadają dużej siły działania monomeru. Ryzyko wystąpienia agregatów izoform białkowych w trakcie rekonstytucji, czyli rozpuszczania liofilizowanego leku, zmusza personel służby zdrowia do baczego oglądania roztworów przed dokonaniem iniekcji pacjentowi. Przestrzeżenie surowego reżimu prawidłowego przygotowania biologicznego leku do podania pacjentowi wyklucza np. nadmierne wstrząsanie. Ponadto do rozpuszczania substancji nie wolno stosować roztworu fizjologicznego chlorku sodu, bo może dojść do gwałtownej precypitacji wysolonej struktury pegylowanego białka /13/.

Pewnym korzystnym wskazaniem dla długo działających pegylowanych erytropoetyń może być większa stabilność poziomu hemoglobiny. Wiadomo, że im więcej fluktuacji stężeń hemoglobiny, tym bardziej niekorzystne znaczenie rokownicze u chorych z przewlekłą chorobą nerek. Nie jest to jednak pewnik, dlatego można spotkać się z twierdzeniem, iż preparaty o bardzo długim czasie dawkowania nie mogą być tak elastycznie dawkowane jak leki krócej działające.

1.9. DOPUSZCZENIE DO OBROTU BIOLOGICZNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH

Dopuszczenie do obrotu biologicznych produktów leczniczych w przeważającej liczbie poddawane jest procedurze centralnej przez Europejską Agencję Leków. Dla tradycyjnych cząsteczek procedury rejestracyjne wymagają przedstawienia kompetentnym organom rejestracyjnym dokumentacji chemiczno-farmaceutycznej i biologicznej, farmakologiczno-toksykologicznej oraz klinicznej. W następstwie wszczętej i zakończonej rejestracji dopuszczenie do obrotu otrzymuje konkretny produkt leczniczy w zdefiniowanej dawce i postaci. Jednak w przypadku leków biologicznych, oryginalnych i bionastępczych, procedurze dopuszczenia poza właściwym produktem leczniczym podlega także sam proces wytwarzania, co odpowiednio pozycjonuje rangę tego procesu i jego znaczenie w uzyskaniu finalnego produktu. A zatem dane na temat jednego produktu biologicznego w odniesieniu do jakości, skuteczności i bezpieczeństwa nie mogą być przeniesione na produkt wytworzony przez innego producenta z wykorzystaniem zupełnie innego procesu produkcyjnego bez udowodnienia podobieństwa pod względem jakości, bezpieczeństwa i skuteczności.

To eksperci uznali, że badaniu podlegać musi nie tylko otrzymany lek, ale także proces jego wytwarzania, sam w sobie będący swoistym produktem. Opisują to wytyczne EMA 19/07/2007 w sprawie porównywalności

produktów leczniczych pochodzenia biologicznego z tej samej fabryki po zmianie w procesie wytwarzania lub zmianie linii technologicznej do wytwarzania. Wszystko to zadecydowało o specjalnym trybie rejestracji leków biologicznych. Uznano, że z uwagi na specyfikę i niezwykle skomplikowaną strukturę leków biologicznych dopuszczenie ich do obrotu musi opierać się na bardzo ściśle określonych badaniach i procedurach. Stwierdzono, że leki biologiczne nie mają generyków i w związku z tym muszą podlegać odmiennemu traktowaniu, zanim zostaną dopuszczone do leczenia pacjentów, a ich rejestracja jest niemożliwa bez przeprowadzenia niezależnych badań /15-26/. Akceptowalne różnice pomiędzy lekami biopodobnymi a produktami referencyjnymi w zakresie trzech głównych wskazań omawiają wytyczne EMEA/EMA /27/.

2. Przeciwciała mono- i poliklonalne stosowane w terapii jako produkty lecznicze

2.1. WSTĘP

Przeciwciała, inaczej immunoglobuliny, to białka wytwarzane np. przez nasz układ odpornościowy, które stanowią główną linię obrony organizmu przed atakami z zewnątrz.

Przeciwciała to także niezwykle dynamicznie rozwijająca się grupa biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych wytwarzanych w znakomitych firmach farmaceutycznych o wysokiej kulturze naukowej w zakresie biotechnologii.

Przeciwciała będące lekami można podzielić na dwa główne rodzaje: poliklonalne i monoklonalne, przy czym te pierwsze wykazują powinowactwo do więcej niż jednego antygeny, drugie zaś – powinowactwo tylko do jednego, specyficznego dla nich antygeny. Dodatkowo przeciwciała monoklonalne mogą być jednofunkcyjne lub wielofunkcyjne. Ponadto można łączyć fragmenty przeciwciał monoklonalnych, wytworzone w komórkach szczura i oddzielnie w komórkach myszy – wobec identycznego genu. Otrzymujemy wtedy hybrydowe przeciwciało monoklonalne przeciwko dwu antygenom – przykładem niech będzie dopuszczony do obrotu katumaksomab /30/.

W lecznictwie w grupie przeciwciał wyróżniamy:

- a/ ok. 80% przeciwciał monoklonalnych jednofunkcyjnych,
- b/ ok. 8% przeciwciał monoklonalnych wielofunkcyjnych,
- c/ ok. 12% przeciwciał poliklonalnych.

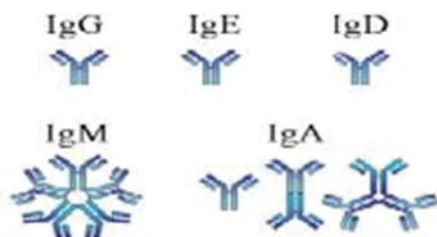
Fragmenty przeciwciał monoklonalnych połączone z innymi fragmentami białek tworzą białka fuzyjne, np. romiplostym /31/ będący białkiem fuzyjnym z przeciwciałem peptydowym. Częsteczką tego przeciwciała składa się z domeny Fc ludzkiej immunoglobuliny IgG1 z przeciwciałem peptydowym złożonym z peptydu przyłączonego do fragmentu Fc, która sygnalizuje i aktywuje za pomocą receptora trombopoetyny wewnątrzkomórkowe szlaki transkrypcji, zwiększając w ten sposób wytwarzanie płytek krwi. Sekwencja aminokwasowa romiplostymu nie jest homologiczna z sekwencją endogennej trombopoetyny. Lek ten jest stosowany u dorosłych pacjentów z przewlekłą pierwotną małopłytkowością idiopatyczną, wykazującą niedostateczną odpowiedź na inne leczenie.

2.2. IMMUNOGLOBULINY – NATURALNE PRZECIWCIAŁA

Immunoglobuliny występujące w organizmie człowieka, nazywane również przeciwciałami, są odpowiedzialne za ochronę przed atakami zewnętrznych agresorów, np. bakterii czy wirusów. Te białka, będące integralną i niezwykle istotną częścią układu odpornościowego, można również podzielić na klasy – kryterium tego podziału są różnice w budowie ciężkich łańcuchów. W podziale tym wyróżniamy:

- immunoglobuliny A (IgA) – posiadają ciężki łańcuch w formie α (alfa),

- immunoglobuliny D (IgD) – posiadają ciężki łańcuch w formie δ (delta),
- immunoglobuliny E (IgE) – posiadają ciężki łańcuch w formie ϵ (epsilon),
- immunoglobuliny G (IgG) – posiadają ciężki łańcuch w formie γ (gamma),
- immunoglobuliny M (IgM) – posiadają ciężki łańcuch w formie μ (mi).



Ponadto stwierdzono występowanie drobnych różnic w budowie ciężkich łańcuchów również w obrębie jednej klasy, w wyniku czego wyodrębniono podklasy, np. IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4. Praktycznym przykładem badania, np. immunoglobulin G, jest wykrywanie tzw. prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów podejrzanych o chorobę SM.

Immunoglobuliny G sugerują stan zapalny, a 90% pacjentów z SM ma prążki w płynie mózgowo-rdzeniowym przez całe życie – prążki oligoklonalne spełniają zatem rolę biomarkera w SM.

Istnieje teoria zakładająca, że każda choroba w naszym organizmie powoduje pojawienie się wczesnych sygnałów ostrzegania, które, niestety, z powodu naszej niewiedzy i ciągle słabej diagnostyki analitycznej nie są odpowiednio wcześniej zauważane.

Naczelną zasadą immunochemioterapii jest przywrócenie uśpionemu układowi odpornościowemu pacjenta zdolności do rozpoznawania i oddziaływania na komórki rakowe oraz uruchomienie systemów toksyczności komórkowej w stosunku do komórek nowotworowych.

Powstaje pytanie, dlaczego choroba /np. nowotworowa/ nie jest odbierana przez układ odpornościowy naszego organizmu jako hasło do obrony życia. A dzieje się tak, bo nowotwory wykształcają mechanizmy hamujące prawidłowe funkcje układu odpornościowego, po prostu oszukujące nasz układ odpornościowy. Do takich przykładowych oszustw układu odpornościowego przez komórki rakowe możemy zaliczyć: zanikanie lub blokowanie antygeny komórki nowotworowej, który staje się niewidoczny dla układu odpornościowego; wysoką częstotliwość zmian antygeny komórek nowotworowych, za którymi nie nadąża układ odpornościowy pacjenta – nowotwór blokuje powstawanie cząstek adhezyjnych, białek klasy MHC, które normalnie aktywują układ odpornościowy do walki. Oszustwa te potrafimy jedna zwalczać, a to m.in. poprzez: addytywny transfer komórek, blokady immunologicznych punktów kontroli, strategie szczepionkowe.

Przeciwciała otrzymywane przez człowieka są bronią w wojnie celowanej, służąc do blokady immunologicznych punktów kontroli. Jeżeli zablokujemy antygen komórki rakowej obniżający aktywność limfocytów, to zwiększamy siłę układu odpornościowego. Immunologiczne punkty kontroli hamują aktywność limfocyty T, a zatem zablokowanie ich poprzez lek zwiększa aktywność limfocyty T.

Zasada działania immunoterapii, krótko mówiąc, to przywrócenie uspiornemu układowi odpornościowemu pacjenta zdolności do rozpoznawania i oddziaływania na komórki rakowe.

Immunoterapia anty-PD-1 i anty-PD-L1 /ASCO 2014/ to jedno z najważniejszych odkryć naukowych ostatnich lat. Do walki z nowotworem limfocyty T i B muszą mieć wolny i aktywny na swej powierzchni receptor PD-1. Nowotwory blokują receptor PD-1 znajdujący się na limfocytach T i B poprzez wiązanie go ze swym ligandem PD-L1 znajdującym się na powierzchni komórek nowotworowych. W wyniku połączenia PD-1 z limfocyty z PD-L1 z nowotworu dochodzi do zaślepienia układu odpornościowego pacjenta. Proces taki zachodzi w nowotworach płuc, prostaty, okrężnicy, żołądka, nerki, piersi, pęcherza, w przypadku glejaka, czerniaka, nowotworów głowy i szyi. Im więc wyższa ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych, tym większa blokada limfocytów chorego, a w konsekwencji krótszy czas życia pacjenta.

Leki immunologiczne blokują złe połączenie PD-1 limfocyty z PD-L1 komórki nowotworowej, dzięki czemu przywracają limfocytom zdolność zwalczania komórek rakowych. Dochodzi do odślepienia układu immunologicznego pacjenta. Dzięki takiemu blokowaniu białka PD-1 limfocytów przez lek immunologiczny układ odpornościowy chorego może zobaczyć komórki nowotworowe i może dojść do finalnej ich apoptozy.

Interesującym produktem leczniczym celującym w PD-1 jest przeciwciało monoklonalne niwolumab /32/, które daje finalnie efekt podobny do nożyczek uniemożliwiających utrzymywanie się połączenia PD-1 z PD-L1. Stosowanie temu podobnych fantastycznych rozwiązań ma jednak poważne ograniczenie, a jest nim niska ekspresja ligandu receptora programowanej śmierci PD-L1 /ang. *protein programmed death-ligand 1*/ w tkance nowotworowej.

Jak wynika ze wspólnego komunikatu MSD EMA i URPL z 18 czerwca 2018 roku – opublikowanego na stronie Urzędu Rejestracji, a opartego na trwającym badaniu klinicznym KEYNOTE-361 – stosowanie pembrolizumabu w monoterapii w leczeniu raka urotelialnego miejscowo zaawansowanego lub z przerzutami u osób dorosłych, które nie mogą zostać zakwalifikowane do chemioterapii zawierającej cisplatynę, jest wskazane jedynie w sytuacji, gdy łączny wynik pozytywny CPS /ang. *Combined Positive Score*/ z ekspresją PD-L1 w tkance nowotworowej wynosi ponad 10 lub jest równy 10. Ta informacja zwraca uwagę na rzecz istotną w leczeniu celowanym: nie tylko na obecność antygeny, ale także na jego wystarczające stężenie. Dotychczas panowało bowiem przekonanie, że konieczne jest wysokie stężenie leku w miejscu działania. Tymczasem dzisiaj mówimy, że w przypadku leków będących przeciwciałami istotna jest także wysoka ekspresja antygeny na powierzchni komórki nowotworowej.

Inną metodą walki jest łączenie sił, czyli dwa przeciwciała monoklonalne – blokujące różne antygeny i finalnie spowalniające chorobę. CTLA4 jest inhibitorem aktywacji limfocytów T. Zablokowanie CTLA4 zwiększa proliferację /zdolność do namnażania/ limfocytów T. Lekiem, a jednocześnie przeciwciałem monoklonalnym blokującym antygen CTLA4 jest ipilimumab /33/. I tak na przykład, połączenie nivolumabu /leku celującego w receptor PD-1/ z ipilimumabem /lekiem celującym w białko CTLA-4/ skutkuje stabilizacją choroby w 50% u chorych z zaawansowanym przerzutowym czerniakiem.

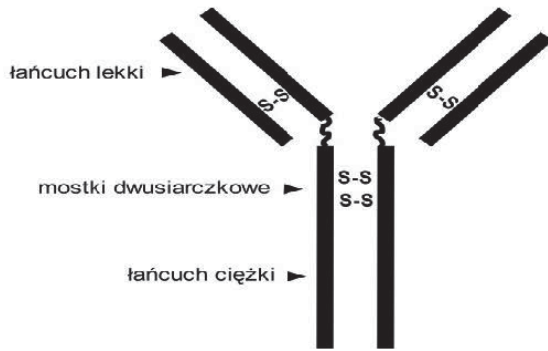
2.3. BUDOWA PRZECIWCIAŁ

Przeciwciała mają skomplikowaną budowę, którą można jednak przedstawić w sposób bardzo uproszczony.

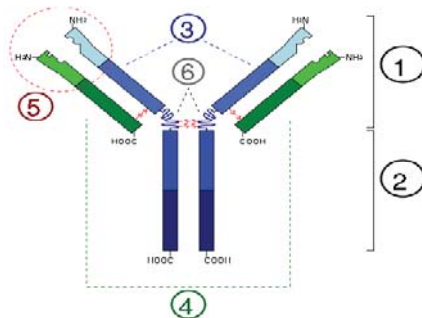
Łańcuchy przeciwciała są:

- ciężkie – długie,
- lekkie – krótkie.

Łańcuch długi/ciężki posiada części stałe oznaczane jako CL, identyczne dla przeciwciał jednej klasy, CH: CH1, CH2, CH3, licząc od góry, oraz części zmienne, oznaczane jako VH. Podobnie zbudowane są łańcuchy krótkie/lekkie – także zawierają one części stałe i części zmienne. Część zmienna oznacza fragment białka, który może się różnić w zależności od rodzaju przeciwciała. Części stałe są identyczne dla grupy przeciwciał.

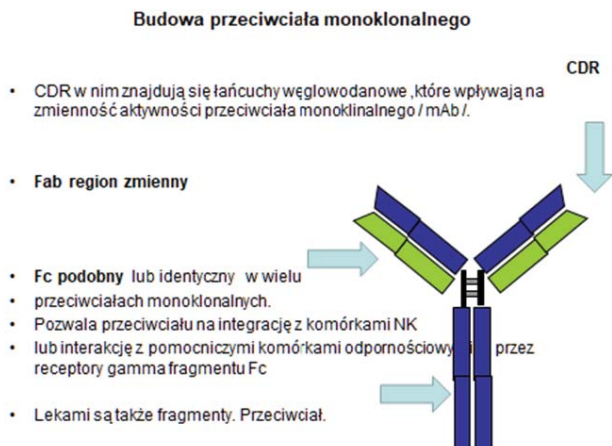


Schematyczna budowa przeciwciała z zaznaczonymi grupami funkcyjnymi

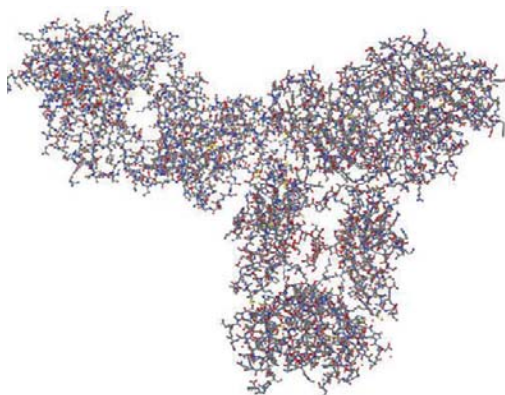


Opis schematu budowy przeciwciała: 1 – Fragment Fab; 2 – Fragment Fc; 3 – Łańcuch ciężki (zawiera VH, CH1, zawias, regiony CH2 i CH3, licząc od N-końca); 4 – Łańcuch lekki (zawiera regiony VL i CL, licząc od N-końca); 5 – Każde z ramion przeciwciała (Fab) zawiera część wiążącą antygen, zwaną paratopem (linia przerywana), miejsce wiązania antygeny CDR; 6 – Regiony zawiasowe; S-S – mostki disiarczkowe.

Schematyczna budowa przeciwciała z zaznaczonym obszarem Fab, Fc i CDR



Model przeciwciała monoklonalnego mAb /ang. *monoclonal antibody*/



Każde przeciwciało posiada zdolność łączenia się z określonym celem, nazywanym antygenem – a dokładniej łączy się z fragmentem antygenu, nazywanym epitopem.

Epitop zazwyczaj jest zbudowany z łańcucha peptydowego o długości od 5 do 8 aminokwasów i znajduje się na powierzchni białka. Częsteczką antygenu może być dowolna substancja, która jest w stanie wzbudzić

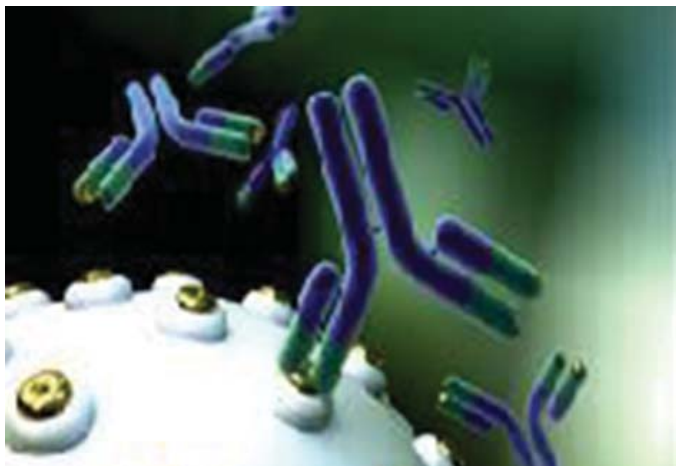
przeciwko sobie odpowiedź odpornościową swoistą lub po prostu reaguje z przeciwciałami. Antygeny często znajdują się na powierzchni wirusów czy komórek bakteryjnych atakujących organizm.

Część cząsteczki przeciwciała odpowiadająca za wiązanie z takim właśnie antygenem nazywana jest paratopem i znacznie się różni od immunoglobulin wytwarzanych w organizmie człowieka. A zatem można powiedzieć, że przeciwciało łączy się z antygenem, a bardziej precyzyjnie, że paratop z przeciwciała łączy się z epitopem z antygenu.

Kluczem do wykorzystania w leczeniu przeciwciał monoklonalnych –

samodzielnym lub w połączeniach w biokoniugatach – było stwierdzenie istnienia antygenów na powierzchni komórek nowotworowych oraz ich zwiększonej prezentacji w nowotworzeniu. Odkrycie antygenów na powierzchni komórek nowotworowych stało się zatem wskazówką dla kierunku poszukiwań przeciwciał.

Cząsteczki przeciwciała blokujące antygeny na powierzchni komórki



Antygeny, zablokowane przez leki będące przeciwciałami, nie mogą przekazywać sygnałów do wnętrza lub do innych komórek, co w konsekwencji hamuje rozwój komórek nowotworowych i może prowadzić do ich apoptozy.

2.4. SKRÓCONA HISTORIA PRZECIWCIAŁ

Prapoczątki przeciwciał to zaledwie wiek XIX, kiedy to lekarze Jules Héricourt i Charles Richet podawali pacjentom surowicę zwierząt immunizowanych guzami kości. Tymczasem to w ubiegłym wieku opracowano technologię produkcji przeciwciał monoklonalnych – osiągnięcie uznawane obecnie za wynalazek przełomowy w historii medycyny oraz nauk biologicznych. Opracowania tego w połowie lat osiemdziesiątych XX wieku dokonała para naukowców: César Milstein (1927-2002) i Georges J.F. Köhler (1946-1995), którzy w związku z tym odkryciem zostali w roku 1984 laureatami Nagrody Nobla w dziedzinie medycyny.

W roku 1997 FDA zarejestrowała rytuksymab /34/, pierwsze przeciwciało monoklonalne, stosowane w leczeniu chłoniaków niezziarnicznych wywodzących się z limfocytów B.

W roku 2018 rynek przeciwciał ma już wartość 75 miliardów dolarów, a zakłada się, że do roku 2020 rynek przeciwciał monoklonalnych będzie stanowił główną sprzedaż wszystkich leków biotechnologicznych.

2.5. CHIMERYZACJA I HUMANIZACJA PRZECIWCIAŁ

Pierwsza opracowana metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych, autorstwa Milsteina i Köhlera, dotyczyła immunoglobulin pochodzących od myszy. Pierwszym etapem była immunizacja myszy za pomocą odpowiedniego antygeny, następnie pobierano limfocyty B wprost ze śledziony

zwierzęcia. Kolejnym etapem procesu była więc fuzja limfocytów B wytwarzających swoiste przeciwciała z komórkami szpiczaka, czyli nowotworu układu krwiotwórczego. Powinowactwo przeciwciał wytwarzanych przez taką hybrydę determinował limfocyt B użyty w fuzji, natomiast rolą komórki szpiczaka w całym procesie było nadanie ostatecznemu tworowi „nieśmiertelności”, przez co możliwa stała się teoretycznie nieskończenie długa hodowla w warunkach *in vitro*. Komórka szpiczaka dodatkowo dostarcza hybrydzie wielu rybosomów, a także rozwiniętego aparatu Golgiego, co pomaga jej wytwarzać duże ilości białek, w tym pożądaných przeciwciał.

Takie stworzone sztucznie linie komórkowe określa się jako hybrydomy. Mogą być one przechowywane w formie zamrożonych kultur przez długi czas. Do produkcji wybieramy to połączenie, które najbardziej wydajnie wytwarza przeciwciała, izolujemy je, a następnie klonujemy. Warto tu może nadmienić, że określenie „monoklonalny” odnosi się do pochodzenia takiego przeciwciała z pojedynczego klonu w przeciwieństwie do przeciwciał poliklonalnych uzyskiwanych z różnych klonów.

Otrzymane mysie przeciwciała monoklonalne powinny być zmodyfikowane w taki sposób, aby minimalizować u pacjenta ryzyko powstawania przeciwciał. Aby uniknąć immunogenizacji przeciwciała mysie zamieniamy na chimeryczne, czyli mające ok. 70% struktury ludzkiej. Następnie dalej prowadzimy proces humanizacji, otrzymując przeciwciała zawierające ok. 90% struktury ludzkiej – dopiero wtedy mamy przeciwciała humanizowane.

W przypadku technik produkcji przeciwciał chimerycznych geny kodujące regiony zmienne łańcuchów lekkich i ciężkich pochodzą od myszy, natomiast cała reszta – od człowieka. W przeciwciałach humanizowanych tylko regiony hiperzmiennie pochodzą od myszy, reszta – od człowieka.

Możliwe jest również wytwarzanie przeciwciał w pełni ludzkich, a to dzięki takim technikom jak *phage display* wykorzystująca fagi oraz tworenie zwierząt transgenicznych. Przykładem dopuszczonego do obrotu w pełni ludzkiego przeciwciała jest kanakinumab. To całkowite ludzkie przeciwciała monoklonalne wytwarzane przez hybrydową linię komórek myszy Sp2/0 w technologii rekombinacji DNA – inhibitor interleukiny-1-beta. Interleukina-1-beta aktywuje gen IL-1-beta, a on wytwarza mediatory reakcji zapalnej. Kanakinumab jako inhibitor interleukiny-1-beta blokuje metabolity reakcji zapalnej /35/. Mimo że kanakinumab jest całkowicie ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, to posiada potężne działania niepożądane.

2.6. PRZYKŁADOWE ZASTOSOWANIE PRZECIWCIAŁ W LECZNICTWIE

Adalimumab jest rekombinowanym ludzkim przeciwciałem monoklonalnym uzyskiwanym przez ekspresję w komórkach jajnika chomika chińskiego, stosowanym w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów o umiarkowanym i ciężkim nasileniu, łuszczycowym zapaleniu stawów, zesztwniającym zapaleniu stawów kręgosłupa oraz chorobie Leśniowskiego-Crohna.

Adalimumab wiąże się swoiście z TNF i neutralizuje biologiczną czynność TNF, blokując jego interakcje z receptorami p55 i p75 na powierzchni

komórki. Moduluje również odpowiedzi biologiczne indukowane lub regulowane przez TNF, w tym zmiany w poziomach cząsteczek adhezji międzykomórkowej, odpowiadających za migrację leukocytów (ELAM-1, VCAM-1 i ICAM-1, wartość IC50 wynosi $1-2 \times 10^{-10}$ M) /36/.

Blinatumomab to biospecyficzne przeciwciało poliklonalne, aktywujące endogenne limfocyty T, łącząc cząsteczkę /antygen/ w kompleksie receptora limfocytu T z cząsteczką CD19 /drugi antygen/ na powierzchni prawidłowych i nowotworowych limfocytów B /37/. Jako przeciwciało poliklonalne uczestniczy w tworzeniu synapsy cytotoxicznej między limfocytami T a komórką nowotworową, w której uwalniane są enzymy proteolityczne niszczące komórki w stanie zarówno proliferacji /wzrostu/, jak i spoczynku.

Jest on wskazany do stosowania w leczeniu dorosłych z nawrotową lub oporną na leczenie ostrą białaczką limfoblastyczną /ALL/.

Kanakinumab jest stosowany w leczeniu okresowych zespołów z mutacją genu NLRP3 zależnych od kriopiryny, w układowym młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów oraz w dnawym zapaleniu stawów /35/.

Katumaksomab jest jednym z ciekawszych przeciwciał – to trójfunkcyjne szczurzo-mysie hybrydowe przeciwciało monoklonalne, wytwarzane w szczurzo-mysiej hybrydowej linii komórek hybrydoma i skierowane swoiście przeciwko dwóm antygenom: cząsteczce adhezyjnej komórek nabłonkowych EpCAM oraz antygenowi CD3 /30/. Trzecie funkcjonalne miejsce wiązania w rejonie Fc katumaksomabu umożliwia interakcję z pomocniczymi komórkami odpornościowymi poprzez receptory Fc gamma. Lek ten wskazany jest w dootrzewnowym leczeniu wodobrzusza nowotworowego u dorosłych z rakami Ep-CAM pozytywnymi.

Rytuksymab /34/, **ofatumumab** /38/ oraz **obinutuzumab** /39/, będące przeciwciałami monoklonalnymi stosowanymi w przewlekłej białaczce limfocytowej przeciwko antygenowi białka CD20, w swej aktywności terapeutycznej wspomagają układ odpornościowy. Wymienione leki stosowane są w immunoterapii, oznaczając chore komórki w celu ich zniszczenia. Antygen CD20 jest przezbłonową fosfoproteiną występującą na powierzchni komórek linii limfocytów B, od komórek pre-B do stadium dojrzałych limfocytów B, oraz na powierzchni komórek guzów wywodzących się z komórek B. Do guzów wywodzących się z komórek B należy przewlekła białaczka limfocytowa, w przypadku której obserwuje się mniejszą ekspresję CD20.

Ofatumumab wiąże się specyficznie z określonym epitopem obejmującym zarówno małą, jak i dużą pętlę zewnątrzkomórkową antygeny CD20. Wiązanie ofatumumabu z epitopem części antygeny CD20 indukuje rekrutację i aktywację dopełniacza na powierzchni komórki, co prowadzi do cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza i w rezultacie do lizy komórek guza. Ten produkt leczniczy indukuje lizę w przypadku komórek zarówno o małej, jak i o dużej ekspresji CD20 oraz komórek opornych na rytuksymab. Ponadto wiązanie ofatumumabu umożliwia rekrutację naturalnych komórek cytotoksycznych /komórek NK/ i tym samym indukuje śmierć komórki poprzez mechanizm cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał.

Obinutuzumab stosowany jest także u chorych wcześniej nieleczonych w PBL w skojarzeniu z chlorambucylem. Działa bezpośrednio na pozakomórkową pętlę antygenu przezbłonowego CD20 na powierzchni niezłośliwych i złośliwych limfocytów B. Glikoinżynieria fragmentu Fc obinutuzumu powoduje wzrost powinowactwa do receptorów Fc gamma RII komórek efektorowych – takich jak komórki NK, makrofagi, monocyty – w porównaniu z przeciwciałami, których nie modyfikowano metodami glikoinżynierii.

Okrelizumab /40/ jest to rekombinowane humanizowane przeciwciało monoklonalne selektywnie skierowane przeciwko limfocytom B z ekspresją antygenu CD20, stosowane w stwardnieniu rozsianym. Limfocyty B z ekspresją antygenu CD20 po połączeniu z okrelizumabem są wybiórczo usuwane w organizmie pacjenta, pozostawiając jedynie zdrowe limfocyty B, a tym samym proces chorobowy jest hamowany. Białka CD20, z którym wiąże się okrelizumab, nie ma na plazmocytach, a to ono odpowiada za pamięć immunologiczną. To przeciwciało nie niszczy odporności nabytej w kontekście np. szczepień, ponieważ nie zaburza długoterminowej pamięci immunologicznej. Może to być wytłumaczeniem wstępnym zapadalności na różne choroby wywoływane przez wirusy i bakterie uśpione w naszych organizmach.

W stwardnieniu rozsianym mamy do czynienia z pacjentami posiadającymi rozregulowany układ odpornościowy: ośrodkowo – w grasicy, i obwodowo – we krwi. Uszkodzenie grasicy powoduje przeżycie komórek autoreaktywnych i poprzez nieprawidłową ich aktywację we krwi skutkuje niszczeniem ośrodkowego układu nerwowego.

Antygen CD20 znajduje się na wybranych limfocytach B, nie ma go na komórkach macierzystych.

Stosowanie takich przeciwciał jak rytuksymab, ofatumumab, obinutuzumab w przewlekłej białaczce limfocytowej czy okrelizumabu w SM pozwala, by zaatakowane limfocyty B mogły się regenerować dla dobra pacjenta. Limfocyty B nie tylko produkują przeciwciała, ale także prezentują antygen limfocytom T. Dochodzi do stymulacji limfocytów T – do szerzenia epitopów, czyli uczulenia na kolejne antygeny mieliny u chorych na SM.

Ewolokumab to przeciwciało monoklonalne klasy IgG2, wskazane do leczenia hipercholesterolemii i dyslipidemii mieszanej, wiąże się wybiórczo z PCSK9 – białkiem ograniczającym usuwanie przez wątrobę LDL, lipoprotein o niskiej gęstości /41/. Podwyższony poziom cholesterolu LDL jest czynnikiem ryzyka powstania chorób układu krążenia. Związanie białka PCSK9 przez ewolokumab pozwala receptorom LDLR na samowychwytywanie nadmiaru LDL występującego w surowicy krwi. Białko PCSK9 oślepia receptory LDLR, w wyniku czego nie mogą one wychwytywać nadmiaru LDL z surowicy krwi. Zablokowanie białka PCSK9 przez ewolokumab pozwala na samoregulację wychwyty nadmiaru LDL z surowicy krwi.

2.7. WYMAGANIA FARMAKOLOGICZNE

Idealne przeciwciało stosowane w leczeniu charakteryzuje się:

- specyficznością docelową,
- stabilnością biologiczną,
- dostępnością biologiczną po podaniu pacjentowi,

- powinowactwem do wiązania z miejscem docelowym – chorą komórką,
 - selektywnością,
 - relatywnie niską immunogennością.
- Tymczasem dobre przeciwciało charakteryzuje się:
- wysoką selektywnością wiązania się z epitopem antygeny komórki nowotworowej,
 - niską immunogennością, czyli brakiem stymulowania w organizmie pacjenta powstawania przeciwciał przeciwko przeciwciału podanemu jako lek – nie stymuluje powstawania innych chorób.

2.8. RYZYKO TERAPII PRZECIWCIAŁAMI

Przeciwciała ludzkie w organizmie człowieka ulegają endocytozie /jeden ze sposobów transportu dużych cząsteczek do wnętrza komórki poprzez tworzenie wakuoli i ich migrację do wnętrza komórki z fragmentem błony komórkowej/. Rozkład przeciwciał ludzkich następuje w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Przeciwciała stanowią szansę dla wielu chorych. Wymagają jednak ordynacji przez doświadczonego lekarza przy jednoczesnej bacznej obserwacji odpowiedzi organizmu chorego. Podjęcie ryzyka substytucji leku będącego wybranym przeciwciałem wymaga bardzo mocnego uzasadnienia merytorycznego.

Efektywność terapii jest najskuteczniejsza przy pierwszym podaniu, kolejne dawki powodowały silną odpowiedź immunologiczną manifestującą się, po pierwsze, szybką degradacją wprowadzanej dawki; a po drugie, poważnymi działaniami niepożądanymi. Ponadto skuteczność terapii z udziałem przeciwciał monoklonalnych zależy od czynników związanych z przeciwciałem, cechą nowotworu, cechą tkanki docelowej, indywidualną reaktywnością pacjenta.

Ograniczeniem immunoterapii przeciwciałami jest niejednakowy rozkład antygeny na powierzchni guza litego. Czasami część antygenów dostaje się do krwi i wiąże przeciwciała, zanim te dostaną się do komórek docelowych. Tymczasem związane z antygenem przed dotarciem do komórek docelowych przeciwciało, będące podawanym lekiem, jest nieprzydatne w stosowanej terapii, zbyt szybko bowiem jest blokowane. I okazuje się, że taki chory nie jest wtedy w ogóle leczony.

Jak wynika z WHO Pharmaceuticals Newsletter /2010.05.10/, przeciwciała monoklonalne podawane w celu supresji /hamowania/ układu immunologicznego mogą wywoływać u niektórych pacjentów głęboką immunosupresję, podczas której dochodzi do rozwoju inwazyjnych zakażeń grzybiczych. Fachowi pracownicy opieki zdrowotnej muszą zatem wnikliwie obserwować pacjenta w czasie leczenia i po nim także. O zakażeniu grzybiczym świadczyć może gorączka, złe samopoczucie, kaszel, duszność, zmiany naciekowe w płucach. W takim przypadku należy bezwzględnie przestrzegać dyscypliny ordynacji przeciwciała oraz wskazań w zakresie badań cytomolekularnych.

I znów posłużmy się konkretnymi przykładami.

Bewacizumab blokuje specyficzne białko VEGF pełniące funkcje w pro-

cesie angiogenezy, czyli wzroście nowych naczyń krwionośnych w obrębie tkanki nowotworowej. Redukcja naczyń krwionośnych w obrębie guza doprowadza do jego zmniejszenia lub zaniku. VEGF to czynnik wzrostu śródbłonna naczyń. Badania wykazały, że mamy dwa białka VEGF: jedno VEGF-165a stymulujące tworzenie naczyń krwionośnych w tkance guza oraz drugie białko VEGF-165b hamujące tworzenie naczyń krwionośnych w obrębie guza /42/. Przy czym bewacizumab blokuje obie formy białka VEGF-165. Przed podaniem tego leku należy zatem zmierzyć poziom białka VEGF-165b hamującego angiogenezę w komórkach nowotworowych pacjenta i jeżeli chory ma niski jego poziom, to bewacizumab będzie w jego przypadku skuteczny, bo zwiąże złe białko VEGF-165a stymulujące angiogenezę w jego tkance nowotworowej. Wobec tego białko VEGF-156 b można uznać za swoisty biomarker skuteczności leczenia bewacizumabem.

Omalizumab, humanizowane przeciwciało monoklonalne otrzymane poprzez rekombinację DNA z linii komórek chomika chińskiego, stosowane jest do leczenia astmy wywołanej za pośrednictwem immunoglobuliny / IgE/ /43/. Zmniejszanie jej poziomu gwarantuje sukces terapeutyczny. Omalizumab wiąże IgE, zmniejszając ilość wolnej IgE uruchamiającej kaskadę alergiczną. Niestety, po wstrzyknięciu podskórnym mogą występować reakcje anafilaktyczne, a po 5 dniach od iniekcji może pojawić się choroba posurowicza, zapalenie stawów.

Panitumumab, wskazany w monoterapii raka jelita grubego z przerzutami wykazującymi ekspresję receptora nabłonkowego czynnika wzrostu EGFR i genu KRAS typ dziki bez mutacji, może indukować zapalenia rogówki i lub wrzodzące zapalenia rogówki /44/.

Daratumumab, stosowany w szpiczaku mnogim, stymuluje różne inne nowotwory /45/.

Okrelizumab, stosowany w SM, zwiększa ryzyko raka piersi.

Wedolizumab, stosowany we wrzodzącym zapaleniu jelita grubego, zwiększa ryzyko indukcji różnych nowotworów /45/.

2.9. NOMENKLATURA PRZECIWCIAŁ TERAPEUTYCZNYCH

Wszystkie przeciwciała w nazwie międzynarodowej mają końcówkę **-mab**. Dla dokładniejszego przedstawienia rodzaju biologicznego źródła pozyskania przeciwciała wprowadzono dodatkowe końcówki:

- przeciwciała pochodzące od **myszy** – **-omab**, np. edrecolomab,
- przeciwciała pochodzące od **szczura** – **-amab**,
- przeciwciała pochodzące od **chomika** – **-emab**.

Końcówki przedstawiające rodzaj zmian dokonanych w celu zmniejszenia ryzyka immunizacji organizmu pacjenta:

- przeciwciało chimeryzowane – **-ximab**, np. cetiximab,
- przeciwciało humanizowane – **-zumab**, np. bewacizumab,
- przeciwciało ludzkie – **-umab**, np. adalimumab.
-

2.10. ZASADY TERAPII PRZECIWCIAŁAMI

Tworzenie leków będących przeciwciałami poprzedzone jest znalezieniem antygeny, który powinien być zablokowany przez przeciwciało, aby spowolnić lub zahamować proces patologiczny zachodzący w organizmie

chorego człowieka. Za taki antygen uznaje się białko, którego nadekspresja występuje w stanie patologicznym, np. w rozwijającym się nowotworzeniu. I takie zasady stosowane są w terapii celowanej. Dochodzi do umyślnego przekierowania leku na cel w chorej komórce.

Jedną z najważniejszych grup produktów leczniczych stosowanym w terapiach celowanych do walki np. z rakiem obok chemicznych drobno-cząsteczkowych inhibitorów są właśnie przeciwciała mono- i poliklonalne. Łączą się one z receptorami zlokalizowanymi na powierzchni komórki i blokują ich aktywność, uniemożliwiając komórce funkcjonowanie. Jeżeli antygen, czyli białko atakowane przez lek będący przeciwciałem, występuje w zdrowych komórkach, to wtedy mamy działania niepożądane: silniejsze, im więcej tego antygenu jest normalnie lub gdy występuje on w wielu szlakach sygnałowych różnych procesów fizjologicznych.

Przeciwciało winno być specyficzne, aby blokować właściwe białko istotne w szlaku sygnałowym rozwoju procesu patologicznego. Niestety, może ono być także niespecyficzne, czyli wiązać się z różnymi białkami istotnymi dla utrzymania fizjologicznej homeostazy, a to znów niesie ryzyko poważnych działań niepożądanych w terapii.

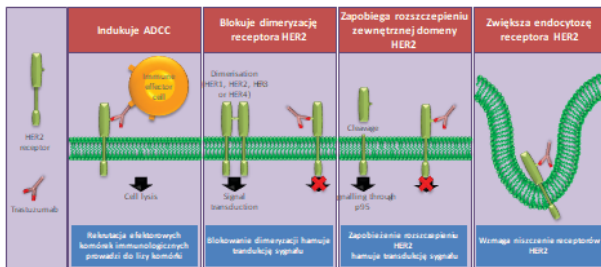
Przykładem niech będzie **trastuzumab**, humanizowane przeciwciało monoklonalne IgG1, produkowane w zawiesinie kultur komórkowych ssaków (jajnika chomika chińskiego) i oczyszczane metodą chromatografii powinowactwa i chromatografii jonowymiennej, włączając specyficzną inaktywację wirusów i procedury usuwania /46/. Lek ten jest wskazany w leczeniu dorosłych pacjentów z HER2 dodatnim rakiem piersi z przerzutami oraz w skojarzeniu z kapecytabiną lub 5-fluorouracylem i cisplatyną w leczeniu dorosłych pacjentów z HER2 dodatnim gruczolakorakiem żołądka z przerzutami.

Trastuzumab łączy się wybiórczo z receptorem ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (receptora HER2) – nadekspresja HER2 występuje w 20%-30% przypadków pierwotnych nowotworów piersi. Badania mające na celu określenie częstości występowania nadekspresji HER2 w raku żołądka z wykorzystaniem badań immunohistochemicznych (IHC) oraz fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) lub chromogenicznej hybrydyzacji *in situ* (CISH) wykazały dużą zmienność w tym zakresie z wartościami od 6,8 do 34,0% dla IHC oraz od 7,1 do 42,6% w przypadku FISH.

Oto ilustracja aktywności trastuzumabu w nowotworze piersi.

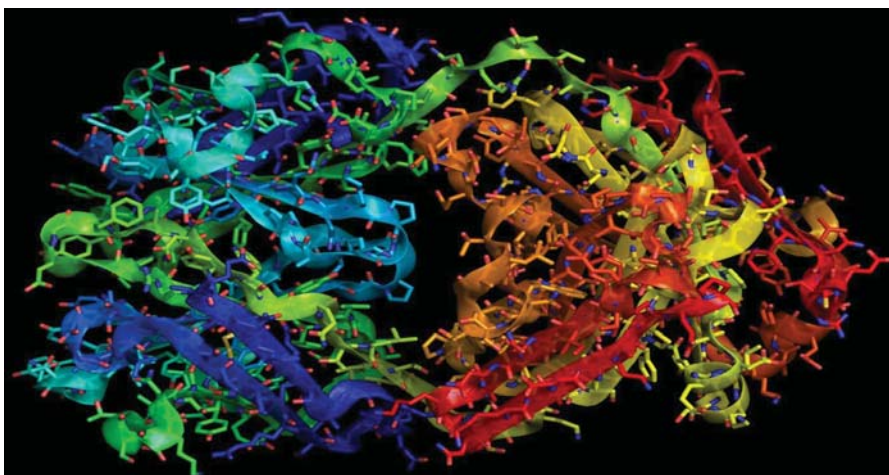


Trastuzumab: leczenie celowane raka piersi HER2+



Huels CA. N Engl J Med 2007;357:39-51

Trastuzumab – sposób łączenia się leku ze zwiększoną ilością receptora HER2.



2.11. RÓWNOLEGŁE STOSOWANIE DWÓCH PRZECIWCIAŁ

Czasami, o ile jest to możliwe, do osiągnięcia lepszych wyników terapeutycznych stosujemy dwa różne przeciwciała blokujące jeden antygen, ale w różnych miejscach dokowania paratopów do epitopów. Przykładowo, pertuzumab /47/ to przeciwciało zbudowane do ataku na ten sam antygen HER2 co inny lek, trastuzumab /46/, wybrany do leczenia skojarzonego. Obie cząsteczki łączą się z receptorem HER2, ale w różnych jego regionach. Pertuzumab to humanizowane przeciwciało monoklonalne dokładnie nacelowane na domenę zewnątrzkomórkową dimeryzacji białka HER2 – jego przyłączenie do receptora HER2 dodatkowo ułatwia układowi odpornościowemu pacjenta znalezienie i zniszczenie komórek nowotworowych. Lek ten sam powoduje hamowanie proliferacji ludzkich komórek nowotworowych, lecz stosowanie go w leczeniu skojarzonym z trastuzumabem zwiększa efektywność przeciwnowotworową całej terapii.

Wykorzystanie przeciwciał monoklonalnych, niestety, nie jest do końca tak idealne, jak by się mogło wydawać. Większość białek powodujących pogłębianie zmian nowotworowych znajduje się wewnątrz komórek, w związku z czym zablokowanie zewnątrzkomórkowego receptora nie może być efektywne. Oczywiście istnieje szereg metod wykorzystujących przeciwciała monoklonalne, które skierowane są do wnętrza komórki, niemniej jednak wymagane są wówczas pewne dodatkowe modyfikacje przeciwciała monoklonalnego.

Sukces w tym zakresie odnieśli badacze z Memorial Sloan Kettering Cancer Center we współpracy z naukowcami z Eureka Therapeutics, którzy stworzyli nowe monoklonalne przeciwciało ESK1, potrafiące łączyć się białkami zlokalizowanymi we wnętrzu komórki. ESK1 zostało stworzone tak, aby imitowało funkcjonowanie receptorów limfocytów T, kluczowych elementów systemu immunologicznego. To limfocyty T bowiem posiadają receptory zdolne do rozpoznawania białek zlokalizowanych wewnątrz komórki. Jeśli dojdzie do zniszczenia struktury białka odpowiedzialnego za regulację procesów wewnątrzkomórkowych, zlokalizowanego wewnątrz komórki, wówczas cząsteczki zwane HLA przenoszą fragmenty zdegradowanego białka na powierzchnię komórki – prezentują zdegradowane białko. I wówczas limfocyty T rozpoznają uszkodzone białko i „zabijają” chore komórki.

Obecne badania pokazują, iż ESK1 jest zdolne samodzielnie rozpoznawać peptyd WT1 wewnątrz komórki i „zabijać” komórki nowotworowe dwóch różnych typów białaczki.

2.12. BIONIUGATY I ICH PRZYKŁADY TERAPEUTYCZNE

Biokoniugaty = ADC /ang. *antibody-drug conjugate*/ są połączeniem przeciwciał z innymi klasami związków. Tymi innymi związkami mogą być radioaktywne izotopy (promieniowanie izotopu może przenikać guz), ale możliwe jest także sprzęganie z toksyną bakteryjną (bezpośrednie oddziaływanie toksyny na guz, bez szkody dla zdrowych komórek), sprzęganie z lekami (bezpośrednie oddziaływanie leku na guz, dodatkowo zmniejsza ilości zużywanego leku), sprzęganie z enzymem, który przekształca spotkany na swojej drodze prolek w lek działający (np. system ADEPT, *antibody directed enzymic prodrug therapy*).

Nowatorskie prace w zakresie biokoniugatów prowadzone były w latach siedemdziesiątych równoległe, ale niezależnie w Polsce i w Stanach Zjednoczonych. W roku 1972 prof. W. Kwapiszewski na Warszawskim Wydziale Farmaceutycznym rozpoczął prace nad nośnikami aminokwasowymi dla cząsteczek leków, tymczasem w roku 1975 amerykański prof. A. Ringsdorf ogłosił teorię podawania leków przez ich łączenie z wykorzystaniem makrocząsteczek takich jak peptydy, białka, polimery. Obaj naukowcy pracowali niezależnie od siebie, nie znając rezultatów swych poszukiwań, oddzieleni żelazną kurtyną.

Filozofią systemu jest dostarczenie do komórek nowotworowych przeciwciała połączonego kowalencyjnie ze specyficznym enzymem, którego zadaniem jest przekształcenie oddzielnie podanego proleku w lek. Naj-

pierw wprowadza się do organizmu pacjenta enzym połączony z przeciwciałem monoklonalnym, który dokuje się na antygenie komórki nowotworowej. Następnie podajemy pacjentowi prolek, który dopiero po dotarciu do komórki nowotworowej za pomocą enzymu przekształca się w bardzo trujący lek, który „zabija” komórki nowotworowe.

Warunkiem koniecznym pozytywnej terapii jest enzym o wysokiej specyficzności wobec proleku. Najczęściej dobieramy takie enzymy, które nie występują fizjologicznie w miejscu przemiany proleku w lek, a są to bakteryjne beta-laktamazy, karboksypeptydazy. Ważne, aby fragment towarzyszący przeciwciału monoklonalnemu w biokoniuagacie ulegał aktywacji nie w układzie krwionośnym, ale dopiero w komórce nowotworowej, a więc po dotarciu np. do guza.

Niezwykle istotny jest także dobór łącznika pomiędzy lekiem a jego nośnikiem, przy czym najlepsze są łączniki stabilne w osoczu krwi, rozkładające się i uwalnijające lek w środowisku kwaśnym nowotworu pod wpływem katepsyn. Mogą nimi być peptydy lub samoodłączające się związki.

W cząsteczce przeciwciała istnieje kilka potencjalnych miejsc, do których możemy podczepiać substraty koniugacji, a mianowicie:

- grupa epsilon aminowa reszty lizyny – powstają wiązania amidowe, do których poprzez wiązania tiolowe przyłączamy substancje zabijające nowotwór; niestety, zbyt duża liczebność zmodyfikowanych grup aminowych lizyny zmienia właściwości przeciwciała;
- wprowadzamy reszty cukrowe w rejon zawiasowy i możemy prowadzić kondensację z grupą aldehydową leku;
- mostek disulfidowy – jego połączenie z lekiem nie wpływa na swoistość przeciwciała; mostki -s-s- są odpowiedzialne za stabilizację przeciwciała.

Łączenie zachodzi poprzez zwykłe wiązanie peptydowe lub poprzez mostki -s-s- bądź proste peptydy – jako haki samowylączające się w środowisku kwaśnym guza nowotworowego.

Przeciwciało w biokoniuagacie samo może być lekiem, ale i równocześnie lokomotywą ciągnącą do konkretnej komórki inny lek lub inne leki. Połączenie np. przeciwciała z cząsteczką chemioterapeutyczną lub izotopem wzmacnia zdecydowanie efekt terapeutyczny i zmniejsza działania niepożądane, w ten bowiem sposób obniżeniu ulega stężenie chemioterapeutyku i np. izotopu w całym organizmie chorego.

A oto przykłady biokoniuatów terapeutycznych.

Trastuzumab emtansine to biokoniuat trastuzumabu z emtanzyną, bardzo agresywnym chemioterapeutykiem /1980 r. opisana synteza/, nie stosowanym samodzielnie z powodu ogromnej toksyczności /48/. Emtanzyna połączona z trastuzumabem spełniającym funkcję leczniczej lokomotywy dostaje się do komórek nowotworowych, nie niszcząc otaczających je zdrowych komórek.

Ibrytumomab tiuxetan znakowany radioizotopem **Itr-90** to biokoniuat składający się z trzech elementów /49/:

- przeciwciała monoklonalnego irytumomab, opracowanego w taki sposób, aby wiązało się z antygenem CD20 występującym na

wszystkich limfocytach B /mechanizm wiązania jest bardzo specyficzny/;

- czynnika chelatującego, zwanego tiuksetan, który kompleksuje zmieszany tuż przed podaniem pacjentowi itr 90Y w postaci roztworu z radioaktywnym chlorkiem itru;
- itr 90Y podany *ex tempore* – czysty emitent cząsteczek beta /elektronów/, którego średni zakres oddziaływania wynosi 5 mm; nie-stety, poza niszczeniem komórek nowotworowych niszczy również sąsiadujące z nimi komórki zdrowe /49/.

Brentuksymab vedotin jest koniugatem przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciwko komórkom nowotworowym z ekspresją CD30, powiązanego kowalencyjnie z aurystatyną E monometylowaną działającą na mikrotubule /50/. Mechanizm działania tego biokoniugatu jest wielostopniowy. Brentuksymab vedotin wiąże się z CD30 komórek nowotworowych, następnie kompleks przenika do przestrzeni lizosomalnej, gdzie aurystatyna uwalnia się i wiąże z tubuliną, rozrywając sieć mikrotubuli w obrębie komórki oraz indukując zatrzymanie cyklu komórkowego, a tym samym powodując apoptozę komórek nowotworowych z ekspresją CD30.

2.13. PREMEDYKACJA W PRZYPADKU PODAWANIA PRZECIWCIAŁ

W tym przypadku premedykacja jest to podawanie leków znoszących negatywne zjawiska związane z leczeniem pacjenta przeciwciałami.

Posłużmy się znów przykładami.

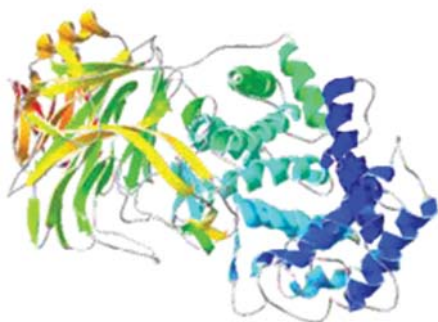
Ofatumumab stosowany w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej odpornej na fludarabinę i alemtuzumab wymaga przed wykonaniem infuzji premedykacji prednizolonem, paracetamolem i cytryzyną p-histaminową /w celu złagodzenia reakcji związanych z infuzją/, do których m.in. zaliczamy: zespół lizy guza; zespół uwalniania cytokin manifestujący się dusznością, skurczem oskrzeli, gorączką, dreszczami i obrzękiem naczyńioruchowym; incydenty sercowe oraz reakcje rzekomoanafilaktyczne. Ponadto zdolność tego ciała monoklonalnego do reaktywacji zakażenia wirusowego zapalenia wątroby HBV wymusza przeprowadzenie diagnostyki w kierunku badań serologicznych.

Ibrytumomab tiuxetan znakowany radioizotopem Itr-90: przed leczeniem konieczna jest premedykacja rytuksymabem /w mniejszej dawce niż w monoterapii/ w celu usunięcia krążących komórek B, co pozwala na bardziej precyzyjne napromieniowanie komórek B chłoniakowych /chłoniak grudkowy/ przez Zevalin znakowany izotopem itr 90Y.

Adalimumab: w czasie leczenia tym produktem należy kontynuować podawanie metotreksatu; można kontynuować podawanie glikokortykosteroidów, salicylanów, niesteroidowych leków przeciwzapalnych lub leków przeciwbólowych.

Przeciwciała są dużymi cząsteczkami i podane podskórnym lub śródskórnym nie wchłaniałyby się, wobec czego efekt terapeutyczny byłby zatrzymany. Aby temu przeciwdziałać, jako dodatek do przeciwciał podawanych miejscowo dodajemy enzym hialuronidazę, który na stosunkowo krótki czas rozkłada hialuronian blokujący wejście dużych cząsteczek do organi-

zmu pacjenta przy iniekcji podskórnej lub śródskórnej. Hialuronian występuje w tkance łącznej w macierzy śródmiąższowej organizmu człowieka i jest to polisacharyd blokujący przepuszczalność macierzy śródmiąższowej, który rozłożony przez odpowiedni enzym, hialuronidazę, odbudowuje się w ciągu kilku dni, nie wywołując skutków zdrowotnych u pacjenta.



Dodawana hialuronidaza jest także otrzymywana na drodze rekombinacji DNA.

Do produkcji podskórnej formy rytuksymabu, trastuzumabu wykorzystano rekombinowany ludzki enzym hialuronidaza /rHuPH20/ w technologii Enhance. Rekombinowana hialuronidaza ludzka występuje także w leku *human normal immunoglobulin*, czyli HyQvia/Baxter, zawierającym w jednej ampułce hialuronidazę rekombinowaną, a w drugiej immunoglobulinę ludzką o szerokim spektrum przeciwciał przeciw czynnikom zakaźnym /51/. Hialuronidaza stosowana jest także samodzielnie w kosmetyce estetycznej przy przedawkowaniu lub usuwaniu nadmiaru kwasu hialuronowego stosowanego jako wypełniacz zmarszczek.

3. Biologiczne leki biopodobne /bionastępcze/

3.1. WPŁYW NA BEZPIECZEŃSTWO PACJENTA – SPECYFIKA WYTWARZANIA BIOLOGICZNYCH LEKÓW REFERENCYJNYCH I BIOPODOBNYCH

Leki biopodobne /ang. *biosimilar*/ to leki biologiczne otrzymywane i dopuszczone do obrotu po wygaśnięciu patentu na referencyjne leki biologiczne.

W przypadku leku biologicznego otrzymanego po okresie ochrony patentowej posługujemy się terminem lek bionastępczy /Polska/, lek biopodobny /Europa/, biofarmaceutyk drugiego wejścia lub bionastępcze leki biologiczne /Kanada/ czy następnny lek biologiczny /Stany Zjednoczone/. Tutaj brak jest jednolitej terminologii obowiązującej na całym świecie i dlatego używa się różnych określeń, np.: *Biosimilar*, *Bioequivalence*, *Biosubstitute*, *Bio-comparative*, *Follow-on-biologics*, *Follow-on-protein*, *Generic biopharmaceutical*, *Biological near Similar*, *Subsequent Entry Biologics /SEBs/*.

W przypadku prostych cząsteczek mówimy o leku referencyjnym /oryginalnym/ oraz jego generyku, czyli leku odwórczym.

Do biologicznych produktów leczniczych zaliczamy związki powstające na drodze biosyntezy, czyli produkcji w kooperacji przemysłowej z organizmami żywymi takimi jak bakterie, komórki ssaków, komórki roślin wyższych lub komórki drożdży. Organizmy te lepiej radzą sobie z produkcją niż my, ludzie, z całą dotychczasową wiedzą farmaceutyczną i chemiczną w zakresie wytwarzania leków. Ta „współpraca” wymuszona naszą niewiedzą nazywa się właśnie biotechnologią.

Załącznik 1 do Dyrektywy 2001/83/EC Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej mówi, że produkt biologiczny to produkt, którego substancją czynną jest substancja biologiczna. Substancja biologiczna to substancja produkowana lub ekstrahowana ze źródła biologicznego.

W EU podstawy prawne opisujące biologiczne leki biopodobne wprowadzono w 2004 roku /EMA/; w Szwajcarii, Turcji, Australii – w 2008; w WHO i Japonii – w 2009; w Kanadzie i Brazylii – w 2010; w Meksyku i Argentynie – w 2011; zaś w Stanach Zjednoczonych – w 2012 roku.

Wytwarzanie leków biologicznych – referencyjnych i biopodobnych – wymaga wiedzy jak każda produkcja. I choć dla wielu może się ono wydawać wiedzą tajemną, dla kształconych w XXI wieku biotechnologów, farmaceutów czy lekarzy jest procesem jak każdy inny – wcale nie takim znów trudnym do odtworzenia. Doskonałą ilustracją niech będzie fakt, że w 2013 roku EMA dopuściła w Wielkiej Brytanii dwa biosimilary zawierające to samo przeciwciało monoklonalne, infliksymab: Remsima /52/ oraz Inflectra /53/, które wciąż są stosowane w leczeniu. Biologicznym lekiem referencyjnym jest Remicade /54/.

3.2. ZMIANY PROCESU WYTWARZANIA DOTYCZĄCE WSZYSTKICH LEKÓW BIOLOGICZNYCH REFERENCYJNYCH I BIOPODOBNYCH

Transfery technologiczne zachodzące na świecie w erze silnie rozwiniętej globalizacji przynoszą *know-how* wszędzie tam, gdzie jest na nie zapo-

trzebowanie. Argumenty niektórych firm, że tylko one potrafią wytwarzać leki biologiczne, może wydawać się obecnie stwierdzeniem ignorującym postęp nauk na świecie.

Występujący w przypadku leków biologicznych i biopodobnych brak 100%-owej powtarzalności produkcji z jednej strony, z drugiej zaś ogromne zapotrzebowanie oraz nadzieje ciężko chorych doprowadziły do decyzji organów kompetentnych dopuszczającej biologiczne leki do obrotu, równocześnie wyznaczając dla każdej cząsteczki leku biologicznego newralgiczne regiony gwarantujące jego skuteczność kliniczną i bezpieczeństwo. Bez dodatkowego uzasadnienia akceptuje się tylko te różnice w budowie, które nie mają wpływu na bezpieczne stosowanie leku.

Leki biologiczne charakteryzuje nieodłączny stopień zmienności w związku z tym, że wytwarzane są przez organizmy żywe o naturalnej zmienności, przez co możliwe jest występowanie pewnych różnic w obrębach jednej lub kilku serii tego samego leku.

Leki biopodobne nie są generykami, czyli wiernymi kopiami leków oryginalnych, ale są do nich jedynie podobne /biopodobne/ pod względem jakości, skuteczności i bezpieczeństwa stosowania. Natomiast nie są one z całą pewnością biorównoważne w rozumieniu biorównoważności generycznej.

Leki biologiczne /np. glikoproteiny/ są złożonymi cząsteczkami i nawet dobrze kontrolowany produkt może składać się z setek (lub więcej) glikoform białka o takiej samej sekwencji aminokwasowej /struktura I-rzędowa/, ale innej kompozycji reszt cukrowych. Dlatego znajomość struktury I-rzędowej, czyli składu aminokwasów, nie jest znajomością całkowitej budowy glikoproteiny.

Porównując szarże tego samego leku biologicznego referencyjnego, mamy akceptowalne różnice. Referencyjny lek biologiczny dzisiaj i 15 lat temu to nie są w 100% identyczne leki.

W przypadku większości powszechnie stosowanych biologicznych leków referencyjnych od momentu ich dopuszczenia do obrotu do dnia dzisiejszego wprowadzono szereg zmian w ich procesie wytwarzania, które skutkowały także niewielkimi zmianami w ich strukturze i aktywności terapeutycznej.

Oto przykłady:

- infliksymab – od 1999 do czerwca 2017 roku przeszedł 190 zmian,
- folitropin alfa – od 1995 do czerwca 2017 roku – 130 zmian /55/,
- rituximab – od 1998 do czerwca 2017 roku – 100 zmian.

Różnice w otrzymywanych lekach biologicznych mogą być także powodowane czynnikami prozaicznymi, jak np. wymiana rodzaju aparatury w ciągu produkcyjnym lub całkowita zmiana miejsca wytwarzania. Dlatego w procesie dopuszczenia do obrotu mamy badany produkt finalny wraz z procesem jego wytwarzania, który również podlega rejestracji i procedurze zatwierdzania zmian przez organy kompetentne.

Na uwagę zasługuje fakt, że zmiany w procesie produkcyjnym /ang. *manufacturing changes*/ referencyjnego białka fuzyjnego Etanereceptu

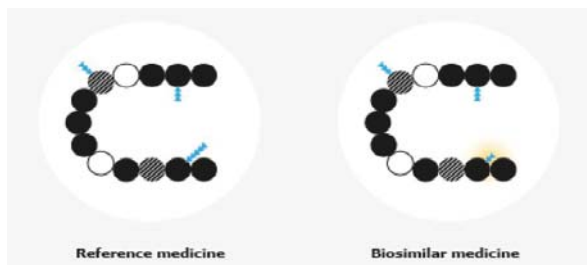
/56/, przeciwciała monoklonalnego Rituximab, nie spowodowały zmiany etykiety leku – „lek nieidentyczny strukturalnie”.

Można zatem wysunąć supozycję, iż każdy pacjent leczony przewlekłe lekiem biologicznym referencyjnym otrzymał więcej niż jedną wersję tego samego produktu leczniczego.

Zmiany procesu wytwarzania dotyczą wszystkich leków biologicznych referencyjnych i biopodobnych, a dzielimy je na:

- niskiego ryzyka, np. zmiany dostawcy filtrów;
- umiarkowanego ryzyka, np. zmiany miejsca wytwarzania, choć w tym przypadku wymagane są dane analityczne, opis procesu i dane stabilności;
- wysokiego ryzyka, np. zmiany linii komórkowych lub postaci leku; w takim przypadku wymagane są dane analityczne, opis procesu, dane stabilności, dane przedkliniczne oraz dane kliniczne.

W przypadku małych cząsteczek jesteśmy w stanie podać wzór chemiczny wyizolowanego związku czynnego warunkującego aktywność terapeutyczną leku. Jednak w lekach biologicznych mamy w ampułce leku gotowego różne izoformy białkowe o nie zawsze znanej w 100% budowie. Lek pozyskany na drodze biotechnologii jest bowiem mieszaniną wielu różnych cząsteczek białkowych (izoform białkowych). Przyczyną takiego stanu rzeczy jest fakt nienadążania dostępnych technik analitycznych za dynamicznym rozwojem biotechnologii.



Odmienność pomiędzy lekiem biopodobnym a lekiem referencyjnym jest porównywalna z tym, co może się zdarzyć pomiędzy różnymi partiami tego samego leku biologicznego. Niewielka odmienność, np. w glikozylacji (na ilustracji:

małe niebieskie trójkąty), jest dopuszczalna, podczas gdy sekwencja aminokwasowa białka (na ilustracji: koła) i aktywność biologiczna są takie same /57/.

W przypadku leków biologicznych referencyjnych i biopodobnych obserwowane różnice lub ich brak nie stanowią dowodu na identyczność struktur białkowych, ale też nikt nie mówi, że referencyjny biologiczny produkt i biopodobny biologiczny produkt są identyczne. One muszą dawać w miarę identyczne, porównywalnie korzystne efekty terapeutyczne.

Nie ulega zatem wątpliwości, że podobnie jak leki generyczne produkty biopodobne stanowią zamienniki produktów biologicznych referencyjnych, ponieważ posiadają identyczny stopień bezpieczeństwa i skuteczności.

W roku 2004 Unia Europejska przyjęła przepisy prawne ustanowione w celu utworzenia postępowania rejestracyjnego podczas wprowadzania leków biopodobnych na rynek. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej nr 726/2004 wskazuje, że biologiczne produkty lecznicze /referencyjne i biopodobne/ muszą być dopuszczone do obrotu w drodze tzw. procedury centralnej.

Rygory dopuszczenia do obrotu biologicznego produktu leczniczego biopodobnego zawarte są w wytycznych CHMP EMA i stosowane w ramach grupy roboczej – produkty lecznicze biologiczne /BWP/ oraz grupy roboczej – produkty lecznicze biopodobne /BMW/:

- 2005 r. wytyczne w sprawie podobnych biologicznie produktów leczniczych,
- 2006 r. wytyczne w sprawie podobnych biologicznie produktów leczniczych zawierających białka pochodzenia biotechnologicznego /zagadnienia kliniczne i niekliniczne/,
- 2007 r. wytyczne w sprawie porównywalności produktów leczniczych pochodzenia biotechnologicznego po zmianie w procesie wytwarzania.

Dobre wyniki analizy bezpieczeństwa stosowania biopodobnych leków biologicznych zezwoliły w 2017 roku na zarejestrowanie biopodobnej enoksaparyny pod nazwą Neoparin w Polsce w procedurze narodowej i centralnej w EMA /58/. Należy przy tym podkreślić, że dzięki stosowanym standardom wytwarzania, kontroli oraz dopuszczania do obrotu biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych nie doszło do sytuacji, w której lek biopodobny zostałby zdyskredytowany w stosunku do swego referencyjnego odpowiednika.

W przypadku produktów biologicznych oraz biopodobnych ze względu na proces wytwarzania niemożliwe jest osiągnięcie biorównoważności – z tego powodu dla oceny dopuszczalności rejestracji produktów biopodobnych stosuje się pojęcie biopodobieństwa. Produkt biopodobny musi być wysoce podobny do produktu referencyjnego w zakresie jakościowym (fizykochemicznym i biologicznym) oraz klinicznym. Kompleksowe badania biopodobieństwa pozwalają wyłącznie na rejestrację tych produktów, które na etapie terapii nie wykazują żadnych istotnych różnic w zakresie skuteczności oraz bezpieczeństwa dla pacjentów. Celem procedury rejestracji jest więc w istocie zapewnienie, że zamiana leków w trakcie terapii nie odbije się negatywnie na pacjencie, ocena produktu biopodobnego dokonywana jest bowiem na podstawie danych dotyczących skuteczności i bezpieczeństwa produktu referencyjnego /57/.

Zgodnie z opinią Komisji Europejskiej oraz Europejskiej Agencji Leków substancja czynna leku biologicznego referencyjnego i leku biologicznego biopodobnego jest zasadniczo tą samą substancją czynną, choć mogą występować niewielkie różnice wynikające ze złożonej struktury i metody wytwarzania. Różnice te są jednak nieistotne klinicznie. Biologiczny lek biopodobny jest używany w takich samych dawkach do leczenia takich samych dolegliwości co biologiczny lek referencyjny, a przy stosowaniu obu leków występują te same działania niepożądane /58/.

Potencjalne różnice między lekiem referencyjnym a biopodobnym są badane na etapie dopuszczania do obrotu. Jeżeli pojawiają się różnice istotne z punktu widzenia bezpieczeństwa, skuteczności bądź jakości, to nie dochodzi do rejestracji leku biopodobnego. A zaawansowana metodyka tych badań pozwala na wykrycie zarówno istotnych, jak i nieistotnych różnic.

W przypadku każdego leku biopodobnego publikowany jest szczegółowy wykaz przeprowadzonych badań porównawczych uwzględniających dane na temat aktywności farmakologicznej i farmakokinetyki. I tak, biologiczne leki referencyjne i biologiczne leki biopodobne mają /58/:

- taki sam mechanizm działania,
- wysoce podobną strukturę oraz właściwości fizykochemiczne,
- porównywalne parametry PK/PD,
- porównywalny profil bezpieczeństwa,
- porównywalną skuteczność.

3.3. CZYSTOŚĆ BIOLOGICZNYCH LEKÓW REFERENCYJNYCH I BIOPODOBNYCH

Zasami spotykamy się z zarzutami o różnym stopniu czystości farmaceutycznej leku referencyjnego i biopodobnego; w domyśle referencyjne są tymi czystymi, biopodobne zaś tymi bardziej zanieczyszczonymi. Praktyka nie potwierdza jednak tego zarzutu. Przykładem niech będzie abcyksymab, fragment Fab chimerycznego przeciwciała monoklonalnego IgG1 – produkt referencyjny zawsze jest zanieczyszczony śladowymi, ale różnymi ilościami papainy jako pozostałościami po procesie produkcyjnym w stopniu zależnym od szarży produkcyjnej /59/.

3.4. IMMUNOGENNOŚĆ BIOLOGICZNYCH LEKÓW REFERENCYJNYCH I BIOPODOBNYCH

Za przyczynę immunogenności leków biologicznych uznaje się /60-62/:

- czynniki związane z budową leku,
- czynniki związane ze sposobem wytwarzania leku,
- zanieczyszczenia trudne do usunięcia,
- agregacja molekuł powstająca np. w trakcie złego przygotowania leku biologicznego do podania pacjentowi,
- modyfikacje potranslacyjne,
- czynniki związane z organizmem pacjenta i od niego zależne.

Pierwszym argumentem przeciwko biologicznym lekom biopodobnym, podnoszonym przez podmioty odpowiedzialne w kontekście referencyjnych leków biologicznych, jest ryzyko negatywnej odpowiedzi immunologicznej ze strony organizmu pacjenta. Organizm człowieka ma bowiem dwa podstawowe rodzaje odpowiedzi immunologicznej:

- reakcja na obce białka, tzw. neoantygeny – jest ona porównywalna z odpowiedzią immunologiczną na szczepionki, czyli stanowi normalną odpowiedź obronną układu immunologicznego;
- immunogenność w stosunku do własnych antygenów – zaliczana jest do niepożądanego odpowiedzi immunologicznej przeciwko własnemu białkom, tzw. choroby z autoagresji.

Każdy człowiek ma specyficzną dla siebie tolerancję na własne antygeny. Wzmocnienie tej tolerancji następuje w wyniku replikacji /namnażania się/ własnych antygenów, do których coraz bardziej przyzwyczajają się nasz układ odpornościowy. Jest to proces prawidłowy, oparty na zasadzie rozróżnienia „swego od obcego”. Antygeny obce pojawiające się w naszym organizmie są rozpoznawane przez limfocyty B. Takie połączenie typu ligandu obcego antygeny z limfocytami B jest z kolei rozpoznawalne przez limfocyty T. W następstwie takiego rozpoznania związany ligandowo limfocyt B wydziela neutralizujące przeciwciała przeciwko obcemu antygenowi. Zneutralizowany obcy antygen pożerany jest przez makrofagi, komórki żerne wywodzące się z monocytów, czyli z grupy leukocytów – białych komórek krwi.

Ten opisany fizjologiczny mechanizm odpowiedzi organizmu człowieka na obcy antygen jest powodem problemów w leczeniu pacjentów biologicznymi lekami. Biologiczny lek jest bowiem traktowany przez organizm pacjenta jako obcy antygen. Dochodzi zatem do produkcji przeciwciał pacjenta przeciwko biologicznemu leкови, które wspólnie z białkami endogennymi, zwanymi inaczej białkami natywnymi, próbują blokować biologiczny lek, aby makrofagi mogły je zniszczyć. Jeżeli taki proces jest procesem większościowym, to wszystko wygląda tak, jak byśmy w ogóle nie leczyli pacjenta, bo ta część leku, która zostanie niezniszczona, jest w zbyt małej ilości, by zagrozić komórkom rakowym w organizmie chorego.

Ten proces ma jednak „drugie dno”, polegające na dezaktywacji białka endogennego, co prowadzi do ataku własnych limfocytów B pacjenta na własne antygeny. Następuje szereg zjawisk zagrażających życiu pacjenta, i mówimy tu o poważnych działaniach niepożądanych po podaniu biologicznego leku. Aby temu zapobiec, producenci biologicznych leków prowadzą procesy chimeryzacji, humanizacji lub wytwarzają przeciwciała lecznicze jako białka w pełni ludzkie. Takie zmiany dotyczą przede wszystkim struktury I-rzędowej, czyli sekwencji aminokwasów w łańcuchach peptydowym.

W trakcie prowadzonych badań okazało się, że czynnikiem mogącym stymulować atak układu immunologicznego pacjenta na biologiczny lek przyjmowany przez chorego jest glikozylacja, czyli proces towarzyszący syntezie głównej struktury przeciwciała leczniczego.

Polega on na doczepianiu bocznych reszt cukrowych do głównego łańcucha białkowego.

Problemem produkcyjnym jest to, że ta czynność jest słabo kontrolowana przez człowieka i komórki robotnice wodzą za nos wytwórców biologicznych leków. Doczepione reszty cukrowe w procesie glikozylacji wpływają na aktywowanie układu immunologicznego pacjenta na podawane mu w celu terapeutycznym przeciwciała lecznicze.

Patrząc na opisane zjawiska, lepiej rozumiemy teraz, dlaczego przy produkcji biologicznych leków muszą być stosowane wysokie standardy jakości wytwarzania, a proces wytwarzania sam w sobie stanowi niezależny element dopuszczenia do obrotu tych produktów leczniczych /58/. Czasami zdarza się, że mimo wysokiej jakości leku biologicznego oryginalnego czy biopodobnego układ immunologiczny pacjenta rozpoznaje re-

kombinowane białko jako wrogi antygen. Dzieje się tak często u pacjentów z współistniejącą równolegle chorobą autoimmunologiczną. Drugim elementem trudnym do przewidzenia jest indywidualne podłoże genetyczne pacjenta, warunkujące odpowiedź organizmu na lek.

Allel głównego układu zgodności tkankowej MHC wpływa na rozpoznawanie gospodarza w odpowiedzi antygenowej przebiegającej za pośrednictwem limfocyту T.

Stwierdzono, że immunogenność leku biologicznego jest mniejsza, gdy lek podawany jest dożylnie, niż gdy ten sam lek pacjent otrzymuje podskórnice. Z drugiej strony pacjenci uważają, że podanie podskórne zamiast dożylnego uważane jest za bardziej komfortowe. Należy także pamiętać, że zwiększenie dawki lub przedłużenie terapii lekiem biologicznym może zwiększyć ryzyko immunogenności. A tej nie sposób przewidzieć, zaś stosowane testy nie mogą być uznane jako stuprocentowy prognostyk.

W praktyce badawczej nad lekami stosuje się m.in.:

- test radioimmunoprecypitacyjny,
- test immunoenzymosorbcyjny,
- biotesty do rozpoznawania przeciwciał neutralizujących,
- badania z wykorzystaniem rybek akwaryjnych danio przegowane.

Do oceny leków biologicznych stosuje się też badania *in vitro* na próbkach surowicy od pacjentów. Reakcja z surowicą ujawnia jednak tylko potencjał antygenowy, a nie potencjał immunogeny białka. Dlatego wyniki *in vitro* tego badania nie zawsze przekładają się na podobny wynik *in vivo*.

Wszystkie leki biologiczne referencyjne i biopodobne mają bardzo szczegółowy indywidualny program zarządzania ryzykiem /ang. *Risk Management Plan*/, w którym kluczowym problemem bezpieczeństwa jest immunogenność. Niestety, może ona prowadzić do przełamania tolerancji na antygeny własne, a to może mieć poważne konsekwencje.

Badanie immunogenności leku referencyjnego i biopodobnego odbywa się na każdym

etapie badań nad lekiem. Zakres badań przed rejestracją leku dotyczy /63-65/:

- częstości występowania przeciwciał ADA /przeciwciała przeciwko lekowi/,
- miana przeciwciał ADA,
- zdolności do neutralizowania leku /NAB – przeciwciała neutralizujące/,
- utrzymywania się ADA,
- zależności pomiędzy występowaniem przeciwciał ADA a skutecznością i bezpieczeństwem leku.

3.5. POTENCJALNE ZAGROŻENIA DLA PACJENTA PRZYJMUJĄCEGO BIOLOGICZNY LEK BIOPODOBNY WYNIKAJĄCE Z PRODUKCJI W ORGANIZMIE CHOREGO PRZECIWCIAŁ PRZECIWKO LEKOWI /ANG. ADA/

Potencjalnym zagrożeniem dla pacjenta leczonego lekiem biologicznym jest powstawanie przeciwciał przeciwko stosowanemu lekowi. Ten problem ma jednak znaczenie dopiero w sytuacji wysokiego miana przeciwciał ADA.

Samo ich pojawienie nie stanowi bowiem zagrożenia. Stymulacją powstawania tych przeciwciał są zanieczyszczenia towarzyszące biologicznym lekom, które mogą pobudzać limfocyty B do produkcji przeciwciał kierowanych przeciwko lekowi.

W trakcie procedur rejestracyjnych biologicznych leków sprawdza się zanieczyszczenia pod kątem jakościowym i ilościowym – biologiczny lek biopodobny może mieć tylko takie zanieczyszczenia, które zostały już zaakceptowane przy rejestracji jego produktu referencyjnego. Istotny był także czas, jaki upłynął od dopuszczenia do obrotu cząsteczki referencyjnej do daty dopuszczenia cząsteczki biopodobnej, służył on bowiem do analizy bezpieczeństwa zaakceptowanych zanieczyszczeń. Brak wykluczeń dotyczących zanieczyszczeń leku referencyjnego powodowanych bezpieczeństwem pacjenta pozwala na bezpieczne stosowanie leku biopodobnego.

Alarm pojawia się w sytuacji wykrycia innych zanieczyszczeń w leku biopodobnym w stosunku do leku referencyjnego, powodujących istotny wzrost miana ADA. Niebezpieczeństwo negatywnych reakcji układu odpornościowego ze strony limfocytów T jest kontrolowane poprzez identyczną strukturę I-rzędową biologicznego leku referencyjnego i biologicznego leku biopodobnego.

Aktywacja limfocytów T nie powinna bowiem wystąpić przy zamianie porównywalnych leków biologicznych, referencyjnego na biopodobny, ponieważ struktura I-rzędowa (sekwencja aminokwasów) jest identyczna, epitopy limfocytów T mają strukturę linearną.

Przykład 1: leczenie pacjentów z hemofilią A produktami leczniczymi zawierającymi czynnik VIII.

Czynnik VIII odpowiada za prawidłowe krzepnięcie krwi, a jego brak powoduje hemofilię A. Produkty lecznicze zawierające czynnik VIII dzielimy na dwie klasy, za kryterium biorąc rodzaj substancji czynnej:

- klasa A – ludzki czynnik krzepnięcia krwi izolowany z osocza ludzkiego; lek biologiczny otrzymany na drodze izolacji materiału biologicznego;
- klasa B – biologiczne leki otrzymane na drodze rekombinacji DNA: efmoroktokog alfa, moroktokog alfa, oktokog alfa, simoktokog alfa, turoktokog alfa.

Jedną z reakcji ubocznych na wymienione leki jest powstawanie przeciwciał neutralizujących, tzw. inhibitorów osłabiających działanie w kierunku krzepnięcia krwi, co prowadzi do uniemożliwienia efektywnej kontroli krwawień. U blisko jednej na trzy osoby z ciężką hemofilią typu A może pojawić się inhibitor czynnika krzepnięcia VIII, powodując u nich większe ryzyko zagrażających życiu krwotoków lub nawracających epizodów krwotocznych, które mogą doprowadzić do długotrwałych uszkodzeń stawów. Osoby z hemofilią typu A, u których stwierdzono występowanie inhibitora czynnika krzepnięcia krwi VIII, są o 70% bardziej zagrożone zgonem w porównaniu z pozostałymi pacjentami.

EMA uznała w dokumencie nr EMA/603417/2017, że nie ma wyraźnych i spójnych dowodów wskazujących na różnice w częstości rozwoju

inhibitora pomiędzy klasą izolowanego z ludzkiego osocza czynnika VIII a jego odpowiednikami wytwarzanymi w procesie biotechnologicznym metodą rekombinacji DNA. Przed zajęciem stanowiska EMA analizowała dane pozyskane z wielu badań /66-71/.

Na uwagę zasługuje fakt, że EMA dopuściła do obrotu w 2017 roku produkt leczniczy emicizumab, przeciwciała monoklonalne we wskazaniu rutynowej profilaktyki epizodów krwotocznych u osób z hemofilią typu A z występującym inhibitorem czynnika krzepnięcia krwi VIII /69/. Lek ten wykazywał wyższą skuteczność w porównaniu z wcześniejszymi terapiami koncentratami omijającymi inhibitor BPA w profilaktyce lub w razie konieczności /72/.

Zjawisko immunogenności jest w tej chorobie „normą”, jednak wyniki ostatnich badań wskazują, że zmiany pomiędzy różnymi rekombinowanymi czynnikiemami nie zwiększają istotnie ryzyka powstania ADA.

Przykład 2: leczenie interferonami-beta (1a oraz 1b) pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

Interferon-beta-1a i interferon-beta-1b mają inną sekwencję aminokwasową, inne modyfikacje potranslacyjne i inne drogi podania /73/. W jednym badaniu (randomizowanym) wykazano, że zmiana pomiędzy interferonami nie wpływała na wysokość miana przeciwciał ADA.

W dyskusjach z organizacjami pacjentów i lekarzami immunogenność leków biologicznych biopodobnych jest stosowana jako koronny argument przeciwko ich stosowaniu bądź służy znacznemu ograniczeniu ich stosowania pomimo braku doniesień o zwiększonej immunogenności biologicznych leków biopodobnych. Często zapominamy, że immunogenność jako taka towarzyszy wielu innym bardzo ważnym lekom, czasami o bardzo prostych cząsteczkach, i nigdy nie była używana jako dowód na potrzebę zaniechania ich stosowania w terapii. Immunogenność dotyczy wielu leków spoza obszaru leków biologicznych i nie stanowi problemu ze stosowaniem ich zamienników.

Przykłady powstawania przeciwciał w związku z podawaniem leków z obszaru różnych grup terapeutycznych:

- 1/ Produkt leczniczy karboplatyna indukuje w organizmie pacjenta przeciwciała przeciwko sobie, a mimo to lek jest stosowany powszechnie w onkologii. Pojawiająca się u pacjentów niedokrwistość hemolityczna powstaje w wyniku indukcji przeciwciał /74/.
- 2/ Obecność przeciwciał neutralizujących stwierdzono w trakcie leczenia interferonem beta-1b, co wiązało się ze zmniejszeniem skuteczności klinicznej interferonu beta-1b w odniesieniu do rzutowej choroby SM /75/. Podobnie referencyjny interferon beta-1a u ok. 8% pacjentów wytwarza przeciwciała neutralizujące zmniejszające aktywność terapeutyczną w leczeniu SM i SR, czyli w nawrotowym stwardnieniu rozsianym /75/.
- 3/ Dzięki kontroli immunogenności produktu leczniczego minoksydyl w listopadzie 2016 r. nastąpiła zmiana w charakterystyce produktu leczniczego: dodano zapis o pojawiającym się zaburzeniu układu immunologicznego, rejestrowanym jako obrzęk twarzy, warg, gardła,

który utrudnia oddychanie lub połykanie. Produkt leczniczy minoksydyl jest mimo to nadal stosowany, bo korzyści terapeutyczne przeważają nad ryzykiem działań niepożądanych /76/.

- 4/ Selektywne inhibitory wychwytu serotoniny SSRI, takie jak citalopram, mimo iż powodują zaburzenia układu immunologicznego, są stosowane w leczeniu pacjentów z depresją /77/.
- 5/ Walproinian sodowy stosowany w leczeniu padaczki może prowadzić do ujawnienia się choroby immunologicznej, co jednak nie eliminuje leku /78/.
- 6/ Sertralina stosowana w leczeniu depresji wywołuje zaburzenia układu immunologicznego występujące w trakcie kuracji lub po jej zakończeniu i jest stosowana nadal z dobrym rezultatem w postaci wielu generyków /79/.

Immunogenność nie zdyskredytowała wymienionych leków, stąd pytanie dlaczego jej ryzyko miałyby ograniczać dostępność do tańszych leków biologicznych biopodobnych i czemu immunogenność biosimilarów jest nierzadko rozpowszechniana jako swoisty straszak, mający na celu zmniejszenie do terapii biologicznymi lekami biopodobnymi. Tymczasem biologiczne leki referencyjne dopuszczane do obrotu w ostatnich 5 latach same mają coraz wyższą immunogenność, np. romiplostym /białko fuzyjne/ ma immunogenność na poziomie 8% /31/; katumaksomab /przeciwciało monoklonalne trójfunkcyjne/ ma immunogenność na poziomie 5% /30/.

Wydaje się, że dzisiaj immunogenność jako taka nie powinna być koronnym argumentem przeciwko biosimilarom.

Ogólnie rzecz ujmując, immunogenność dzieli się na zwykłą i neutralizującą, przy czym samo pojawienie się przeciwciał czy też przeciwciał neutralizujących nie oznacza jeszcze, że następuje utrata skuteczności terapeutycznej lub dochodzi do zmian farmakokinetycznych. Przykładem jest sekukinumab, w pełni ludzkie przeciwciało monoklonalne wytworzone przez komórki jajnika chomika chińskiego, skierowane przeciwko interleukinie-17A /80/. U pacjentów chorych na łuszczycę plackowatą, łuszczycowe zapalenie stawów, zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, leczonych przez 52 tygodnie sekukinabem, stwierdzano czasami pojawianie się przeciwciał, z czego połowa to były przeciwciała neutralizujące. Ich pojawienie się nie wiązało się jednak z utratą skuteczności terapeutycznej ani ze zmianami farmakokinetycznymi czy zmianami profilu bezpieczeństwa leku /80/, a zatem nie mogło być argumentem za odrzuceniem terapii. Istotne raczej jest stwierdzenie pojawiających się przeciwciał, w tym przeciwciał neutralizujących.

Przykładem kolejnym niech będzie alemtuzumab, przeciwciało monoklonalne uzyskiwane w zawiesinie zmodyfikowanych metodą rekombinacji DNA komórek ssaczych hodowanych na podłożu odżywczym, skierowane przeciwko glikoproteinie błony komórkowej CD52 i stosowane u dorosłych pacjentów z aktywną rzutowoustępującą postacią stwardnienia rozsianego /81/. Autoprzeciwciała przeciwko alemtuzumabowi zwiększają ryzyko wystąpienia choroby autoimmunologicznej, w tym immunologicznej płamicy małopłytkowej, chorób tarczycy lub, rzadziej, nefropatii. Immunologicz-

na płamica małopłytkowa ujawnia się zazwyczaj w okresie od 14 do 36 miesięcy po pierwszej ekspozycji na produkt leczniczy. Jednym z wielu objawów plamicy małopłytkowej jest krwioplucie, które może także wskazywać na inną chorobę autoimmunologiczną, wywołaną przez przeciwciała przeciwko błonie podstawowej kłębuszków nerkowych towarzyszących terapii alemtuzumabem. Dlatego w takich uzasadnionych przypadkach jak leczenie lekiem biologicznym referencyjnym lub jego lekiem biologicznym biopodobnym konieczne jest przed rozpoczęciem leczenia, a następnie co miesiąc przez 48 miesięcy od ostatniej infuzji wykonywanie badania morfologicznego krwi z rozmazem. Nefropatia, w tym choroba z obecnością przeciwciał przeciwko błonie podstawowej kłębuszków nerkowych /choroba anti-GBM/, pojawia się zazwyczaj w ciągu 39 miesięcy po ostatnim podaniu alemtuzumabu /81/.

Przedstawione przykłady wskazują na istnienie ryzyka pojawiania się chorób autoimmunizacyjnych w odległych okresach, nawet paroletnich, po podaniu leków biologicznych, i to bez względu na to, czy są to leki referencyjne, czy biopodobne.

Analizowany stosunek korzyści do ryzyka zezwala na stosowanie leków biologicznych referencyjnych i biopodobnych, stawiając przed systemem służby zdrowia poważne wyzwania odnośnie do długiej obserwacji byłych pacjentów.

Stymulacja innych chorób przez leki biologiczne, takich jak choroby zakaźne lub nowotworowe, nadal nie zaburza stosunku korzyści do ryzyka z powodu braku alternatywy terapeutycznej.

Nowe biologiczne leki referencyjne wykazują nowe działania niepożądane o podłożu immunologicznym, nie należy ich jednak mylić z immunogennością. Przykładowo, pembrolizumab jest bardzo ciekawym lekiem immunoterapeutycznym stosowanym w immunoonkologii. Jego immunogenność jest niewielka – 0,4-1,7% pacjentów ma przeciwciała, które nie zmieniają farmakokinetyki ani profilu bezpieczeństwa leku. Do najcięższych działań niepożądanych pembrolizumabu należą te o podłożu immunologicznym: zapalenie płuc pochodzenia immunologicznego, zapalenie jelita grubego pochodzenia immunologicznego, zapalenie wątroby pochodzenia immunologicznego, zapalenie nerek pochodzenia immunologicznego, endokrynopatie pochodzenia immunologicznego itd. /82/.

3.6. PORÓWNANIE DWÓCH PRZECIWCIAŁ MONOKLONALNYCH ORAZ JEDNEGO BIAŁKA FUZYJNEGO, BĘDĄCYCH INHIBITORAMI TNF ALFA

Inhibitory TNF alfa, a po polsku inhibitory kachektyny, są stosowane w chorobach autoimmunizacyjnych, takich jak np. choroby reumatyczne, wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Leki zaliczane do tej grupy terapeutycznej są:

- referencyjnym humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym IgG1 – infliksymab /Remicade/;
- białkiem fuzyjnym Etenarecept, zawierającym domenę Fc ludzkiej immunoglobuliny IgG1 z regionem zawiasowym CH2 i CH3 oraz

przetworzonego receptora p75 ludzkiego czynnika martwicy nowotworów wytwarzanych metodą rekombinacji DNA;

- referencyjnym chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym IgG1 – golimumab /83/;
- biopodobnym humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym IgG1 – infliksymab Remsima.

Wszystkie wymienione produkty lecznicze – mimo iż posiadają zdecydowanie różną budowę oraz różne specyficzne mechanizmy blokowania szlaku sygnałowego TNF alfa – charakteryzują się:

- bardzo podobnymi efektami terapeutycznymi,
- bardzo podobnymi działaniami niepożądanymi,
- bardzo podobnymi przeciwwskazaniami i specjalnymi ostrzeżeniami oraz środkami ostrożności dotyczącymi stosowania.

W chorobach autoimmunizacyjnych do praktyki klinicznej należą zamiany leków biologicznych o innej budowie, ale pochodzących z tej samej grupy terapeutycznej. Obserwujemy te same efekty kliniczne u różnych pacjentów leczonych przewlekłe.

Zmiana jednego anty TNF na drugi jest rekomendowana w sytuacji nieskuteczności lub działań niepożądanych. Wyniki badań wskazują, że zamiany pomiędzy anty TNF są bezpieczne i skuteczne /84/.

Szczegółowe porównanie dwóch przeciwciał monoklonalnych, golimumabu i infliksymabu – będących inhibitorami TNF alfa w zakresie wskazań, przeciwwskazań, specjalnych ostrzeżeń i środków ostrożności dotyczących stosowania, interakcji pomiędzy lekami, zaburzeń układowych, mechanizmów działania – pozwala na stwierdzenie, że skoro dwa częściowo różne referencyjne przeciwciała monoklonalne mają tyle podobieństw, to dlatego ich biopodone formy mają przynosić krzywdę pacjentom.

Główne cztery wskazania do stosowania golimumabu i infliksymabu są identyczne, a są to:

- RZS z metotreksatem,
- łuszczykowe zapalenie stawów,
- zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa,
- wrzodziejące zapalenie jelita grubego, przy czym w przypadku Remicade dodatkowo stosuje się go w chorobie Leśniowskiego-Crohna i łuszczycy.

Przeciwwskazania są identyczne dla golimumabu i infliksymabu, a są to:

- nadwrażliwość na substancję czynną,
- czynna gruźlica lub inne zakażenia, takie jak posocznica czy zakażenia oportunistyczne,
- umiarkowana i ciężka niewydolność serca klasy III/IV wg. NYHA.

Specjalne ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczące stosowania są identyczne dla golimumabu i infliksymabu i obejmują:

- zakażenia,
- gruźlicę,
- wznowę wirusowego zapalenia wątroby typu B, nowotwory złośliwe i choroby limfoproliferacyjne, chłoniaki i białaczki,

- nowotwory skóry,
- zastoinową niewydolność serca,
- przypadki neurologiczne SM,
- zjawiska autoimmunizacyjne.

Interakcje golimumabu i infliksymabu z innymi lekami także są identyczne i:

- nie zaleca się stosowania z innymi lekami biologicznymi,
- nie zaleca się stosowania szczepionek zawierających żywe drobnoustroje,
- nie należy podawać czynników zakaźnych o zastosowaniu terapeutycznym.

Golimumab i infliksymab wywołują takie same zaburzenia:

- krwi i układu chłonnego,
- układu immunologicznego,
- psychiczne,
- układu nerwowego,
- oka,
- serca,
- naczyńiowe,
- układu oddechowego, klatki piersiowej i śródpiersia,
- żołądka i jelit,
- wątroby i dróg żółciowych,
- skóry i tkanki podskórnej,
- mięśniowo-szkieletowe i tkanki łącznej,
- nerek i dróg moczowych,
- ogólne i stany w miejscu podania, czyli miejscowe reakcje na iniekcje,
- pasożytnicze,
- nowotwory łagodne, złośliwe i nieokreślone;

przy czym Simponi ma dodatkowo:

- zaburzenia endokrynologiczne /tarczyca/,
- zaburzenia metabolizmu i odżywiania/wyższy poziom glukozy we krwi/,
- urazy złamania kości.

Mechanizm działania także jest prawie identyczny: golimumab i infliksymab są inhibitorami czynnika martwicy nowotworu alfa – TNFalfa, które wiążą się z rozpuszczalną i przezbłonową /transbłonową/ formą ludzkiego czynnika martwicy nowotworu. Ponadto zapobiegają wiązaniu cytokiny prozapalnej TNF alfa /kachetyny/ z receptorami dla TNF, glikoproteinami: TNFRI i TNFRII.

Golimumab zmniejsza stężenie:

- interleukiny IL6,
- interleukiny IL8,
- cząsteczek ICAM-1,
- metaloproteinazy /MMP-3 /,
- czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów GM-CSF,
- białka C-reaktywnego /wysokie stężenie białka CRP w surowicy jest wskaźnikiem stanu zapalnego/,
- czynnika wzrostu komórek śródbłonka naczyniowego VEGF.

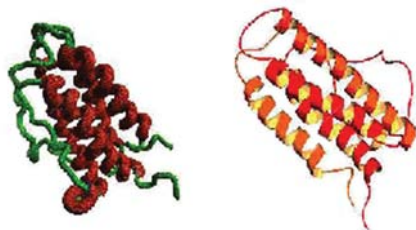
Infliksymab nie wiąże się TNF beta /limfotoksyną/ w formie alfa i zmniejsza stężenie:

- interleukiny IL6,
- białka C-reaktywnego /CRP/ w surowicy;

następowało też zwiększenie hemoglobiny u pacjentów z RZS, którzy wyjściowo mieli obniżone stężenie hemoglobiny.

W podobnym kierunku poszło badanie EGALITY uwzględniające zamiany 3 leków: etenareceptu, infliksymabu referencyjnego i biopodobnego. Wykazano daleko idące bezpieczeństwo substytucji.

3.7. EPOETYNY BİOPODOBNE



Dzisiaj mamy jedną erytropoetynę alfa jako biologiczny lek referencyjny pod nazwą Eprex oraz 3 biopodobne epoetyny alfa. Dodatkowo dopuszczono do obrotu inne epoetyny: beta (1), theta (2), zeta (2) – w tych samych wskazaniach do stosowania co erytropoetyna alfa /85/.

Wszystkie 8 epoetyn ma identyczną sekwencję aminokwasową, ale podobne, choć różne układy węglowodanów z powodu różnego przebiegu procesu glikozylacji. Można je stosować wymiennie bez pogorszenia efektu klinicznego i bez konieczności modyfikacji dawki.

Znaczące było badanie kliniczne, w którym obok epoetyny alfa – leku referencyjnego – zastosowano biopodobną epoetynę zeta /86/. Wzięło w nim udział 481 pacjentów i przebiegało ono w ciągu 24 i 56 tygodni (dwuetapowo). Punktami końcowymi badania klinicznego były:

- średni poziom hemoglobiny;
- średnia dawka stosowanej epoetyny do uzyskania oczekiwanego efektu terapeutycznego;
- tolerancja leczenia.

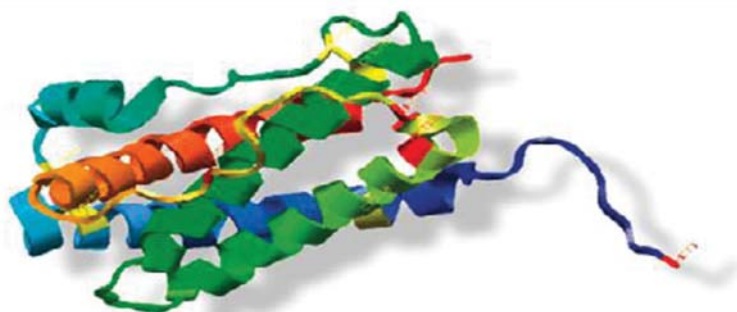
Badanie potwierdziło możliwość substytucji biologicznych erytropoetyn bez względu na ich referencyjność czy biopodobność wytwarzania.

W wersji z 2014 roku charakterystyki erytropoetyny theta znalazł się zapis zaakceptowany przez EMA i Komisję Europejską /87/, który mówił: „jeżeli epoetynę theta podaje się jako zamiennik innej epoetyny, należy ściśle monitorować stężenie hemoglobiny i stosować tę samą drogę podawania”. Ten zapis ma znamiona usankcjonowania zamienności epoetyn przez organy kompetentne w EU, ponieważ jest uznany w tej charakterystyce we wszystkich krajach EU i EOG.

3.8. FILGRASTYM BİOPODOBNY /88/

Mamy na rynku EU 8 biopodobnych leków z filgrastymem jako substancją czynną, poza tym 1 referencyjny filgrastym pod nazwą Neupogen występujący w 5 różnych dawkach.

Granulocyte-Colony Stimulation Factor (G-CSF)



Budowa cząsteczki G-CSF

Upraszczanie Tomasz Ł. Mójca

SANDOZ

Leki biopodobne filgrastymu dopuszczone do obrotu w Unii Europejskiej i powszechnie na jej terenie stosowane to:

- Accofil – w 6 dawkach,
- Grastofil – w 4 dawkach,
- Nivestim – w 3 dawkach,
- Tevagrastim – w 6 dawkach,
- Zarzio – w 4 dawkach,
- Biograstim – brak na rynku w Polsce, obecny w Niemczech,
- Filgrastim Hexal – brak na rynku w Polsce, obecny w Niemczech,
- Ratiograstim – brak na rynku w Polsce, obecny w Niemczech.

Wymienione produkty lecznicze mają identyczne struktury pierwszo-, drugo- i trzeciorzędowe, poza tym identyczne: hydrofobowość, ładunek elektryczny, wiązania i biologiczną aktywność.

3.9. EKSTRAPOLACJA WSKAZAŃ W PROCESIE REJESTRACJI BIOLOGICZNYCH LEKÓW BIOPODOBNYCH

Porównawcze badania kliniczne równoważności w celu potwierdzenia biopodobieństwa w stosunku do referencyjnego leku biologicznego wymaga większej liczby pacjentów niż w badaniach klinicznych nowego leku biologicznego, to zaś prowadzi do wzrostu kosztów i znacznego wydłużenia czasu wejścia leku na rynek.

Ekstrapolacja wskazań w procesie rejestracji biologicznych leków biopodobnych polega na rozszerzeniu rejestru wskazań leku, w których nie był on oceniany w badaniach klinicznych. Procedura ta ma jednak racjonalne uzasadnienie i odgrywa istotną rolę w badaniach porejestracyjnych rozwojowych. EMA przyjęła ideę ekstrapolacji danych dla leków biopodobnych pod warunkiem właściwego ich uzasadnienia. A zatem jeżeli lek biopodobny /bionastępczy/ wykazuje właściwą porównywalność z produktem

innowacyjnym w jednym wskazaniu, uzasadnione może być rozszerzenie rejestracji leku biopodobnego na wszystkie wskazania produktu innowacyjnego. W takiej sytuacji producent leku bionastępczego musiałby dostarczyć odpowiednie naukowe wyjaśnienie wygenerowane w wiarygodnych badaniach porównywalności. Natomiast gdy mechanizm działania leku jest różny dla różnych wskazań, podmiot odpowiedzialny w kontekście leku bionastępczego jest zmuszony do przedłożenia dodatkowych danych klinicznych.

Do reguł pozwalających na ekstrapolację wskazań w procedurze centralnej po uprzednim potwierdzeniu należą reguły:

- identycznego mechanizmu działania,
- immunogenności = bezpieczeństwa stosowania,
- skuteczności terapeutycznej,
- dobrej jakości leku.

Celem wprowadzenia ekstrapolowania wskazań było to, aby nie prowadzić zbędnych badań klinicznych nie do końca uzasadnionych etycznie oraz trwających latami, co uniemożliwiłoby praktycznie wchodzenie leków biosimilar na rynki farmaceutyczne. W badaniach klinicznych obowiązuje zasada, aby ich nie robić w sytuacji, gdy znany jest wynik końcowy – po co eksperymentalnie amputować pacjentom kończyny, skoro wiadomo, iż nowe nie odrosną... W sytuacji dopuszczania do obrotu biologicznych leków biopodobnych ta zasada wymusza prowadzenie jedynie takich badań klinicznych, które potwierdzają słuszność ich wzajemnej substytucji z produktami referencyjnymi.

Ekstrapolacja wskazań stosowana jest poza dopuszczaniem do obrotu leków biologicznych biopodobnych także w procedurach rejestracji leków ze wskazaniami pediatrycznymi. Pediatrzy i lekarze rodzinni są zmuszeni korzystać z wielu leków jedynie na podstawie ekstrapolacji danych z badań na osobach dorosłych i swojego wieloletniego doświadczenia klinicznego.

Dzieci bardzo często przyjmują leki przebadane jedynie w populacji dorosłych w danym wskazaniu – 80% leków stosowanych w pediatrii nie ma wskazań pediatrycznych lub ma wskazania, ale w innej grupie wiekowej.

Aby niepotrzebnie nie narażać dzieci na udział w badaniach klinicznych, wprowadza się ekstrapolację wyników z populacji dorosłych. Są oczywiście sytuacje /najczęściej właśnie w pediatrii/, gdy nie można zastosować ekstrapolacji. Przykładem akademickim była próba ekstrapolacji wskazań z dorosłych pacjentów na dzieci dla produktu leczniczego Carvedilol w zastoinowej niewydolności serca. Niestety, nie można było jej zaakceptować z tytułu innej struktury komórkowej powiększonego serca u dzieci i u dorosłych.

Niemniej, poza pewnymi wyjątkami, ekstrapolacja we wskazaniach jest od dawna stosowana w pediatrii i geriatric. I dotyczy zarówno leków referencyjnych, jak i leków generycznych.

Ekstrapolacja wskazań stosowana w procesie dopuszczania do obrotu leków biosimilar ma na celu wykazanie takich wskazań, jakie przypisano do leku referencyjnego, oraz daje możliwość substytucji leku referencyjnego lekiem biopodobnym w identycznych wskazaniach.

Podstawą bezpieczeństwa substytucji obu leków jest wykazanie biopodobieństwa biologicznego leku biopodobnego z biologicznym lekiem referencyjnym w zakresie skuteczności oraz bezpieczeństwa ich stosowania.

Wykazanie wysokiego podobieństwa biologicznego leku biopodobnego do referencyjnego pozwala na wyciągnięcie wniosku, że efekt kliniczny działania tych leków jest taki sam u każdego pacjenta /89/.

3.10. BEZPIECZEŃSTWO SUBSTYTUCJI BIOLOGICZNYCH LEKÓW

Decyzje dotyczące substytucji lub wymienności są podejmowane na szczeblu krajowym.

Państwa członkowskie Unii Europejskiej mają dostęp do pełnej oceny naukowej potrzebnej do podjęcia stosownej decyzji. W przypadku dozwolonej zamiany w danym kraju pacjenci przed wyrażeniem świadomej zgody na leczenie winni porozmawiać z lekarzem lub farmaceutą.

Podstawą bezpieczeństwa zamian jest wykazanie biopodobieństwa leku biologicznego biopodobnego z lekiem biologicznym referencyjnym oraz potwierdzenie, że efekt kliniczny tych produktów leczniczych będzie taki sam u każdego pacjenta. Procedura dopuszczenia biologicznego leku biopodobnego ma za zadanie potwierdzić, iż lek biopodobny poprzez swoją skuteczność terapeutyczną, bezpieczeństwo stosowania oraz dobrą jakość może być stosowany zamiennie z lekiem referencyjnym. Przy czym rodzaj substytucji jest ustalany dla każdego kraju Unii Europejskiej przez właściwego ministra ds. zdrowia danego kraju na podstawie dostępnej wiedzy naukowej.

Obserwacje zmian w procesach wytwarzania leków biologicznych referencyjnych pozwalają na uznanie, że każdy pacjent leczony przewlekłe otrzymał prawdopodobnie więcej niż jedną wersję tego samego leku. W życiu leku biologicznego referencyjnego mamy bowiem ponad 100 zmian, a czasami nawet dużo więcej, gdy produkt leczniczy jest długo stosowany. Aby utrzymać te same parametry jakościowe i ten sam efekt kliniczny leku, zmienność musi mieścić się w ściśle określonych granicach. W praktyce zatwierdzenie zmian przez organ rejestrujący oznacza, że kolejna wersja leku biologicznego referencyjnego została wprowadzona na rynek. Ze względu na oczywistość zatwierdzenia kolejnej zmiany odbywa się to bez dodatkowej informacji w SmPC oraz bez powiadomienia lekarzy, farmaceutów i samych pacjentów.

Plan Zarządzania Ryzykiem /ang. RMP/ kontroluje leki przez cały czas stosowania ich w leczeniu otwartym i zamkniętym. Nadmierna reakcja immunologiczna po zmianie leku zawierającego nową wersję substancji czynnej jest możliwa, ale zdarza się bardzo rzadko.

Ta nowa wersja substancji czynnej może wystąpić zarówno w leku biologicznym referencyjnym, jak i w leku biologicznym biopodobnym.

Różnorodność budowy biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych wynika ze specyfiki ich wytwarzania w organizmach żywych. Naturalna zmienność biosyntezy jest nieodłączną cechą wszystkich organizmów biologicznych oraz ich biologicznych produktów.

W przypadku leków badania idą w kierunku potwierdzenia, że występujące różnice nie mają wpływu na bezpieczeństwo, skuteczność i dobrą jakość leku biologicznego.

Badania nad biopodobieństwem dwóch biologicznych substancji uznanych za produkty lecznicze jest procesem podzielonym na etapy, zgodnie z wytyczną Guideline on Similar Biological Medicinal Products (CHMP/473/04 Rev1):

- 1) badanie porównawcze:
 - właściwości fizykochemicznych,
 - składu zanieczyszczeń,
 - struktury substancji czynnej;
- 2) badanie porównawcze niekliniczne, toksykologiczne;
- 3) badanie porównawcze kliniczne:
 - immunogenności,
 - skuteczności,
 - bezpieczeństwa.

Analiza wyników 58 badań klinicznych na łącznej liczbie ok. 12 tysięcy pacjentów w zamiennym stosowaniu hormonów wzrostu, erytropoetyny, G-CSF nie wpłynęła na bezpieczeństwo terapii, nie odnotowano też działań niepożądanych związanych ze zmianą leku /90/.

Badania reakcji krzyżowej u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit po zastosowaniu leku biologicznego referencyjnego Remsimy /infliksymab/ u pacjentów uprzednio leczonych lekiem biologicznym referencyjnym Remicade /infliksymab/ wykazały podobną immunogenność obu leków /91/.

Analiza bazy Eudra Vigilance do lipca 2018 roku potwierdza brak zgłoszeń /brak raportów/ działań niepożądanych związanych ze zmianą leku biologicznego referencyjnego na lek biopodobny.

Infliksymab wprowadzony jako lek biologiczny biopodobny miał zastosowaną ekstrapolację wskazań w gastroenterologii. W Polsce przeprowadzone zostało badanie zamiany leku referencyjnego infliksymabu na biopodobny infliksymab u pacjentów pediatrycznych leczonych z powodu choroby Leśniowskiego-Crohna lub wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Stwierdzono brak obserwowanych działań niepożądanych związanych ze zmianą leku i przy obu lekach utrzymanie 80%-owej remisji u dzieci z chorobą Leśniowskiego-Crohna i 100%-owej remisji u dzieci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego /92/. Badania na dorosłych pacjentach potwierdziły, że lek biologiczny biopodobny infliksymab można stosować bez obaw o skuteczność i bezpieczeństwo /92/.

Jak wykazało badanie obserwacyjne przeprowadzone od 30 września 2015 do 30 marca 2016 roku u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelit lub chorobą Leśniowskiego-Crohna zamiana referencyjnego infliksymabu na biopodobny nie wpływała na:

- przebieg nieswoistego zapalenia jelit,
- aktywność kliniczną,
- dawkowanie,
- powstawanie przeciwciał.

Badanie Planetra Extension Study wykazało, że zamiana referencyjne-

go infliksymabu na biopodobny nie wpływała ani na skuteczność, ani na bezpieczeństwo /93/. Badanie to było otwartym badaniem międzynarodowym prowadzonym w 69 ośrodkach w 16 krajach. Grupa pacjentów z RZS leczona była przez 54 tygodnie metotreksatem oraz infliksymabem referencyjnym i biopodobnym, a następnie u dwóch grup pacjentów zamieniono referencyjny infliksymab na biopodobny. Potwierdzono brak istotnych zmian immunogenności po zamianie z leku referencyjnego na biopodobny oraz nie stwierdzono wpływu na skuteczność i bezpieczeństwo terapii.

Badanie NOR-SWITCH – przebiegające w czterech fazach przez 52 tygodnie – przeprowadzono na 481 pacjentach z randomizacją 1:1. Wykazało ono, że zamiana leczenia z referencyjnego na biopodobny infliksymab nie wpływała na wyniki leczenia. Pacjenci zrekrutowani do badania chorowali na spondyloartrozę, RZS, ŁZS, łuszczycę, chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego /94/.

Wyniki przeprowadzonych badań klinicznych wskazują, że zmiana leku oryginalnego na biopodobny u pacjentów ADA dodatnich /przeciwciała przeciwko lekowi/ nie nasila immunogenności. Badanie reakcji krzyżowej u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit po zastosowaniu biopodobnego infliksymabu (Remisma) u pacjentów uprzednio leczonych lekiem oryginalnym (Remicade) doprowadziło do konkluzji: przeciwciała anty-Remicade u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit „rozpoznały i zablokowały” lek biopodobny Remisma w takim samym stopniu jak blokowały Remicade. Wyniki wskazują na podobną immunogenność obu leków i obecność tych samych dominujących epitopów w obrębie obu leków biologicznych /95/.

Jak wykazały roczne badania obserwacyjne na 725 pacjentach, porównanie efektywności terapeutycznej trastuzumabu referencyjnego i biopodobnego nie wykazało różnic, a zatem nie stwierdzono wyższości trastuzumabu referencyjnego nad trastuzumabem biopodobnym. Mediana okresu obserwacji wynosiła 12 miesięcy (IQR 1 · 04-1 · 08) u pacjentów, którzy otrzymali tylko ABP 980 /biopodobny trastuzumab/, 12 miesięcy (1 · 04-1 · 07) u osób, które otrzymywały tylko trastuzumab, oraz 12 miesięcy (1 · 04-1 · 08) u pacjentów, którzy przeszli zmianę trastuzumabu na ABP 980 w fazie adiuwantowej. Wszyscy pacjenci poddani obserwacji byli podatni na ocenę, czyli wykazywali aktywność terapeutyczną przyjmowanych produktów /96/. Badanie kliniczne przeprowadzone w grupach pacjentów leczonych neoadjuwantowo oraz adjuwantowo potwierdziło bezpieczeństwo wzajemnej substytucji biologicznego leku referencyjnego i biologicznego leku biopodobnego /96/.

Dodatkowym wskazaniem do pozyskiwania informacji w zakresie biologicznych leków referencyjnych i biopodobnych mogą być przykładowe źródła:

- Medline,
- PubMed, Embase,
- wyszukiwarka Ovid,
- The Cochrane Central Register of Controlled Trials,
- wytyczne różnych organizacji o zasięgu światowym.

W przypadku zastosowania biologicznych leków referencyjnych i bio-

podobnych w onkologii można zasięgać opinii w następujących przykładowych miejscach:

- **EORTC** – European Organisation for Research and Treatment of Cancer /www.eortc.be/,
- **ESMO** – European Society for Medical Oncology /www.esmo.org/, wiodąca europejska organizacja specjalizująca się w onkologii,
- **ASCO** – American Society of Clinical Oncology /www.asco.org/,
- **AACR** – American Association for Cancer Research /www.aacr.org/,
- **EPAAC** – European Partnership for Action Against Cancer, europejskie partnerstwo na rzecz walki z rakiem utworzone przez Komisję Europejską w 2004 roku,
- **National Cancer Institute** /www.cancer.gov/ w Stanach Zjednoczonych,
- **National Cancer Institute** /www.ncic.cancer.ca/ w Kanadzie,
- **National Health and Medical Research Council of Australia** /www.ctc.usyd.edu.au/,
- **UKCCCR** – United Kingdom Co-ordinating Committee on Cancer Research /www.ctu.mrc.ac.uk/ukcccr/nwes.html/,
- **NCCN** – National Comprehensive Cancer Network, stowarzyszenie non-profit 27 wiodących amerykańskich ośrodków onkologicznych, dbające o jakość i efektywność opieki nad chorymi na raka,
- **Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej** /PTOK/, wydające zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego,
- **AOTMiT** – Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji, organ opiniodawczo-doradczy ministra zdrowia, wypowiadający się na temat celowości refundacji danego produktu leczniczego,
- inne towarzystwa naukowe.

Na podstawie aktualnej wiedzy kilka narodowych organów regulacyjnych na terenie Europy wydało **pozytywną** opinię dotyczącą możliwości zamiany leków referencyjnych na biopodobne.

1) The Dutch Medicines Evaluation Board – stanowisko holenderskiego MEB z 2015 roku stanowi istotną rewizję wydanych wytycznych z roku 2010, w których MEB sugerowało, że terapia powinna być kontynuowana przy użyciu tego samego leku biologicznego /40/. Rewizja rygorystycznego stanowiska MEB znajduje uzasadnienie w rozwoju wiedzy naukowej na temat leków biopodobnych oraz jest wyrazem podążania za rekomendacjami UE w tym zakresie /<http://www.biosimilarlawblog.com/>.

2) The Finnish Medicines Agency Fimea.

3) Healthcare Improvement Scotland /NHS Scotland/, podkreślający zalety stosowania leków biopodobnych oraz płynące z tego korzyści dla pacjentów.

4) Paul Ehrlich Institute, Germany.

5) Raport brytyjskiego **National Health Service (NHS)** podkreśla, że NHS wspiera rozwój i stosowanie produktów biopodobnych oraz zachęca lekarzy do przekazywania pacjentom na bieżąco informacji na ten temat oraz porad dotyczących leczenia. NHS podkreśla też rolę lekarzy oraz konieczność dbania o interes pacjentów, ale wprost wskazuje, że stosowanie

produktów biopodobnych ma istotny walor rynkowy oraz tworzy większe możliwości wyboru dla pacjentów i lekarzy.

6) NFZ Polska, atakowany przez przeciwników stosowania leków biopodobnych. Brak specjalnego statusu leków biologicznych w regulacji dotyczącej programów lekowych w Polsce został wyjaśniony przez Prezesa NFZ. Zarządzenie Prezesa NFZ nr 66/2016/DGL mówi, że konieczne jest poznanie nie nazwy handlowej leku, ale jego ulotki – istotne, by pacjent zapoznał się ze wskazaniami terapeutycznymi produktu leczniczego oraz z możliwymi działaniami niepożądanymi, które mogą wystąpić w przypadku wszystkich produktów biologicznych. Załącznik 15 do Zarządzenia posiada również część 15b stanowiącą oświadczenie o odbiorze leku – przyjęcie leku przez pacjenta podlega w istocie każdorazowej akceptacji, co potwierdza możliwość zamiany leku w programie lekowym. Nie ma przy tym żadnych argumentów potwierdzających, jakoby wyrażenie zgody na podanie leku biologicznego miało przekreślić możliwość podania tożsamego pod względem terapeutycznym leku biopodobnego. Kluczowa w tym zakresie jest bowiem ochrona interesu pacjenta, a ten nie zostaje w żaden sposób naruszony.

Krajem wzorcowym, najbardziej idącym w kierunku substytucji leków biopodobnych, jest Dania.

Cena leku biopodobnego w Polsce jest ustanowiona na poziomie 75% ceny biologicznego leku referencyjnego – ustawa refundacyjna nakazuje obniżenie ceny leku referencyjnego o 25% do czasu, kiedy pojawiają się lub mogą się pojawić leki biopodobne do niego. CAP, stanowiący dalszą ochronę interesu Państwa Polskiego, określa, do jakiej kwoty całościowej refundacyjnej za lek płaci Państwo, a od jakiej podmiot odpowiedzialny.

System zdrowia każdego kraju winien wspierać leki biopodobne jako źródło oszczędności systemu w interesie pacjenta. Polska jest szóstym rynkiem w Europie pod względem sprzedaży leków. Obrót lekami w Polsce to 38 miliardów zł rocznie, przy czym 70% tego obrotu finansowego to leki zagraniczne.

Do 2020 roku 7 z 10 najlepiej sprzedających się leków innowacyjnych o przychodach ze sprzedaży rządu 100 miliardów dolarów traci okres ochrony patentowej. A zatem przed nami starcie o ogromne pieniądze – rynek owoch zmagających w Polsce można oszacować na ponad 0,5 miliarda dolarów.

3.11. ADMINISTRACJA SŁUŻBY ZDROWIA POPRZEZ POLITYKĘ LEKOWĄ PAŃSTWA POLSKIEGO NA LATA 2018-2022 WSPIERAJĄCA LEKI BIOPODOBNE DOPUSZCZONE DO OBROTU

1/ Ministerstwo Zdrowia w piśmie nr PLA4604.199.2015.1.BRB informuje, że minister zdrowia niezmiennie stoi na stanowisku, iż dopuszczalne jest dowolne zamiennictwo w zakresie leków wytwarzanych metodami biosyntezy z wykorzystaniem procedur biotechnologii. Jest to przejawem prowadzenia racjonalnej polityki lekowej opartej na aktualnej wiedzy wynikającej zarówno z procedur rejestracyjnych, jak i z praktyki klinicznej.

2/ Prezes Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych

nych i Produktów Biobójczych w piśmie nr UR.P.GP.070.0013.2017.JP.3 informuje: „standardy wytwarzania, kontroli oraz rejestracji leków biopodobnych są takie same dla leków referencyjnych, jak i biopodobnych. Zgodnie z obecnie dostępnymi danymi literaturowymi brak jest danych mówiących o tym, że zmiana jednego produktu na inny w ramach leków biopodobnych ma jakikolwiek negatywny wpływ na postęp i skuteczność leczenia, a także na występowanie działań niepożądanych”.

3/ Prezes Narodowego Funduszu Zdrowia w piśmie nr DGL.4502.148.2017.39372.GBA informuje, że tezy zaprezentowane w dokumencie „Wybrane zagadnienia dotyczące zamówień publicznych” stoją w sprzeczności z zasadami uczciwej konkurencji wymaganymi przy prowadzeniu zamówień publicznych, a także są niezgodne z aktualną wiedzą medyczną.

Co więcej, ich przyjęcie i uznanie za słuszne może skutkować wielomilionowymi stratami dla Narodowego Funduszu Zdrowia wynikającymi z niczym nieuzasadnionego ograniczenia stosowania leków biopodobnych.

Prezes Narodowego Funduszu Zdrowia w piśmie nr DGL.4451.7.2018.5385.GBA informuje, że Narodowy Fundusz Zdrowia jako zobowiązany do finansowania świadczeń gwarantowanych w sposób legalny, gospodarny, celowy i rzetelny zamierza wprowadzić szereg zachęt finansowych dla świadczeniodawców stosujących tańsze i najtańsze odpowiedniki leków refundowanych zakupione w ramach procedur przetargowych zapewniających uczciwą konkurencję pomiędzy wszystkimi refundowanymi lekami zawierającymi określoną substancję czynną lub przynoszącymi identyczny efekt zdrowotny.

4/ Zastępca Dyrektora Mazowieckiego Oddziału Wojewódzkiego Narodowego Funduszu Zdrowia ds. Medycznych w piśmie nr WYCH-182798/2017 informuje: „zwracam się z uprzejmą prośbą o bieżące informowanie Mazowieckiego Oddziału Wojewódzkiego NFZ o stwierdzonych przypadkach kwestionowania skuteczności leków generycznych lub biopodobnych oraz działaniach negujących ich bezpieczeństwo i zamiennictwo względem leków referencyjnych, z jednoczesnym przekazywaniem niniejszej informacji do Departamentu Polityki Lekowej i Farmacji Ministerstwa Zdrowia”.

4. Piśmiennictwo

- 1/ Gygi S., Rochon Y., Franza B., *Markers studied with proteomic methods*, Mol.Cel.Biol. 1999, 19, 1720-1730.
- 2/ Ślopek St., *Ilustrowany Słownik Immunologiczny*, PZWL 1983, 352.
- 3/ Henderson I.C., Patek A.J., *Tumor markers in blood and serum plasma*, Breast Cancer Research Treatment, 1988, 52, 261-288.
- 4/ Załącznik 1 do Dyrektywy 2001/83/EC Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej.
- 6/ Mann M., Jensen O., *Mass spectrum-method of choice for analysis Mal-di-ToF and tandems/MS*, Nat. biotechnol 2003, 21, 255-261.
- 7/ Chen G., Pramanik B., *Analysis of protein, post-translational modification of Protein*, Expert Rev. Proteomics, 2008, 5, 435-444.
- 8/ Wytyczne ICH nr Q5E Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in Their Manufacturing Process <http://www.ich.org/fileadmin/PublicWebSite/ICHProducts/Guidelines/Q5E/Step4/Q5EQuideline.pdf>.
- 9/ *EMA 2009 Guidelines on Comparability of Medicinal Products Containing Biotechnology Derived Proteins as Active substance Quality Issues*, //www.ema.europ/docs/en.
- 10/ Songpon D. et al, *Biophysical Comarability of the Same Protein from Different Manufactures, Case Study Using Epoetin Alfa from Epogen and Eprex*, J. of Pharmaceutical Sciences 2006, 95/9/, <http://onlinelibrarywiley.com/doi/10.1002/jps20649/pdf>
- 11/ 14th International Conference of Drug Regulatory Authorities December 2010 Recommendations.
- 12/ Nowicki M., *Krótko i długo działające czynniki pobudzające erytropoezę – kiedy, komu, dlaczego*, Forum Nefrologiczne 2010, 3/2/ 132-137.
- 13/ Charakterystyka Produktu Leczniczego Neulasta /pegfilgrastym/, data ostatniego przedłużenia pozwolenia 16.07.2007, data ostatniej zmiany tekstu ChPL 23.10.2009, EPAR EMA <http://www.ema.europa.eu>.
- 14/ Stone K., *Nerve Center Unintended effects of biological drug market protection*, Ann. Neurol. 2010, 68/5/, A11-A12.
- 15/ Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej Nr 726/2004/.
 - 1/ *EMA 2003 Guidelines: Comparability of Medicinal products containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substancje – Quality Issues*, CPMP/BWP, 2003, 32007/00Rew.1.
 - 16/ *EMA 2004 Guidelines: Comparability of medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as drug Substance – non clinical and clinical Issues*, CPMP 2004/309702.
 - 17/ *EMA 2005 Guidelines: Similar Biological Medicinal Products*, CHMP 2005, 437/04.
 - 18/ *EMA 2005 Guidelines: Step 4 Note for Guidance on Biotechnological/ Biological Products Subject to changes in their Manufacturing Process*, CPMP/ICH 2005/5721/03 ICH Topic Q5E.

- 19/ EMEA 2006 Guidelines: *Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as active Substance – Quality Issues*, EMEA/CHMP/49348/05.
- 20/ EMEA 2006 Guidelines: *Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as Active substance – Non clinical and clinical Issues*, CHMP/42832/05.
- 21/ EMEA 2006 Guidelines: *Annex to Guideline on similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived Proteins as Active substance – non clinical and clinical Issues-Guidance on similar Medicinal Products containing Recombinant Erythropoetins*, CHMP/94526/05.
- 22/ EMEA 2006 Guidelines: *Annex to Guideline on Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived Protein as Active Substance – Non clinical and Clinical Issues-Guidance on Biosimilar Medicinal Products containing Recombinant Granulocyte-Colony Stimulating Factor*, CHMP/31329/05.
- 23/ EMEA 2006 Guidelines: *Annex to Guideline on Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived as Active substance – Non Clinical and Clinical Issues-Guidance on similar Medicinal Products containing Somatropin*, CHMP/94528/05.
- 24/ EMEA 2006 Guidelines: *Annex to Guideline on Similar Biological Medicinal Products containing Biotechnology-derived as Active Substance – Non Clinical and Clinical Issues-Guidance on similar Medicinal Products containing Recombinant Human Insulin*, CHMP/32775/05.
- 25/ EMEA 2007 Guidelines: *Comparability of Biotechnology-derived Medicinal Products after a change in the Manufacturing Process – Non Clinical and Clinical Issues*, CHMP/BMVP/101695/06.
- 26/ EMEA 2008 Guidelines: *Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins*, CHMP/BMWP/14327/06.
- 27/ Wytyczne ICH nr Q5C stability Testing of Biotechnological/biological Products, [http://www.ich.org/fileadmin/Public Web Site/IOCHProducts/Guidelines/Quality/Q5C/step4/Q5C Guide line.pgf](http://www.ich.org/fileadmin/Public%20Web%20Site/IOCHProducts/Guidelines/Quality/Q5C/step4/Q5C%20Guide%20line.pdf).
- 28/ Wytyczne ICH nr Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/biological Products, [http://www.ich.org/fileadmin/Public Web Site/Ich Products/Guidelines/Quality/Q6B/Step4/Q6Bguideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public%20Web%20Site/Ich%20Products/Guidelines/Quality/Q6B/Step4/Q6Bguideline.pdf).
- 29/ Schellekens H., Moors E., *Kliniczna porównywalność oraz europejskie regulacje prawne dotyczące leków biopodobnych*, Nature America 2010.
- 30/ Charakterystyka produktu leczniczego Removab/katumaksomab/.
- 31/ Charakterystyka produktu leczniczego Nplate /romiplostym/.
- 32/ Charakterystyka produktu leczniczego Opdivo /niwolumab/.
- 33/ Charakterystyka produktu leczniczego Yervoy /ipilimumab/.
- 34/ Charakterystyka produktu leczniczego MabThera /rytuksymab/.
- 35/ Charakterystyka produktu leczniczego Ilaris /kanakinumab/.
- 36/ Charakterystyka produktu leczniczego Humira /adalimumab/.
- 37/ Charakterystyka produktu leczniczego Blincyto /blinatumomab/.
- 38/ Charakterystyka produktu leczniczego Arzerra /ofatumumab/.

- 39/ Charakterystyka produktu leczniczego Gazyvaro /obinutuzumab/.
- 40/ Charakterystyka produktu leczniczego Ocrevus /okrelizumab/.
- 41/ Charakterystyka produktu leczniczego Repatha /ewolokumab/.
- 42/ Charakterystyka produktu leczniczego Avastin /bewacyzumab/.
- 43/ Charakterystyka produktu leczniczego Xolair /omalizumab/.
- 44/ Charakterystyka produktu leczniczego Vectibix /panitumumab/.
- 45/ Charakterystyka produktu leczniczego Darzalex /daratumumab/.
- 46/ Charakterystyka produktu leczniczego Herceptin /trastuzumab/.
- 47/ Charakterystyka produktu leczniczego Perjeta /pertuzumab/.
- 48/ Charakterystyka produktu leczniczego Kadcyła /trastuzumab emtansine/.
- 49/ Charakterystyka produktu leczniczego Zevalin /ibrytumomab tiuxetan znakowany Itr=90/
- 50/ Charakterystyka produktu leczniczego Adcetris /brentuksymab vedotin/.
- 51/ Charakterystyka produktu leczniczego HyQvia-Baxter /human normal immunoglobulin/
- 52/ Charakterystyka produktu leczniczego Remsima /infliksymbab/.
- 53/ Charakterystyka produktu leczniczego Inflectra /infliksymbab/.
- 54/ Charakterystyka produktu leczniczego Remicade /infliksymbab/.
- 55/ Charakterystyka produktu leczniczego Bemfola /follitropin alfa/.
- 56/ Charakterystyka produktu leczniczego Enbrel /entanercept/.
- 57/ Pekka Kurki et al.. *Interchangeability of Biosimilars: A European Perspective*, BioDrugs2017.
- 58/ Raport opracowany wspólnie przez Europejską Agencję Leków i Komisję Europejską pt. *Leki Biologiczne biopodobne w UE. Przewodnik dla personelu medycznego 2017. What Ineed to know about biosimilar medicines, Information. 2016*, http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/newsroom/cf/itemdetail.cfm?item_id=9066 /dostęp: 6 marca 2017 r./.
- 59/ Charakterystyka produktu leczniczego Neoparin /enoksaparyna/.
- 60/ Charakterystyka produktu leczniczego ReoPro /abcyksymbab/.
- 61/ Anshu K. et al., *Immunogenicity of Biotherapeutics:causes and Association with Posttranslational Modifications*. J Immunology Res. 2016.
- 62/ *Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins*. EMA/CHMP/BMWP/101695/2006 /wersja 06.03.2017'.
- 63/ *Immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intendent for in-vivo clinical use*. EMA/CHMP/BMWP/86289/2010 /wersja 06.03.2017/.
- 64/ Brinks V., <http://gabi-journal.net/immunogenicity-of-biosimilar-monoclonal-antibodies.html>. 2013. GaBIJournal 2013, 2(4), 188–93.
- 65/ Chamberlain P., *EM Guideline on similar biological medicinal products*. Bioanalysis 2013 , 5(5), 561–574.
- 66/ CHMP/437/04 Rev 1/2014 [online]. Available from URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/10/WC500176768.pdf FDA Guidance for Industry: Scientific Considerations in Demonstrating Biosimilarityto a Referen-

- ce Product 2015 [online] Available from URL: www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM291128.pdf /.
- 67/ Peyvandi F., et al., *A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies In Hemophilia*. N.Engl. J.Med. 2016,374, 2054-2056.
 - 68/ Gouw SC. et al., *Treatment-related risk factors of inhibitor development In previously untreated patients with hemophilia A. : the Canal kohort study*. J.Blood 2007, 109, 4648-4654.
 - 69/ Iorio A. et al., *Natural history and clinical characteristics of inhibitors In previously treated haemophilia A patients: a case series*. Haemophilia 2017, 23, 255-263.
 - 70/ Gouw SC. et al., *PedNet and Rodin study Group. Factor VIII products and inhibitor development In severe hemophilia A*. N.J.Engl. Med. 2013, 368, 231-239.
 - 71/ Fischer K. et al., *Inhibitor development In haemophilia according to concentrate. Four-year results from the European Haemophilia Safety Surveillance / EUHASS/ Project*. Thromb. Haemost. 2015. 113. 968-975.
 - 72/ Charakterystyka produktu leczniczego Hemlibra /emicizumab/.
 - 73/ Charakterystyka produktu leczniczego Avonex /interferon beta-1a /.
 - 74/ Charakterystyka produktu leczniczego Carboplatin Accord /karboplatyna/.
 - 75/ Charakterystyka produktu leczniczego Betaferon /interferon beta-1b/.
 - 76/ Charakterystyka produktu leczniczego Minoxidil lavineli /minoksydyd/.
 - 77/ Charakterystyka produktu leczniczego Citaxin /citalopram/.
 - 78/ Charakterystyka produktu leczniczego Depakine Chrono /walproinian sodowy/.
 - 79/ Charakterystyka produktu leczniczego Zotal /sertralina/.
 - 80/ Charakterystyka produktu leczniczego Cosentyx /sekukinumab/.
 - 81/ Charakterystyka produktu leczniczego Lemtrada /alemtuzumab/.
 - 82/ Charakterystyka produktu leczniczego Keytruda /pembrolizumab/.
 - 83/ Charakterystyka produktu leczniczego Simponi /golimumab/.
 - 84/ Hans C Ebbers et al., *The safety of switching between therapeutic proteins*. BioDrugs 2012.
 - 85/ Więcek A., *Switching epoetinalfa and zeta in patients with renal anemia*. Adv Ther2010;12:941-52.
 - 86/ Charakterystyka produktu leczniczego Silapo /epoetyna zeta/.
 - 87/ Charakterystyka produktu leczniczego Biopoin /epoetyna theta/.
 - 88/ Charakterystyka produktu leczniczego Neupogen /filgrastym/.
 - 89/ *EMA Procedural advice for users of the centralised Procedure for Similar Biological medicinal Products applications*; EMA/940451/2011; 2015/.
 - 90/ Ebbers H., *The safety of switching between therapeutic proteins*. Expert Opin. Biol. Ther. 2012,12/11, 1473-1485/.
 - 91/ Shormron Ben-Horin, *Cross-immunogenicity: antibodies to infliksymab in Remicade-treated patients with IBD similarly recognise the bio-similar Remsima*. BMJ 2015/.

- 92/ Sieczkowska J., *Experience with biosimilar infliximab / CT-P13/ in paediatric patients with inflammatory bowel diseases*. J Ther Adv Gastroenterol 2016,9/5/, 729-735.
- 93/ Badanie Planetra Extension Study opisane w Dae Hyun Yoo et al., *Efficacy and safety of CT-P13 / biosimilar infliximab/ in patients with rheumatoid arthritis: comparison between switching from reference infliximab to CT-P13 and continuing CT-P13 in the Planetra extension study*. BMJ 2015.
- 94/ *American College of Rheumatology Annual Meeting 2016*.
- 95/ Shomron Ben-Horin et al., *Cross-immunogenicity: antibodies to infliximab in Remicade-treated patients with IBD similarly recognise the biosimilar Remsima*. BMJ 2015.
- 96 / von Minckwitz G. et al., *Efficacy and safety of ABP 980 compared with reference trastuzumab in women with HER2-positive early breast cancer (LILAC study): a randomised, double-blind, phase 3 trial*. Lancet Oncol 2018 Published Online June 4, 2018. [Http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30241-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30241-9) See Online/Comment. [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30290-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30290-0).

