

# Biološka terapija i biosimilari u javnim ljekarnama

---

Vrhovac, Marin

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:870067>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Marin Vrhovac**

**Biološka terapija i biosimilarari u javnim  
ljekarnama**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakologija, Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Petre Turčić.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Petri Turčić na vremenu, savjetima i stručnom vodstvu tijekom pisanja ovog rada.*

*Zahvaljujem svojim prijateljima na lijepim i nezaboravnim uspominama, učinili ste studiranje prekrasnim iskustvom.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je bila ogromna podrška, hvala vam na razumijevanju i strpljenju svih ovih godina.*

# SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. BIOLOŠKI LIJEKOVI	2
1.1.1. DEFINICIJA BIOLOŠKIH LIJEKOVA	2
1.1.2. USPOREDBA BIOLOŠKIH I KEMIJSKIH LIJEKOVA	2
1.1.3. BIOSLIČNI LIJEKOVI	5
2. OBRAZLOŽENJE TEME	7
3. MATERIJALI I METODE	9
4. RASPRAVA	11
4.1. MONOKLONSKA PROTUTIJELA	12
4.1.1. NOMENKLATURA	12
4.1.2. ZNAČAJ IMUNOGLOBULINA	13
4.1.3. PROIZVODNJA MONOKLONSKIH PROTUTIJELA	16
4.1.4. ADALIMUMAB	20
4.2. FUZIJSKI PROTEINI	22
4.2.1. STRUKTURA	22
4.2.2. FC FUZIJSKI PROTEINI	23
4.2.3. ETANERCEPT	24
4.3. DVOJBE O BIOSLIČNIM LIJEKOVIMA	26
4.3.1. LIJEKOVI NIŽE KVALITETE	26
4.3.2. IMUNOGENIČNOST	27
4.3.3. EKSTRAPOLACIJA INDIKACIJA	29
4.3.4. AUTOMATSKA ZAMJENJIVOST	30
5. ZAKLJUČAK	32
6. LITERATURA	34
7. SAŽETAK/SUMMARY	38
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

# **1. UVOD**

## 1.1. BIOLOŠKI LIJEKOVI

### 1.1.1. DEFINICIJA BIOLOŠKIH LIJEKOVA

Biološki lijek je lijek čija je djelatna tvar biološka tvar, koja se proizvodi ili izlučuje iz biološkog izvora i za čiju su karakterizaciju i utvrđivanje kakvoće potrebna fizičko-kemijska i biološka ispitivanja zajedno s podacima o postupku proizvodnje i njegove kontrole ([www.zakon.hr](http://www.zakon.hr)).

Biološkim lijekovima se smatraju:

- imunološki lijekovi (cjepiva, toksini, serumi i proizvodi alergena),
- lijekovi iz ljudske krvi ili ljudske plazme (npr. albumin ili imunoglobulini),
- lijekovi dobiveni biotehnološkim postupcima (postupci koji uključuju uporabu živih sustava ili organizama),
- lijekovi za naprednu terapiju (lijekovi koji se temelje na genskoj terapiji, terapiji somatskim stanicama ili tkivnom inženjerstvu),
- ostali lijekovi dobiveni iz biološkog izvora (npr. heparin ili pankreatin) ([www.almp.hr](http://www.almp.hr)).

### 1.1.2. USPOREDBA BIOLOŠKIH I KEMIJSKIH LIJEKOVA

Biološki lijekovi se proizvode pomoću živih sustava kao što su mikroorganizmi ili kulture stanica dok se kemijski lijekovi dobivaju kemijskom sintezom. Ova činjenica je uzrok mnogih različitosti između navedenih skupina.

Biološki lijekovi posjeduju veću molekulsku masu, često su heterogene smjese proteina sa nedovoljno definiranom strukturom. Za razliku od njih kemijski lijekovi su homogene smjese manje molekulske mase sa dobro definiranom strukturom.

Bitna karakteristika bioloških agenata je njihova visoka selektivnost i specifičnost prema ciljanim strukturama koja dovodi do boljeg kliničkog odgovora. Zahvaljujući preciznom targetiranju, izuzetnoj specifičnosti te visokom afinitetu vezanja biološki lijekovi nam pružaju alternativu dugom, teškom i neizvjesnom liječenju kroničnih oboljenja.

Nedostatak bioloških lijekova jest njihova nestabilnost i termolabilnost zbog čega se moraju držati u propisanim uvjetima. Kemijski lijekovi su stabilniji te ih je obično moguće držati na sobnoj temperaturi duže vremenske periode.

Dodatne prepreke su potencijalna heterogenost zbog promjena aminokiselinskog slijeda, prisutnosti i stupnja glikozilacije, smatanju te protein-protein interakcijama. Male promjene mogu utjecati na specifičnost, potentnost i sigurnost lijeka.

Reakcija koja nije uobičajena kod kemijskih lijekova, a češće je zabilježena kod bioloških je imunogeničnost pri čemu imunološki sustav prepoznaje strani antigen te protiv njega započinje imunološki odgovor što može rezultirati ozbiljnim kliničkim stanjima.

Također proces proizvodnje bioloških lijekova je mnogo zahtjevniji koristeći naprednije biotehnološke postupke te posljedično zahtijevajući veća ulaganja što u konačnici smanjuje dostupnost zdravstvene zaštite zbog većih troškova kojima se opterećuju pacijenti i zdravstveni sustavi diljem svijeta.

Preparati dobiveni tehnologijom rekombinantne DNA i/ili iz bakterijskih stanica, kvašćevih stanica, stanica sisavaca ili transgeničnih životinja i biljaka pružaju efikasniji način proizvodnje te uklanjaju rizik prijenosa bolesti putem izolacija inficiranih tkiva životinja ili čovjeka.

Dodatna prednost bioloških lijekova jest da imaju kraći razvojni ciklus koji u prosjeku traje od 3 do 5 godina dok je za kemijske lijekove taj period tipično 7 do 8 godina, u kraćem vremenu potrebnom za odobravanje od strane regulatornih tijela te specifičnosti lijekova koja omogućava bolju zaštitu patenta za originatore.

Sve navedeno služi kao dodatan poticaj farmaceutskim tvrtkama za daljnja ulaganja u istraživanje i razvoj bioloških lijekova. Početak biološke terapije bio je 1982. godine kada je u Sjedinjenim Američkim Državama odobren je prvi rekombinantni biološki preparat, ljudski inzulin (Humulin®) dok je danas na svjetskom tržištu dostupno preko 200 bioloških lijekova (Baldo, 2016).

**Tablica 1.** Usporedba svojstava bioloških i kemijskih lijekova (prilagođeno prema Baldo, 2016)

Biološki lijekovi	Kemijski lijekovi
Uobičajeno nastali uz pomoć ili iz žive stanice i organizma	Uobičajeno organske molekule pripravljene kemijskom sintezom
Često heterogena smjesa	Homogena
Nedovoljno definirana/nepoznata struktura	Dobro definirana struktura
Kompleksna fizikalno-kemijska svojstva	Fizikalno-kemijska svojstva mnogo manje kompleksna
Obično visoke molekularne mase <sub>1</sub>	Obično niske molekularne mase <sub>2</sub>
Većinom teško karakterizirani	Dobro karakterizirani
Često nestabilni i termolabilni	Uobičajeno relativno stabilni
Potrebno ih držati u propisanim uvjetima zbog nestabilnosti	Često stabilni na sobnoj temperaturi duže periode vremena
Uobičajeno parenteralna primjena	Česta oralna primjena
Mogu imati dugo vrijeme poluživota (tjedni, mjeseci) omogućavajući rjeđe doziranje	Relativno kratko vrijeme poluživota, doziranje svakih nekoliko sati
Visoko selektivni i specifični za metu	Manje selektivni i specifični za metu
Produkti katabolizma su aminokiseline, šećeri, lipidi itd; ograničena toksičnost	Metabolizam jetrenim enzimima kao što su CYP P450 može dovesti do toksičnosti
Često imunogenični	Bez vezanja na nosač obično nisu imunogenični
Visok trošak razvoja	Visok trošak razvoja ali često manji nego bioloških preparata
Trošak liječenja za pacijente i zdravstvene sustave često vrlo visok	Trošak liječenja niži, često znatno niži

<sub>1</sub> generalno > 2-5 kDa ali mogu biti mnogo veći

<sub>2</sub> generalno < 0.5 kDa

Biološka terapija omogućila je liječenje ozbiljnih i životno ugrožavajućih bolesti poput autoimunih bolesti, dijabetesa, karcinoma, reumatoidnog artritisa, multiple skleroze, srčanih i



moždanih udara. Njihov razvoj proširio je i poboljšao trenutne terapijske mogućnosti (Baldo, 2016).

### 1.1.3. BIOSLIČNI LIJEKOVI

Biosličan lijek je biološki lijek za koji je dokazana sličnost u pogledu kakvoće, biološke aktivnosti, sigurnosti primjene i djelotvornosti s odobrenim izvornim biološkim lijekom ([www.almp.hr](http://www.almp.hr)).

Zbog složene strukture djelatne tvari i načina proizvodnje bioloških lijekova, nije vjerojatno da je moguće proizvesti biološki lijek koji ima potpuno identičnu strukturu djelatne tvari koju ima izvorni biološki lijek. Stoga se standardni pristup razvoju i odobravanju generičkih kemijskih lijekova, koji se temelji na dokazu bioekvivalentnosti s izvornim lijekom, ne može primijeniti kod biosličnih lijekova, već je u postupku razvoja i davanja odobrenja biosličnih lijekova potrebno dodatnim ispitivanjima potvrditi njihovu sličnost s izvornim lijekom ([www.almp.hr](http://www.almp.hr)).

Za biološki slične lijekove potrebna je opsežna obrada podudarnosti s originalnim proizvodom koja uključuje i učinkovitost u ljudi kao i sigurnosni profil lijeka. Na temelju sličnosti pokazane s referentnim proizvodom biološki slični lijekovi se mogu pozivati na sigurnosni profil originalnog proizvoda, a stroga ispitivanja biološke aktivnosti, farmakokinetike i učinkovitosti bi trebala pokazati slični postotak nuspojava kod originalnog proizvoda i biološki sličnog lijeka (Kes i sur., 2014).

Istekom perioda zaštite intelektualnog vlasništva omogućen je razvoj biosimilara. EMA je odobrila 2006. godine Omnitrope®, rekombinantni somatotropin koji je bio prvi licencirani biosimilar na tržištu. Ova odluka je doprinijela stimulaciji natjecanja i inovativnosti u farmaceutskoj industriji. Povećan broj bioloških lijekova na tržištu doprinio je većoj dostupnosti i nižim troškovima za zdravstvene sustave.

U budućnosti nas očekuje dolazak novih, poboljšanih generacija bioloških lijekova. Ovaj cilj se želi ostvariti modifikacijom postojećih bioloških lijekova te unaprjeđenjem procesa proizvodnje. Bolja klinička aktivnost, produženo vrijeme poluživota i smanjena imunogenost su neki od željenih karakteristika novih lijekova.

Navedena poboljšanja moguće je postići pegilacijom kojom bi se produžilo vrijeme poluživota, proizvodnjom humaniziranih proteina kako bi se uklonile neželjene reakcije imunogenosti te manipulacijom vezanih glikana što rezultira većim afinitetom za antigene (Baldo, 2016).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Cilj ovog diplomskog rada jest pregled najvažnijih činjenica za ljekarnike o adalimumabu i etanerceptu te dilema o biosličnim lijekovima.

Odlukom Upravnog vijeća Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje koje je stupilo na snagu 4.6.2019. promijenio se status bioloških lijekova adalimumaba i etanercepta te je sada njih temeljem propisanog lijeka na recept HZZO-a moguće podizati u ljekarnama na razini primarne zdravstvene zaštite ([www.hljk.hr](http://www.hljk.hr)). Prije navedene odluke podizanje biološke terapije se vršilo u bolničkim zdravstvenim ustanovama. Adalimumab i etanercept se primjenjuju supkutano te ih pacijenti mogu sami aplicirati nakon adekvatne obuke, a ljekarnik može dati dodatne upute prilikom podizanja lijeka.

Pacijentima je omogućeno preuzimanje njihove terapije u istoj ili različitim ljekarnama povećavajući tako dostupnost zdravstvene zaštite u Republici Hrvatskoj. Pritom im se pruža i mogućnost savjetovanja sa zdravstvenim profesionalcima ukoliko postoje nedoumice ili pitanja u vezi njihove terapije.

Magistri farmacije u poziciji su informirati pacijente o potrebi čitanja upute za lijek, nuspojavama i interakcijama. Kako bi savjetovali pacijente najprije se i sami moraju educirati o novitetima u zdravstvu, a to uključuje i biološku terapiju. Mnogo je nedoumica koje okružuju biosimilare te se ovim radom one žele razjasniti s ciljem nastavka pružanja kvalitetne uslugu te pravovremenih informacija.

### **3. MATERIJALI I METODE**

Prilikom izrade ovog diplomskog rada korištena je znanstvena literatura koja uključuje znanstvene radove objavljene u bibliografskim bazama kao što su *Medscape*, *Cochrane* i *PubMed* te različite mrežne stranice. Pretraga bibliografskih baza provodila se prema sljedećim ključnim riječima: *biologic therapy*, *biosimilars*, *pharmacist*, *mechanism of action*, *adverse reaction*... Iz navedene literature odabrani su podaci za pisanje ovog diplomskog rada. Za izradu ovog diplomskog rada korišten je program Microsoft Office Word 2010 (Microsoft, Seattle, WA, SAD).

## **4. RASPRAVA**

## 4.1. MONOKLONSKA PROTUTIJELA

### 4.1.1. NOMENKLATURA

Sva monoklonska protutijela završavaju sa sufiksom *-mab* i koriste infiks kako bi razlikovali od koje životinjske vrste potječe monoklonsko protutijelo. Dodatno, drugi infiks, koji prethodi prvome, je obično uključen u imenu i sadrži jedno, dva ili tri slova kako bi ukazali na metu monoklonskog protutijela ili stanje bolesti.

Tablica 2. Nomenklatura monoklonskih protutijela (prilagođeno prema Baldo, 2016)

INN infiks <sup>b</sup>		Meta <sup>c</sup>	
<b>-o-</b>	Miš	<b>-ba/b/bac-</b>	Bakterijska
<b>-a-</b>	Štakor	<b>-ci/c-</b>	Kardiovaskularna
<b>-axo-</b>	Štakor-miš kimera	<b>-fu/f-</b>	Antifungalno
<b>-e-</b>	Hrčak	<b>-ki/k-</b>	Interleukin
<b>-i-</b>	Primat	<b>-le/les-</b>	Upalna lezija
<b>-xi-</b>	Kimerno	<b>-li/l-</b>	Imunomodularno
<b>-xizu-</b>	Kimerno-humanizirano	<b>-ne/n-</b>	Živčani sustav
<b>-zu</b>	Humanizirano	<b>-so/os/s-</b>	Kost
<b>-u-</b>	Potpuno humanizirano/humano	<b>-tox/toxa-</b> <b>-tu/t<sup>d</sup>-</b> <b>-vi/v-</b>	Toksin Tumor Virusno

*INN* International Nonproprietary Name

<sup>a</sup> Sva monoklonska protutijela imaju sufiks *-mab* i jedinstveni prefiks koji nema specifično značenje te služi identifikaciji pojedinačnog proizvoda

<sup>b</sup> Za identificiranje životinjskih vrsta

<sup>c</sup> Za identificiranje mete ili bolesti. Nalazi se ispred infiksa

<sup>d</sup> Daljna podjela infiksa za tumore: *co/col* crijevo, *go/got* testis, *go/gov* ovariji, *ma/mar* dojke, *me/mel* melanom, *pr/pro* prostata, *tu/tum* razni tumori



Primjeri:

**Palivizumab.** *Pali-*, jedinstveni prefiks; *-vi-*, usmjeren ka virusu; *-zu-*, INN infiks za humanizirane; *-mab*, sufiks za sva monoklonska protutijela

**Canakinumab.** *Cana-*, jedinstveni prefiks; *-ki-*, usmjeren ka interleukinu II-1 $\beta$ ; *-u-*, INN infiks za humana monoklonska protutijela; *-mab*, sufiks za sva monoklonska protutijela

#### 4.1.2. ZNAČAJ IMUNOGLOBULINA

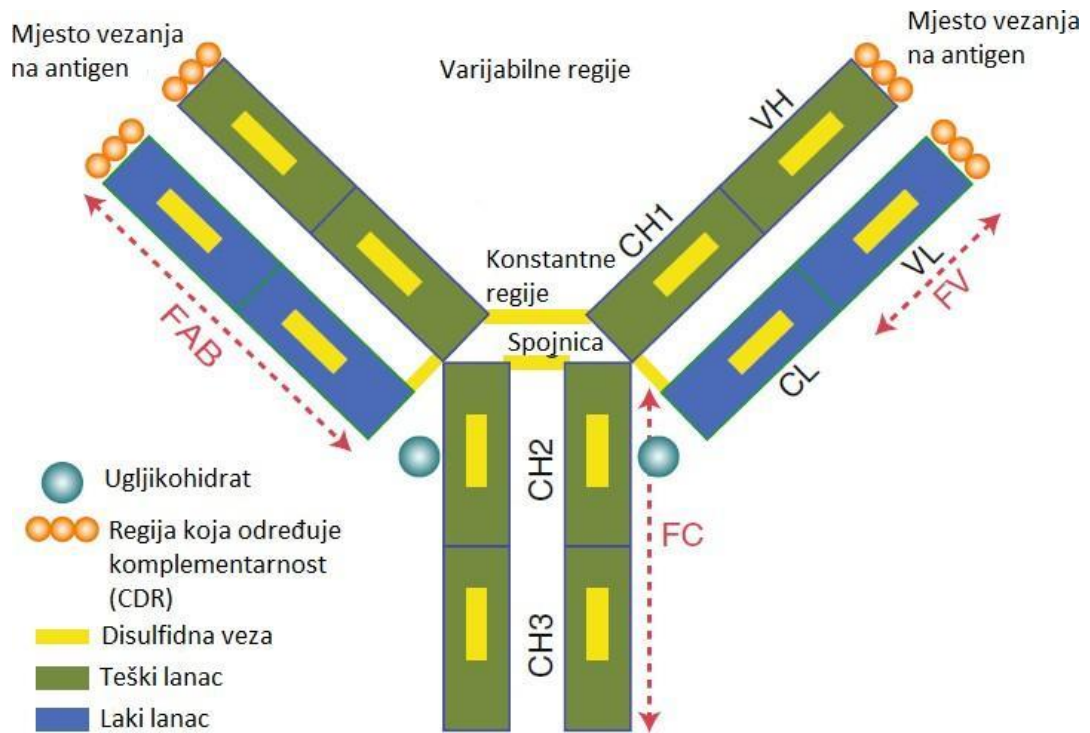
Protutijela ili imunoglobulini su glikoproteinske molekule koje izlučuju plazma stanice (Buss i sur., 2012). Plazma stanice nastaju aktivacijom, proliferacijom i diferencijacijom B-limfocita nakon dolaska u doticaj s epitopima antigena. Protutijela se specifično vežu na antigenske determinante odnosno epitope, a dio protutijela odgovoran za vezanje na epitop se naziva paratop (Schroeder i Cavacini, 2010). Specifičnost vezanja paratopa na epitop je osnova za upotrebu protutijela u terapijske svrhe (Davis i sur., 2013).

Protutijela su građena od polipeptidnih lanaca – dva teška lanca i dva laka lanca, koji su povezani disulfidnim mostovima te imaju oblik slova Y (Slika 1). Postoji pet glavnih razreda tj. izotipova protutijela, IgG, IgM, IgA, IgE i IgD, a međusobno se razlikuju u teškom lancu. U tijelu je najzastupljeniji izotip IgG (Buss i sur., 2012; Schroeder i Cavacini, 2010).

Razlikujemo monoklonska i poliklonska protutijela. Monoklonska protutijela su protutijela nastala iz pojedinačnog klona B-limfocita, tj. plazma stanice. Imaju identične paratope te se vežu na pojedinačni epitop pojedinačnog antigena. Poliklonska protutijela su protutijela koja se vežu na različite epitope antigena, a izlučuju ih B-limfociti različitih staničnih linija. (Buss i sur., 2012; Lobo i sur., 2004). Otkriće tehnologije hibridoma stanica je 1975. godine omogućilo proizvodnju i izolaciju monoklonskih protutijela za koju su Milstein i Köhler dobili Nobelovu nagradu 1984. (Ribatti, 2014).

Monoklonska protutijela koja se koriste u terapijske svrhe uglavnom pripadaju skupini imunoglobulina G (Buss i sur., 2012). Humani imunoglobulini G se dijele na četiri podrazreda; IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4. Svako monoklonsko protutijelo se sastoji od konstantne (engl. *constant*, C) i varijabilne (engl. *variable*, V) regije. S obzirom da je građeno od dva teška i dva

laka polipeptidna lanca, razlikujemo varijabilnu regiju teškog (engl. *variable heavy*, VH) i varijabilnu regiju lakog lanca (engl. *variable light*, VL) te konstantnu regiju teškog (engl. *constant heavy*, CH1, CH2 i CH3) i konstantnu regiju lakog lanca (engl. *constant light*, CL) (Slika 1) (Davis i sur., 2013).



Slika 1. Struktura imunoglobulina G (preuzeto i prilagođeno prema Davis i sur., 2013)

Varijabilna regija teškog i lakog lanca čini Fv-fragment (engl. *fragment variable*). Sastoji se od hipervarijabilnih sekvenci koje su odgovorne za vezanje na epitop antigena, a poznatije su kao regija koja određuje komplementarnost (engl. *complementarity determining region*, CDR) (Davis i sur., 2013; Schroeder i Cavacini, 2010).

CDR regija Fv-fragmenta odgovorna je za vezanje monoklonskog protutijela na epitop, dok Fc-fragment reagira s receptorima različitih stanica. Stoga je Fc-fragment odgovoran za efektorsku funkciju IgG-a, ali i raspodjelu u tijelu (Schroeder i Cavacini, 2010).

Protutijela su glikoproteinske molekule, a šećeri, koji se tijekom posttranslacijskih modifikacija uglavnom dodaju na Fc-fragment, utječu na njihovu funkciju. Osim što

stabiliziraju strukturu glikoproteina, utječu i na vezanje na receptore efektorskih stanica te na medijatore imunskog sustava (Schroeder i Cavacini, 2010).

Fc-fragment može aktivirati staničnu citotoksičnost ovisnu o protutijelima (engl. *antibody-dependent cellular cytotoxicity*, ADCC) i citotoksičnost ovisnu o komplementu (engl. *complement -dependent cytotoxicity*, CDC) te se modifikacijom Fc-fragmenta može mijenjati navedena aktivnost (Schroeder i Cavacini, 2010; Kes i sur., 2014).

Citotoksičnost ovisnu o komplementu i staničnu citotoksičnost ovisnu o protutijelima mogu aktivirati razredi IgM i IgG, a unutar razreda IgG podrazredi IgG1 i IgG3. Stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima započinje vezanjem protutijela na antigen i Fc-fragmenta protutijela na površinu efektorske stanice čime se aktiviraju prirodno ubilačke stanice (engl. *natural killer*, NK), monociti ili makrofagi (Buss i sur., 2012).

Citotoksičnost ovisna o komplementu započinje vezanjem C1q kompleksa na Fc-fragment čime se potiče kaskada reakcija imunskog sustava što dovodi do uništavanja ciljane stanice (Schroeder i Cavacini, 2010).

Tablica 3. Svojstva IgG podklase (prilagođeno prema Baldo, 2016)

IgG podklasa	t <sub>1/2</sub> (dani)	Afinitet vezanja na FcγIIIa <sup>a</sup>	Aktivacija komplementa <sup>b</sup>
IgG1	~21	+++	++
IgG2	~21	+/-	+
IgG3	~7	+++	+++
IgG4	~21	+/-	-

+++ visok afinitet, ++ umjeren afinitet, + nizak afinitet, - nema afiniteta

<sup>a</sup> FcγIIIa je prisutan na odraslim stanicama ubojicama, makrofagima i neutrofilima.

Receptor uključen u citotoksičnost posredovanu stanicama ovisnu o antitijelima (ADCC).  
Za ADCC IgG1>IgG3>IgG4>IgG1>IgG2

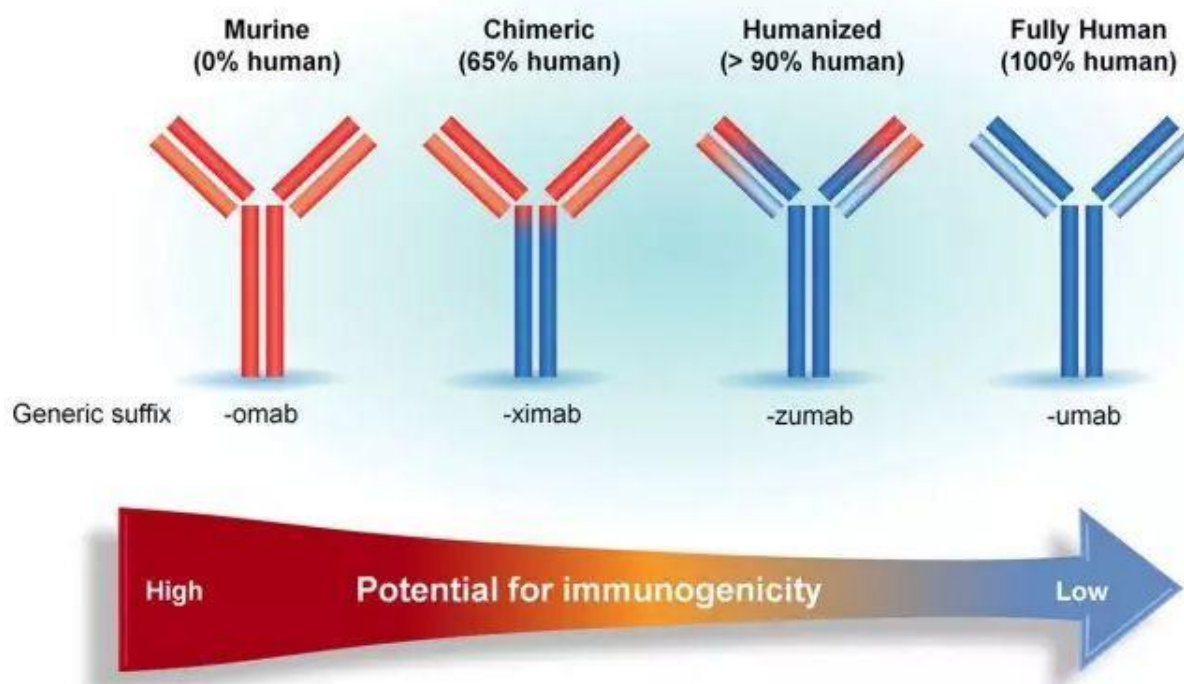
<sup>b</sup> Posredovano vezanjem komponente komplementa C1q na Fc radi postizanja citotoksičnosti ovisne o komplementu (CDC). Za CDC: IgG3>IgG1>IgG2

Budući da podrazred IgG1 posjeduje najpovoljnija svojstva učestalo se koristi kao monoklonsko protutijelo u terapijske svrhe.

#### 4.1.3. PROIZVODNJA MONOKLONSKIH PROTUTIJELA

Glavni razlozi razvoja humanih monoklonskih protutijela su bili mogućnost efektivne manipulacije njihovih efektorskih funkcija te istodobno izbjegavanje imunogeničnosti koja je viđena kod protutijela glodavaca (Steinitz, 2013)

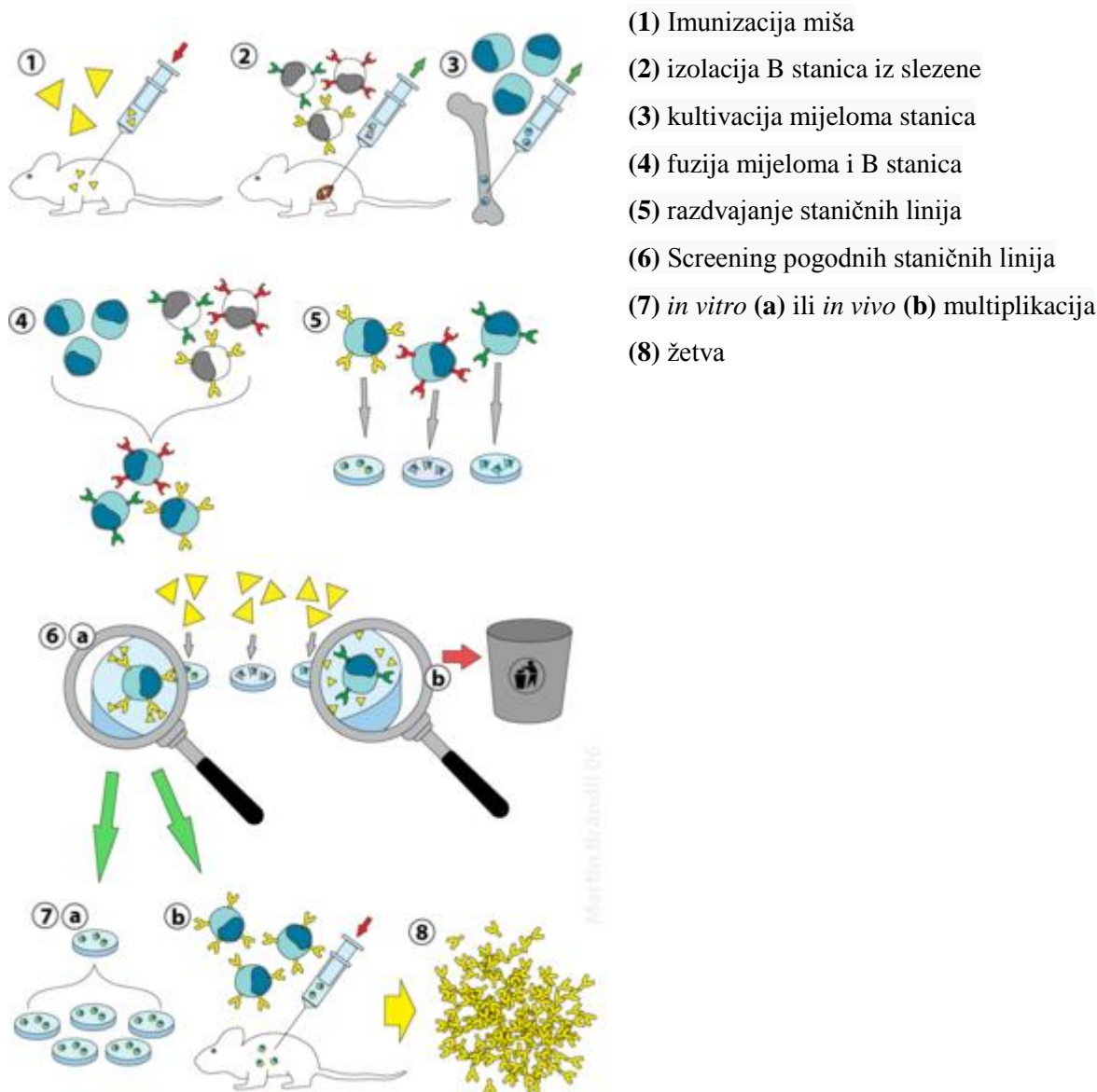
Poznajemo četiri vrste monoklonskih protutijela koja se koriste u terapijske svrhe (Slika 2). Mišja (nastavak –momab) su najstarija, 100% mišjeg porijekla, a dobivaju se tehnologijom hibridoma stanica. Iduća generacija su kimerna monoklonska protutijela (nastavak –ksimab) koja se sastoje od humane konstantne i varijabilne mišje regije te im je sličnost sekvenci ljudskim protutijelima 60-70%. Humanizirana protutijela (nastavak –zumab) su 90-95% humana, a mišjeg porijekla je samo regija koja određuje komplementarnost. Humana ili potpuno humanizirana protutijela (nastavak –mumab) su u 100% sekvenci slična ljudskima (Davis i sur., 2013). Postupci proizvodnje uključuju tehniku hibridoma, proizvodnju pomoću bakteriofaga te tehnologiju insercije strane DNA u mišji embrij.



Slika 2. Humanizacija protutijela (Izvor: <http://www.icartab.com>)

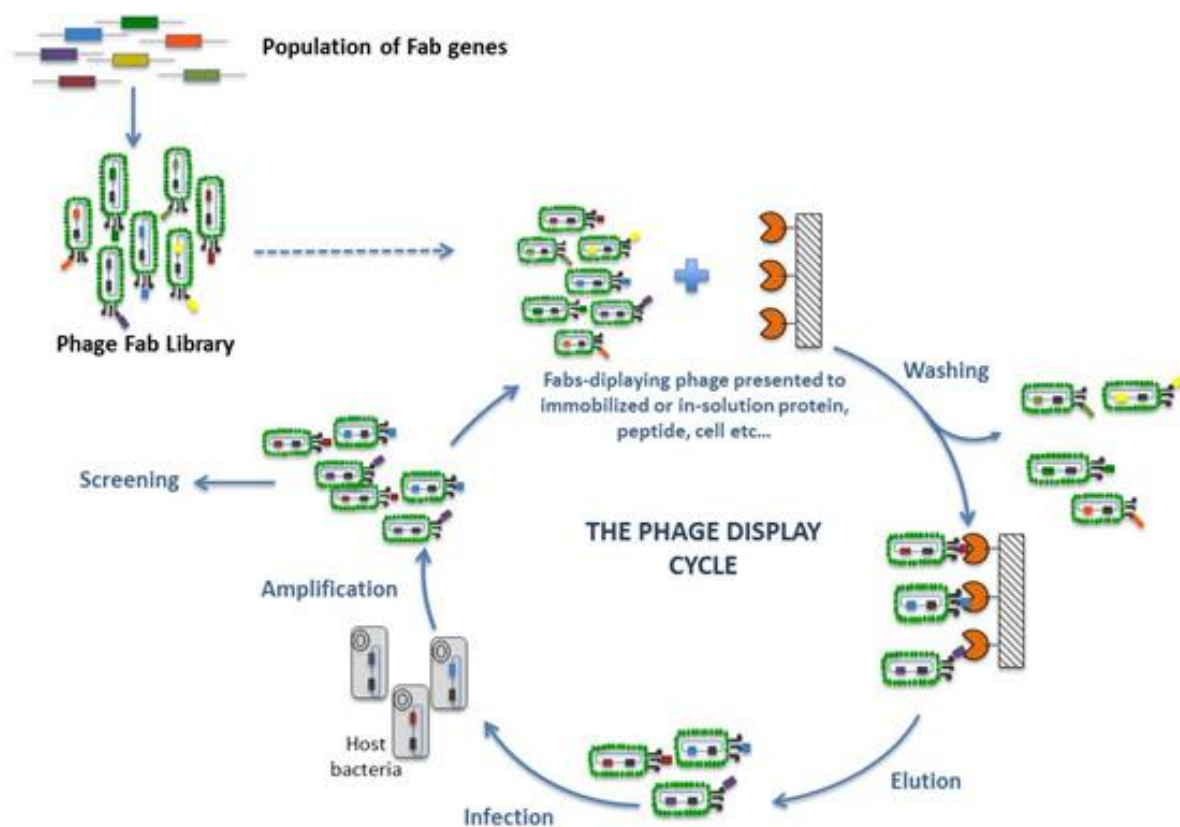
Tehnologija hibridoma stanica je metoda proizvodnje većeg broja monoklonskih protutijela. Proces započinje injektiranjem antigena u miša ili drugog sisavca kako bi se izazvao imunosni odgovor. B stanice proizvode protutijela koja se vežu na uneseni antigen. B stanice koje proizvode protutijela se sakupljaju te spajaju sa besmrtnim mijeloma stanicama rezultirajući hibridoma stanicama. One posjeduju mogućnost proizvodnje protutijela kao i B stanice te dugovječnost i reproduktivnost mijeloma stanica.

Hibridoma stanice se mogu uzgajati u kulturi proizvođači kulture koje se sastoje od genetički identičnih hibridoma koje proizvode jedno monoklonsko protutijelo po kulturi umjesto smjese različitih protutijela, poliklonskih protutijela.



Slika 3. Tehnika hibridoma (Izvor: [www.slideshare.net](http://www.slideshare.net))

Nakon kloniranja u genom bakteriofaga DNA sekvence željenih peptida ili proteina, eksprimiraju se kao fuzijski proteini na površini bakteriofaga čime fenotip reflektira genotip. Princip metode je da će se bakteriofag sa željenim fragmentom vezati na antigen koji je vezan na nepokretnu fazu te će ostati vezan nakon ispiranja (Slika 4). Postupak selekcije se provodi u nekoliko ciklusa kako bi se izolirao visoki postotak bakteriofaga koji nose fragmente protutijela za željeni antigen. Nakon što se izolira bakteriofag željenog afiniteta, njime se može ponovo zaraziti *E. coli* kako bi se dobio veliki broj kopija. Naposljetku se željena protutijela ispituju dodatnim testovima poput ELISA metode (Nixon i sur., 2014).



Slika 4. Postupak proizvodnje uz pomoć faga (Izvor: [www.creative-biolabs.com](http://www.creative-biolabs.com))

Nakon inaktiviranja gena u matičnim stanicama embrija miša i njegovom zamjenom sa segmentom željene DNA izmijenjene matične stanice se uzgajaju in vivo. Odrasla jedinka ima promijenjen genomski profil te ponekad izmijenjen fenotip. Takvi genetički modificirani miševi mogu biti korišteni za ekspresiju humanih protutijela. Prekid lokusa imunoglobulina H i L lanca praćen s uvođenjem ekvivalentnih humanih H i L gena doveo je do transgeničnih miševa koji proizvode humane B stanice (Baldo, 2016).



Slika 5. Transgenični miš ekspirira zeleni fluorescentni protein koji sjaji zeleno ispod plavog svjetla (Izvor: [www.whatisbiotechnology.org](http://www.whatisbiotechnology.org))

#### 4.1.4. ADALIMUMAB

Adalimumab je IgG1  $\kappa$  humano rekombinantno monoklonsko protutijelo. Adalimumab se specifično veže za TNF (faktor tumorske nekroze) i neutralizira biološku funkciju TNF-a blokirajući njegovu interakciju s površinskim staničnim TNF-receptorima p55 i p75 ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Adalimumab također modulira biološke odgovore koje inducira ili regulira TNF, uključujući promjene u razinama adhezijskih molekula koje su odgovorne za migraciju leukocita (ELAM-1, VCAM-1 i ICAM-1 s IC50 od 0,1-0,2 nM) (10). Također demonstrira apoptotsku aktivnost, o komplementu ovisno citotoksičnost (CDC) te o protutijelu ovisnu citotoksičnost (ADCC) ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Liječenje moraju započeti i nadzirati liječnici specijalisti s iskustvom u dijagnosticiranju i liječenju stanja za koja je Humira indicirana. Nakon odgovarajuće poduke o tehnici ubrizgavanja injekcija, bolesnici mogu sami sebi davati injekcije lijeka Humira ako njihov liječnik procijeni da je to moguće provesti, uz medicinsko praćenje po potrebi ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Na hrvatskom tržištu registrirani lijekovi s aktivnom supstancom adalimumab su Amgevita<sup>®</sup>, Humira<sup>®</sup>, Imraldi<sup>®</sup>, Hulio<sup>®</sup>, Halimatoz<sup>®</sup>, Hefiya<sup>®</sup>, Hyrimoz<sup>®</sup>, Idacio<sup>®</sup> te Kromeja<sup>®</sup>.



Indiciran je za:

- juvenilni idiopatski artritis
- plak psorijazu u djece
- Crohnovu bolest u djece
- adolescentni gnojni hidradenitis
- uveitis u djece.

On nije prva linija liječenja već se koristi u situaciji kad nije postignut zadovoljavajući odgovor na konvencionalno liječenje, kod osoba koje ne podnose konvencionalno liječenje ili u kojih konvencionalno liječenje nije prikladno ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Tijekom liječenja lijekom Humira potrebno je prilagoditi ostalu istodobno primijenjenu terapiju (npr. kortikosteroide i/ili imunomodulatore) ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Za vrijeme terapije antagonistima TNF-a bolesnici su podložniji ozbiljnim infekcijama. Oštećena funkcija pluća može povisiti rizik od nastanka infekcija. Bolesnike se stoga mora pomno pratiti prije, za vrijeme i nakon završetka liječenja lijekom Humira zbog moguće pojave infekcija, uključujući tuberkulozu. Budući da eliminacija adalimumaba može trajati i do četiri mjeseca, praćenje je potrebno nastaviti za vrijeme cijelog tog razdoblja ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Bolesnici koji primaju lijek Humira mogu istodobno primiti cjepiva, ali ne živa cjepiva. Djeci koja su u maternici bila izložena adalimumabu ne preporučuje se davati živa cjepiva (npr. cjepivo BCG) najmanje 5 mjeseci otkad je majka u trudnoći primila zadnju injekciju adalimumaba ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

U kliničkim ispitivanjima istodobne primjene anakinre i drugog antagonista TNF-a, etanercepta, zabilježene su ozbiljne infekcije, a pritom nije bilo dodatne kliničke koristi u odnosu na monoterapiju etanerceptom ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)). Istodobna primjena adalimumaba i drugih bioloških antireumatika koji modificiraju tijek bolesti (npr. anakinra i abatacept) ili drugih antagonista TNF-a se ne preporučuje zbog mogućeg povećanog rizika od razvoja infekcija, uključujući ozbiljne infekcije, i drugih potencijalnih farmakoloških interakcija ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Humira može imati mali utjecaj na sposobnost upravljanja vozilima i rada sa strojevima. Nakon primjene lijeka Humira mogu se pojaviti vrtoglavica i poremećaji vida ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Žene reproduktivne dobi trebaju razmotriti korištenje odgovarajuće kontracepcije kako bi spriječile trudnoću i trebale bi je nastaviti koristiti još najmanje pet mjeseci nakon posljednje doze lijeka Humira ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)). Prospektivno prikupljeni podaci o velikom broju trudnoća izloženih adalimumabu (približno 2100) koje su završile živorođenjem s poznatim ishodom, uključujući više od 1500 trudnoća izloženih tijekom prvog tromjesečja, ne ukazuju na povećanu stopu malformacija u novorođenčeta ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

## **4.2. FUZIJSKI PROTEINI**

### **4.2.1. STRUKTURA**

Fuzijski proteini nastali su kombiniranjem fragmenata monoklonskih protutijela i drugih bioloških molekula. Fragmenti monoklonskih protutijela poput Fab zbog svoje male molekularne mase i nemogućnosti vezanja za FcRn receptore pokazuju kraće vrijeme poluživota u usporedbi s ishodišnim molekulama, dok je farmakokinetika Fc-fragmenata slična kao kod cjelovitog imunoglobulina G (Lobo i sur., 2004).

Tri glavna uvjeta u pripremi efektivnog kimernog fuzijskog proteina su:

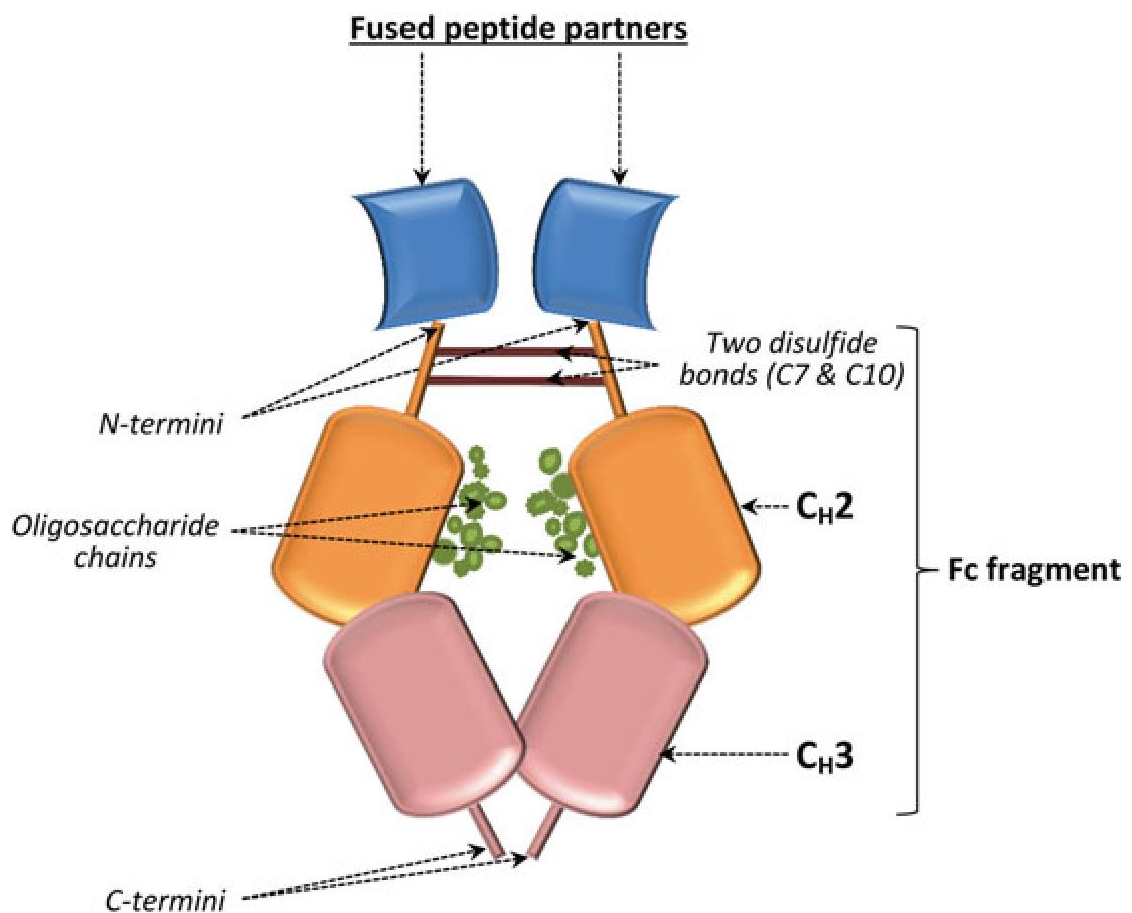
- stabilnost
- efektivno targetiranje i posljedično specifično vezanje
- citotoksičnost

Većina peptida koji su kandidati imaju kratko vrijeme poluživota zbog proteolitičke razgradnje te ih bubrezi uobičajeno razgrade unutar nekoliko minuta. Konjugacija sa polietilenglikolom može produžiti vrijeme poluživota povećavajući hidrodinamički radijus i smanjuje filtraciju u bubrezima. Uzrok nedoumica oko sigurnosti je uzrokovana manjkom biorazgradljivosti (Baldo, 2016).

#### 4.2.2. FC FUZIJSKI PROTEINI

Fc dio IgG-a sastoji se od CH<sub>2</sub> i CH<sub>3</sub> domene teškog lanca imunoglobulina, zglobne regije i dva disulfidna mosta koja povezuju teške lance. U većini kimernih fuzijskih proteina C kraj efektorske molekula, često peptid, je spojen sa N krajem zglobne regije (Slika 6). Efektorska molekula može biti spojena s jednim ili oba Fc teška lanca stvarajući monomer, dimer ili heterodimerni fuzijski protein (Baldo, 2016).

Fc fuzijski proteini također stupaju u interakciju s Fc receptorima na imunološkim stanicama te su postali najčešće korištene i uspješne strukture u pripremi kimernih fuzijskih proteina (Baldo, 2016).



**Slika 6.** Dijagramski prikaz općenite strukture kimernog huanog IgG Fc fuzijskog proteina povezanog sa svojim efektorskim peptidom preko Fc N-terminalnog dijela (prilagodeno prema Baldo, 2016)

### 4.2.3. ETANERCEPT

Etanercept je rekombinantni, humani dimerni Fc fuzijski protein povezan s ligand vezujućim dijelom humanog TNF receptora (TNFR). Proizvodi se tehnologijom rekombinantne DNA u ekspresijskom sustavu stanica sisavaca iz jajnika kineskog hrčka (CHF) ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

Prvi je kimerni fuzijski protein koji je dobio regulatorno odobrenje, 1998. FDA ga je odobrila za tretman reumatoidnog i ostalih tipova artritisa. Vezujući se na faktor tumorske nekroze inhibira interakciju ovog citokina sa TNF receptorima na površini stanice posljedično dovodeći do protuupalnog odgovora (Baldo, 2016).

Liječenje treba započeti i nadzirati liječnik specijalist s iskustvom u dijagnostici i liječenju navedenih bolesti. Nakon odgovarajuće poduke o tehnici ubrizgavanja injekcija, bolesnici mogu sami sebi davati injekcije ako njihov liječnik procijeni da je to moguće provesti, uz medicinsko praćenje po potrebi ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)).

Na hrvatskom tržištu registrirani lijekovi s aktivnom supstancom etanercept su Benepali<sup>®</sup>, Enbrel<sup>®</sup>, Erelzi<sup>®</sup> te Lifmior<sup>®</sup>.

Etanercept je indiciran za

- reumatoidni artritis
- juvenilni idiopatski artritis
- plak psorijazu
- plak psorijazu u dječjoj dobi
- ankilozantni spondilitis (AS)
- aksijalni spondiloartritis bez radioloških dokaza.

On nije prva linija liječenja već se koristi u situaciji kad nije postignut zadovoljavajući odgovor na konvencionalno liječenje, kod osoba koje ne podnose konvencionalno liječenje ili u kojih konvencionalno liječenje nije prikladno ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

Živa cjepiva ne smiju se davati istodobno s lijekom. Nisu dostupni podaci o sekundarnom prijenosu infekcija putem živih cjepiva u bolesnika koji primaju etanercept ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

Često su zabilježene alergijske reakcije povezane s primjenom etanercepta. Zabilježene alergijske reakcije uključivale su angioedem i urtikariju; zabilježene su i ozbiljne reakcije ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

U bolesnika koji uzimaju lijekove za liječenje šećerne bolesti, nakon uvođenja etanercepta bila je zabilježena hipoglikemija, koja je zahtijevala smanjenje antidijabetika u nekih od tih bolesnika ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

U odraslih bolesnika koji su istodobno liječeni etanerceptom i anakinrom opažena je povećana stopa ozbiljnih infekcija u usporedbi s bolesnicima koji su liječeni samo etanerceptom ili samo anakinrom. Nije dokazano da kombinacija etanercepta i anakinre povećava kliničku korist te se stoga ne preporučuje ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)). U kliničkim ispitivanjima istodobna primjena abatacepta i etanercepta rezultirala je povećanom incidencijom ozbiljnih štetnih događaja. Ova kombinacija nije pokazala povećanu kliničku korist te se stoga takva primjena ne preporučuje ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

U kliničkom ispitivanju s odraslim bolesnicima koji su primali uobičajene doze sulfasalazina, kojem je dodan etanercept, bolesnici u skupini s ovom kombinacijom imali su statistički značajno sniženje prosječnog broja leukocita u usporedbi sa skupinama koje su liječene samo etanerceptom ili samo sulfasalazinom. Kliničko značenje navedene interakcije nije poznato ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)). U kliničkim ispitivanjima nisu primijećene interakcije prilikom primjene etanercepta s glukokortikoidima, salicilatima (osim sulfasalazina), nesteroidnim protuupalnim lijekovima (NSAIL), analgeticima ili metotreksatom ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

Žene u reproduktivnoj dobi treba savjetovati da koriste odgovarajuću kontracepciju kako ne bi ostale trudne tijekom liječenja kao i tri tjedna nakon prestanka liječenja ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)). Ispitivanja razvojne toksičnosti u štakora i kunića nisu pokazala nikakve štetne učinke etanercepta na fetus ni na novookočene štakore ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)). Etanercept prolazi kroz placentu i može se otkriti u serumu dojenčadi žena koje su bile liječene etanerceptom tijekom trudnoće. Klinički utjecaj je nepoznat, no dojenčad može imati povećan

rizik od infekcija. Primjena živih cjepiva dojenčadi 16 tjedana nakon majčine zadnje doze obično se ne preporučuje ([www.ec.europa.eu](http://www.ec.europa.eu)).

## **4.3. DVOJBE O BIOSLIČNIM LIJEKOVIMA**

### **4.3.1. LIJEKOVI NIŽE KVALITETE**

Dospijecem biološki sličnih lijekova na tržište pojavila su se mišljenja o njihovoj inferiornosti u odnosu na originatore.

Svi bioslični lijekovi trenutno odobreni u Republici Hrvatskoj odobreni su centraliziranim postupkom davanja odobrenja, što znači da je njihovu znanstvenu ocjenu provela Europska agencija za lijekove (EMA), a odobrenje dala Europska komisija. Odobrenja dana centraliziranim postupkom važeća su u svim zemljama članicama Europske unije ([www.almp.hr](http://www.almp.hr)).

Proizvođač je u svrhu odobrenja biosličnog lijeka dužan provesti opsežna ispitivanja koja dokazuju da je biosličan lijek vrlo sličan izvornom biološkom lijeku u kakvoći, sigurnosti primjene i djelotvornosti ([www.almp.hr](http://www.almp.hr)).

Sličnost ne podrazumijeva da dva lijeka budu identična već da se dokaže kako uočene razlike u parametrima kakvoće neće negativno utjecati na djelotvornost i sigurnost lijeka. Dokazivanje biosličnosti temelj je razvoja biosličnog lijeka, davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet i stjecanja povjerenja zdravstvenih djelatnika (Berkowitz i sur., 2012).

Djelatna tvar biosličnog lijeka mora biti slična djelatnoj tvari referentnog lijeka na molekulskoj i biološkoj razini. Režim doziranja i put primjene biosličnog lijeka moraju biti jednaki referentnom lijeku. Moguće razlike u jačini, farmaceutskom obliku, formulaciji i pomoćnim tvarima s referentnim lijekom moraju biti obrazložene i ne smiju ugrožavati sigurnost lijeka ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Ispitivanja na razini kakvoće obuhvaćaju usporedbu fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava biosličnog i referentnog lijeka korištenjem niza sofisticiranih analitičkih metoda koje mogu detektirati male razlike između dva lijeka, kako bi se dokazalo da bioslični i referentni lijek imaju vrlo slične profile kakvoće. Ne očekuje se da ispitivani parametri biosličnog lijeka

budu jednaki referentnom lijeku, no svaku uočenu kvalitativnu i/ili kvantitativnu razliku potrebno je obrazložiti i, gdje je to bitno, dokazati da neće imati negativni utjecaj na djelotvornost i sigurnost lijeka, što uključuje dodatne nekliničke i kliničke podatke. Posebnu pozornost potrebno je obratiti na razlike u parametrima kakvoće koji mogu utjecati na imunogeničnost ili biološku aktivnost lijeka .

Ispitivanje djelotvornosti ne provodi se s ciljem dokaza djelotvornosti lijeka jer je to već napravljeno s referentnim lijekom. Svrha je pokazati postoji li klinički značajna razlika između referentnog i biosličnog lijeka.

Podaci o sigurnosti uglavnom se prikupljaju prije davanja odobrenja. Važna je usporedba vrste, ozbiljnosti i učestalosti nuspojava između biosličnog i referentnog lijeka. Potencijalna imunogeničnost uvijek mora biti ispitana kao usporedba s referentnim lijekom ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Dakle strah od lošije kvalitete biološki sličnih lijekova, odnosno njihovo poimanje kao lijekova nižeg standarda nije utemeljen jer proizvodni proces za biološki sličan lijek mora udovoljavati zahtjevima kvalitete kao i za svaki drugi biološki proizvod.

#### 4.3.2. IMUNOGENIČNOST

Potencijalna imunogeničnost predstavlja glavni sigurnosni problem s biološkim/biosličnim lijekovima. Iako nastanak protutijela uopće ne mora imati nepoželjni učinak ipak su mogući i neželjeni učinci poput pojave reakcija preosjetljivosti.

Biološki lijekovi, za razliku od kemijskih lijekova, mogu uzrokovati pojavu imunogeničnosti, odnosno izazivanja imunog odgovora u ljudskom organizmu jer su po strukturi proteini ili peptidi te ih imunološki sustav čovjeka može prepoznati kao strano tijelo.

Nastajanje imunosnog odgovora je složeno te je opisano nekoliko načina. Protutijela mogu nastati direktnom aktivacijom naivnih B-limfocita specifičnih za lijek, a takva protutijela pripadaju imunoglobulinima M visokog afiniteta i imunoglobulinima G niskog afiniteta i karakteristična su za primarni kontakt s antigenom. U ponovljenom kontaktu s istim antigenom, specifičnih limfocita B je u organizmu više, zreli su te se lako i učestalo susreću s

antigenom putem specifičnih imunoglobulina na svojoj površini. Antigen se potom neutralizira te B limfocit služi kao stanica koja prezentira antigen, odnosno epitope specifičnim limfocitima T. Aktivirani limfociti T potom daju pomoć daljnjoj aktivaciji spomenutog limfocita B, što dovodi do pojačanja imunosne reakcije (Flower, 2009; Singh, 2011).

Imunogenost može utjecati na sigurnost primjene lijeka kao i na njegov farmakokinetički profil (Harding i sur., 2010). Posljedice imunogenosti mogu biti razne, od blažih reakcija preosjetljivosti na mjestu primjene do ozbiljnih nuspojava te do smanjenja ili čak potpunog gubitka terapijskog odgovora (Jahn i Schneider, 2009).

Na imunogeničnost proteina utječu čimbenici povezani s lijekom (postupak proizvodnje, promjene u aminokiselinskom slijedu, glikozilacija, denaturacija ili agregacija, prisutnost onečišćenja), čimbenici povezani s bolesnikom (dob, spol, nasljeđe, povijest bolesti) te čimbenici povezani s liječenjem (jačina lijeka, put primjene, ostali lijekovi u terapiji) (Schellekens, 2002).

Kako su utjecaj bolesti i bolesnika od ranije poznati iz iskustva s originalnim proizvodom ne moraju se ponovno ispitivati za biološki slični lijek. Pozornost se mora usmjeriti na biološki slični lijek odnosno promjene u građi njegove molekule. Većina tih osobina provjerena je najmodernijim analitičkim metodama. No, usprkos tome čak i minimalne razlike mogu imati utjecaj na imunogeničnost koji se ne mogu predvidjeti analitičkim modelima i ispitivanjima na životinjama. Podatci o imunogeničnosti u ljudi potrebni su prije licenciranja da bi se isključila moguća razlika između originatora i biološki sličnog lijeka (Schellekens, 2002).

Rizik od imunogeničnosti postoji kod svih bioloških lijekova, a ne samo kod biosličnih lijekova. Za odobrene bioslične lijekove dokazano je da imaju sigurnosni profil usporediv s referentnim lijekom stoga nije znanstveno utemeljeno smatrati da biosličan lijek može izazvati više imunih reakcija od referentnog lijeka (Schellekens, 2002).



#### 4.3.3. EKSTRAPOLACIJA INDIKACIJA

Ekstrapolacija indikacija je odobravanje biosimilara za indikaciju odobrenu originatoru koja nije direktno istražena u komparativnoj kliničkoj studiji sa biosimilarom. Jedan od razloga otpora mnogih liječnika propisivanju biosličnih lijekova upravo je mogućnost ekstrapolacije indikacija bez provođenja kliničkih ispitivanja.

Biološki sličan lijek za razliku do kemijski generičke molekule ne može se odmah koristiti za sve indikacije u kojima se koristi referentni proizvod te svaka ekstrapolacija podataka zahtijeva razumno znanstveno obrazloženje. Pritom je potrebno zadovoljiti nekoliko uvjeta:

- sličnost s referentnim proizvodom mora biti uvjerljivo pokazana (usporedna kompatibilnost). Opsežna usporedba fizikalnih i kemijskih svojstava kao i biološka aktivnost biološki sličnog lijeka i originalnog lijeka ovdje imaju temeljnu ulogu, a samo je izrazita sličnost preduvjet za smanjivanje potrebe za kliničkim istraživanjem;
- ako se u glavnoj indikaciji pokaže klinička sličnost, tada je moguća ekstrapolacija učinkovitosti i za druge indikacije. Ako je mehanizam djelovanja drugačiji ili nepoznat, bit će potrebne dodatne metode pomoću kojih će se dokazati da biološki sličan lijek ima isti učinak u tim indikacijama;
- posljednji preduvjet je i sigurnosni profil biološki sličnog lijeka, što uključuje i minimalni potencijal za imunogenični utjecaj (Kes i sur., 2014).

Ako se u usporednim kliničkim ispitivanjima dokaže biosličnost na jednoj indikaciji, moguća je ekstrapolacija kliničkih podataka o sigurnosti i djelotvornosti na druge odobrene indikacije referentnog lijeka, uz znanstveno obrazloženje i prethodni dokaz biosličnosti na razini fizikalno kemijske i strukturne analize te *in vitro* testova dopunjenih kliničkim podacima za jednu terapijsku indikaciju ([www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)).

Ne postoji univerzalni postupak odobravanja ekstrapolacije indikacija za biosimilare. Odobrenje nadležnih tijela se donosi na osnovu ukupnih dokaza koji omogućavaju raznoliku interpretaciju. Stoga regulatorne agencije mogu donijeti različite odluke za pojedini lijek (Tesser i sur., 2017).

#### 4.3.4. AUTOMATSKA ZAMJENJIVOST

(Ne)mogućnost zamjene bioloških/biosličnih lijekova tijekom trajanja terapije donosi podijeljena stajališta liječnika, ljekarnika, proizvođača i regulatornih tijela. Iako je EMA definirala bioslični lijek kao kvalitetnu, djelotvornu i sigurnu terapijsku alternativu referentnom lijeku, preporuke i principe zamjenjivosti biosličnog i referentnog lijeka određuje svaka država članica zasebno na nacionalnoj razini.

Većina država članica zauzima stav da izravna zamjena bioloških lijekova (tzv. automatska ili generička supstitucija), koja ne zahtijeva savjetovanje i posebno praćenje liječnika specijalista, kao što je moguće s generičkim lijekovima, nije dopuštena. Republika Hrvatska pripada skupini članica koje ne dozvoljavaju automatsku supstituciju.

Navedeno se ne odnosi samo na zamjenu originalnog biološkog lijeka s biosličnim lijekom već i biosličnog lijeka s originalnim biološkim lijekom ili jednog biosličnog lijeka s drugim biosličnim lijekom. Glavni je argument protiv izravne zamjenjivosti nemogućnost identifikacije, analize podataka i praćenja nuspojava lijeka tijekom primjene. To istovremeno ne znači da bioslični lijekovi nisu djelotvorni i sigurni kao originalni biološki lijekovi, već je važno da svaki lijek bude identificiran i praćen tijekom primjene, što kod izravne zamjene ne bi bilo moguće.

Također, automatska zamjena mogla bi biti problem i s praktičnog gledišta, a posebno u bolesnika koji sami primjenjuju lijekove (npr. različiti način pripreme, primjene ili pakiranja lijeka), što može povećati rizik za pogrešku i/ili smanjiti suradnju bolesnika ([www.almp.hr](http://www.almp.hr))

Praksa je većine europskih zemalja da se biološke lijekove u terapiji istog pacijenta može zamjenjivati samo na temelju preporuke i uz nadzor liječnika koji propisuje lijek i koji će pratiti prijelaz na drugi lijek te uz informiranost bolesnika. Na taj način donošenje odluke o propisivanju biosličnog ili referentnog lijeka postaje odgovornost liječnika u dogovoru s bolesnikom. Kod donošenja odluka o propisivanju biosličnog lijeka trebali uzeti u obzir jesu li lijeku odobrene sve potrebne indikacije, je li dostupan u potrebnim putovima primjene, jačinama i farmaceutskim oblicima te jesu li dodaci za primjenu lijeka prikladni za bolesnika ([www.england.nhs.uk](http://www.england.nhs.uk)). Stoga je očito da je od velike važnosti podrška u obliku edukacija i

smjernica o liječenju biosličnim lijekovima kao i prikupljanje informacija i dokaza o sigurnosti biosličnih lijekova u terapijskoj primjeni.

Iako se nepovjerenje u zamjenjivost bioloških lijekova temelji na nedostatnim podacima o sigurnosti ovakve primjene bioloških lijekova dosad nisu objavljeni podaci o nuspojavama uzrokovanim zamjenom referentnog lijeka biosličnim lijekom. Tematika zamjenjivosti biosličnih i referentnih lijekova važna je i zbog velikih troškova u zdravstvu koje donosi kronična dugotrajna terapija biološkim lijekom.

## **5. ZAKLJUČAK**

U ovom diplomskom radu dan je pregled najvažnijih informacija o biološkim lijekovima odnedavno dostupnima u ljekarni te mitovi i nedoumice vezane uz biološki slične lijekove, biosimilare. Biološki lijekovi se proizvode pomoću živih sustava te je ova činjenica uzrok mnogih različitosti između bioloških i kemijskih lijekova. Upoznavanjem sa strukturom i procesima proizvodnje bioloških lijekova, njihovim posebnostima i specifičnostima u odnosu na ostale skupine moguć je potpuniji pregled cijelog procesa te potpunije shvaćanje uvjeta za odobravanje od strane nadležnog regulatornog tijela kao i dvojbe prisutne u znanstvenoj zajednici.

Stavovi o biosimilarima kao manje kvalitetnim i njihova percepcija kao lijekova nižeg standarda su znanstveno neutemeljeni jer proizvodni proces za biološki sličan lijek mora udovoljavati zahtjevima kvalitete kao i za svaki drugi biološki proizvod. Ipak postoje određene bojazni oko bioloških i biološki sličnih lijekova koje su utemeljene na dokazima. Potencijalna imunogeničnost predstavlja glavni sigurnosni problem te čak i humana protutijela mogu izazvati imunosni odgovor. Rizik od imunogeničnosti postoji kod svih bioloških lijekova, a ne samo kod biosličnih lijekova. Za odobrene bioslične lijekove dokazano je da imaju sigurnosni profil usporediv s referentnim lijekom stoga nije znanstveno utemeljeno smatrati da biosličan lijek može izazvati više imunih reakcija od referentnog lijeka.

Za ekstrapolaciju indikacija ne postoji univerzalni postupak odobravanja za biosimilare. Odobrenje nadležnih tijela se donosi na osnovu ukupnih dokaza koji omogućavaju raznoliku interpretaciju. Stoga regulatorne agencije mogu donijeti različite odluke za pojedini lijek. Budući da je ovo jedan od glavnih razloga oklijevanja propisivanja biosličnih lijekova potrebno je provesti dodatnu edukaciju zdravstvenog osoblja o ovoj kontroverznoj temi.

Automatska zamjenjivost nije dopuštena u većini zemalja te je stajalište da se biološke lijekove u terapiji istog pacijenta može zamjenjivati samo na temelju preporuke i uz nadzor liječnika koji propisuje lijek i koji će pratiti prijelaz na drugi lijek te uz informiranost bolesnika.

## **6. LITERATURA**

1. Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED): Biološki i bioslični lijekovi, <http://www.almp.hr/Lijekovi/Informacije-o-lijekovima/Bioloski-i-bioslicni-lijekovi/>, pristupljeno 11.8.2019.
2. Baldo BA. Safety of Biologics Therapy. Switzerland, Springer International Publishing, 2016.
3. Berkowitz, SA i sur. Analytical tools for characterizing biopharmaceuticals and implications for biosimilars. *Nat Rev Drug Discov.*, 2012, 11(7), 527-540.
4. Buss N, Henderson S, McFarlane M, Shenton J, de Haan L. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Current Opinion in Pharmacology*, 2012, 615–622.
5. Davis J, Deng R, Boswell C. Monoclonal antibodies: from structure to therapeutic application. U: Crommelin D, Sindelar R, Meibohm B (urednici) *Pharmaceutical Biotechnology*. New York, Springer Science+Business Media, 2013, 143-178.
6. Flower D. Advances in predicting and manipulating the immunogenicity of biotherapeutics and vaccines. *Biodrugs*, 2009, 23, 231-240.
7. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues, 2014., [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active\\_en-2.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active_en-2.pdf)., pristupljeno 19. 8. 2019.
8. Harding F, Stickler M, Razo J, DuBridgde R. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies. *mAbs*, 2010, 2, 256-265.
9. <https://mediately.co/hr/drugs/FuDN1iQhVWr8jV9TDOQhLkkou1I/enbrel-50-mg-otopina-za-injekciju-u-napunjenj-brizgalici>, pristupljeno 25. 8 .2019.
10. <https://mediately.co/hr/drugs/PiBtG5t0WXzjj0gbPvm37vMPGY/humira-40-mg-0-8-ml-otopina-za-injekciju#packagings>, pristupljeno 24. 8. 2019.
11. [https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170127136936/anx\\_136936\\_hr.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170127136936/anx_136936_hr.pdf), pristupljeno 18. 8. 2019.

12. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/humira-epar-product-information\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/humira-epar-product-information_hr.pdf), pristupljeno 22. 8. 2019.
13. <https://www.zakon.hr/z/1255/Zakon-o-lijekovima-2013-2018>, pristupljeno 1. 9. 2019.
14. <https://www.zakon.hr/z/409/Zakon-o-lijekarni%C5%A1tvu>, pristupljeno 1. 9. 2019.
15. Jahn E, Schneider C. How to systematically evaluate immunogenicity of therapeutic proteins – regulatory considerations. *New Biotechnolog*, 2009, 25, 280-286.
16. Kes P, Mesar I, Jukić NB, Rački S. Što bi liječnici trebali znati o biološki sličnim lijekovima?. *Acta medica Croatica*, 2014, 68 (2), 201-205.
17. Lobo E, Hansen R, Balthasar J. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2004, 2645–2668.
18. National Health System England: Biosimilars. 2015, <https://www.england.nhs.uk/wpcontent/uploads/2015/09/biosimilar-guide.pdf>, pristupljeno 17. 8. 2019.
19. Nixon A, Sexton D, Ladner R. Drugs derived from phage display. *mAbs*, 2014, 6, 73–85.
20. Promjena mjesta izdavanja određenih bioloških lijekova i lijekova za liječenje multiple skleroze, 2019., <http://www.hljk.hr/Vijesti/tabid/37/ctl/Details/mid/4861/ItemID/5962/Default.aspx>, pristupljeno 16. 8. 2019.
21. Ribatti D. From the discovery of monoclonal antibodies to their therapeutic application: an historical reappraisal. *Immunology Letters*, 2014, 96–99.
22. Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2002, 1(6), 457-462.
23. Schroeder H, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2010, 348.
24. Singh S. Impact of product-related factors on immunogenicity of biotherapeutics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 100, 354–387.



25. Steinitz M. *Human Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols*. New York, Springer Science+Business Media, 2013, 1.

26. Tesser JRP, Furst DE, Jacobs I. Biosimilars and the extrapolation of indications for inflammatory conditions. *Biologics*, 2017, 11, 5–11.

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**

## SAŽETAK

Od lipnja 2019. biološke lijekove adalimumab i etanercept moguće je podizati u ljekarnama na razini primarne zdravstvene zaštite.

Biološki lijekovi se proizvode pomoću živih sustava kao što su mikroorganizmi ili kulture stanica dok se kemijski lijekovi dobivaju kemijskom sintezom. Ova činjenica je uzrok mnogih različitosti između navedenih skupina. Biosličan lijek je biološki lijek za koji je dokazana sličnost u pogledu kakvoće, biološke aktivnosti, sigurnosti primjene i djelotvornosti s odobrenim izvornim biološkim lijekom.

Adalimumab i etanercept se specifično vežu za TNF i neutraliziraju biološku funkciju TNF-a. Liječenje moraju započeti i nadzirati liječnici specijalisti s iskustvom u dijagnosticiranju i liječenju stanja za koja su lijekovi indicirani. Nakon odgovarajuće poduke o tehnici ubrizgavanja injekcija, bolesnici mogu sami sebi davati injekcije lijeka ako njihov liječnik procijeni da je to moguće provesti, uz medicinsko praćenje po potrebi. Niti jedan od navedenih lijekova nije prva linija liječenja već se koriste u situaciji kad nije postignut zadovoljavajući odgovor na konvencionalno liječenje, kod osoba koje ne podnose konvencionalno liječenje ili u kojih konvencionalno liječenje nije prikladno.

Stavovi o biosimilarima kao manje kvalitetnim i njihova percepcija kao lijekova nižeg standarda su znanstveno neutemeljeni. Potencijalna imunogeničnost predstavlja glavni sigurnosni problem, čak i humana protutijela mogu izazvati imunosni odgovor. Rizik od imunogeničnosti postoji kod svih bioloških lijekova, a ne samo kod biosličnih lijekova. Za ekstrapolaciju indikacija ne postoji univerzalni postupak odobravanja za biosimilare. Stoga regulatorne agencije mogu donijeti različite odluke za pojedini lijek. (Ne)mogućnost zamjene bioloških/biosličnih lijekova tijekom trajanja terapije donosi podijeljena stajališta. Većina država članica zauzima stav da izravna zamjena bioloških lijekova koja ne zahtijeva savjetovanje i posebno praćenje liječnika specijalista nije dopuštena.

## **SUMMARY**

Since June 2019, biological medicines adalimumab and etanercept can be picked up in a pharmacy at the primary health care level.

Biological medicines are made using live organisms such as microorganisms or cell cultures while chemical medicines are made using chemical synthesis. This is the cause of many differences between the two. Biosimilar medicine is a biological medicine which has proven similarity regarding quality, biological activity, safety and efficacy to the original biological medicine.

Adalimumab and etanercept bind specifically to the TNF and neutralize its biological function. Treatment must begin and be supervised by specialists with experience in diagnosing and treating conditions for which the drug has been approved. After adequate training patients can inject themselves with the medicine if the physician estimates that patient is able to do so, if needed with medical monitoring. None of the before mentioned medicines is used as the first line of treatment but rather in the situation when there is an inadequate response to the conventional treatment, with individuals that can not stand the conventional treatment or when conventional treatment is not appropriate.

Opinions regarding biosimilars and their perception as lower quality drugs are scientifically unfounded. Potential immunogenicity is a main health issue, even humanized antibodies can cause an immune response. Immunogenicity risk is present with all biological medicines, not only with biosimilars. For extrapolation of indications a unique procedure for biosimilars approval does not exist. Therefore regulatory agencies can come to different conclusions regarding a medicine. (In)ability to substitute biological/biosimilar medicine during the duration of the treatment has opposing views. Most of the countries decided that automatic substitution of biological medicines which does not require consultation and special monitoring by a specialist is not allowed.

**TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA /**  
**BASIC DOCUMENTATION CARD**

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakologiju  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### BIOLOŠKA TERAPIJA I BIOSIMILARI U JAVNIM LJEKARNAMA

Marin Vrhovac

#### SAŽETAK

Od lipnja 2019. biološke lijekove adalimumab i etanercept moguće je podizati u ljekarnama na razini primarne zdravstvene zaštite. Biološki lijekovi se proizvode pomoću živih sustava kao što su mikroorganizmi ili kulture stanica dok se kemijski lijekovi dobivaju kemijskom sintezom. Ova činjenica je uzrok mnogih različitosti između navedenih skupina. Biosličan lijek je biološki lijek za koji je dokazana sličnost u pogledu kakvoće, biološke aktivnosti, sigurnosti primjene i djelotvornosti s odobrenim izvornim biološkim lijekom. Adalimumab i etanercept se specifično vežu za TNF i neutraliziraju biološku funkciju TNF-a. Liječenje moraju započeti i nadzirati liječnici specijalisti s iskustvom u dijagnosticiranju i liječenju stanja za koja su lijekovi indicirani. Nakon odgovarajuće poduke o tehnici ubrizgavanja injekcija, bolesnici mogu sami sebi davati injekcije lijeka ako njihov liječnik procijeni da je to moguće provesti, uz medicinsko praćenje po potrebi. Niti jedan od navedenih lijekova nije prva linija liječenja već se koriste u situaciji kad nije postignut zadovoljavajući odgovor na konvencionalno liječenje, kod osoba koje ne podnose konvencionalno liječenje ili u kojih konvencionalno liječenje nije prikladno. Stavovi o biosimilarima kao manje kvalitetnim i njihova percepcija kao lijekova nižeg standarda su znanstveno neutemeljeni. Potencijalna imunogeničnost predstavlja glavni sigurnosni problem, čak i humana protutijela mogu izazvati imunosni odgovor. Rizik od imunogeničnosti postoji kod svih bioloških lijekova, a ne samo kod biosličnih lijekova. Za ekstrapolaciju indikacija ne postoji univerzalni postupak odobravanja za biosimilare. Stoga regulatorne agencije mogu donijeti različite odluke za pojedini lijek. (Ne)mogućnost zamjene bioloških/biosličnih lijekova tijekom trajanja terapije donosi podijeljena stajališta. Većina država članica zauzima stav da izravna zamjena bioloških lijekova koja ne zahtijeva savjetovanje i posebno praćenje liječnika specijalista nije dopuštena.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 40 stranica, 6 slika, 3 tablice i 26 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Biološka terapija, adalimumab, etanercept, biosimilari

Mentor: **Dr. sc. Petra Turčić**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Petra Turčić**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Zrinka Rajić**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

**Dr. sc. Davor Šakić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2019.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmacology  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### BIOLOGIC THERAPY AND BIOSIMILARS IN PHARMACY

**Marin Vrhovac**

#### SUMMARY

Since June 2019, biological medicines adalimumab and etanercept can be picked up in a pharmacy at the primary health care level. Biological medicines are made using live organisms such as microorganisms or cell cultures while chemical medicines are made using chemical synthesis. This is the cause of many differences between the two. Biosimilar medicine is a biological medicine which has proven similarity regarding quality, biological activity, safety and efficacy to the original biological medicine. Adalimumab and etanercept bind specifically to the TNF and neutralize its biological function. Treatment must begin and be supervised by specialists with experience in diagnosing and treating conditions for which the drug has been approved. After adequate training patients can inject themselves with the medicine if the physician estimates that patient is able to do so, if needed with medical monitoring. None of the before mentioned medicines is used as the first line of treatment but rather in the situation when there is an inadequate response to the conventional treatment, with individuals that can not stand the conventional treatment or when conventional treatment is not appropriate. Opinions regarding biosimilars and their perception as lower quality drugs are scientifically unfounded. Potential immunogenicity is a main health issue, even humanized antibodies can cause an immune response. Immunogenicity risk is present with all biological medicines, not only with biosimilars. For extrapolation of indications a unique procedure for biosimilars approval does not exist. Therefore regulatory agencies can come to different conclusions regarding a medicine. (In)ability to substitute biological/biosimilar medicine during the duration of the treatment has opposing views. Most of the countries decided that automatic substitution of biological medicines which does not require consultation and special monitoring by a specialist is not allowed.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 40 pages, 6 figures, 3 tables and 26 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Biologic therapy, adalimumab, etanercept, biosimilars

Mentor: **Petra Turčić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Petra Turčić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Zrinka Rajić, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Davor Šakić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019.