

Követő, biohasonló ellenanyagok fejlesztésének és alkalmazásának klinikai farmakológiai szempontjai

Kerpel-Fronius Sándor

Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest

A biológiai rendszerben előállított makromolekulák mikroheterogenitása miatt a követő biológiai hatóanyagok azonossága nem, csak nagyfokú hasonlósága bizonyítható. A gyógyszerként alkalmazott monoklonális ellenanyagok (antitestek) esetében a hasonlóság bizonyítását jóval nehezebbé teszi az IgG hatóanyag nagy molekulatömege, bonyolult szerkezeti felépítése és komplex biológiai hatásai. Az aminosav-szekvencia azonossága alapfeltétele a biohasonlóságnak. A glikozilált fehérjén elhelyezkedő szénhidrátláncokban kisebb eltérések elfogadhatók, amennyiben az eltérések nem okoznak jelentős funkcionális változást. Egyes stratégiaileg kiemelt helye(ke)n elhelyezkedő szénhidrátláncok változtatása azonban jelentős mértékben befolyásolhatja az ellenanyag biológiai tulajdonságait. Az ellenanyagok gyógyszeres hatása az antigén megkötése mellett több, az Fc fragmenshez kapcsolódó effektor funkcióhoz is kötött, mint például az antitest-, illetve komplementfüggő citotoxicitási reakciók (ADCC, CDC), fagocitózis. A biológiai jellemzéshez tehát számos funkciót kell mérni, ezek összessége alapján mondható ki a hasonlóság mértéke. A European Medicines Agency (EMA) és az amerikai Food and Drug Administration (FDA) egybehangzó szigorú követelmény-rendszere szerint a hasonló hatásosság és biztonság bizonyítása a legérzékenyebb és legalkalmasabb *in vitro* és *in vivo* vizsgálati elrendezésekben mért eredményeken nyugszik. Az összehasonlító farmakokinetikai és farmakodinámiás mérések, valamint dózis-hatás összefüggések hasonlósága szolgáltatják az alapvető bizonyítékrendszert. Ezeket egészítik ki az összehasonlító terápiás vizsgálatok, melyek végső soron alátámasztják a követő készítmény hasonló alkalmazhatóságát a klinikai gyakorlatban. A hasonlóság összesített megítélése minden adat közös értékelése alapján történő, egyedi döntés. Magyar Onkológia 56:104-112, 2012

Kulcsszavak: biohasonló, monoklonális ellenanyag, IgG, immunogenitás, forgalombahozatali engedély

*Due to the microheterogeneity of the macromolecules produced in biological systems, only the high degree of similarity but not the structural identity of the follow-on biological active agents can be proven. In case of monoclonal antibodies (mAbs) the proof of similarity is much more difficult due to the large molecular weight, complicated structure and complex biological effects of the IgG molecule. The identity of the amino acid sequence is the basic requirement of biosimilarity. Smaller changes in the carbohydrate side chains attached to the protein molecule can be accepted if they do not cause significant functional changes. On the other hand, the alteration of some carbohydrate side chain(s) located at strategically important sites might significantly influence the biological properties of the mAbs. Besides the antigen binding the pharmacological effects of the antibodies depend on several other effector functions related to the Fc fragment such as antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), complement-dependent cytotoxicity (CDC), and phagocytosis. Hence several biological functions must be measured and evaluated in their totality for stating the degree of biosimilarity. According to the concordant strict requirements of the European Medicines Agency (EMA) and the American Food and Drug Administration (FDA), the proof of similar efficacy and safety must be based on the results obtained in the most sensitive and suitable *in vitro* and *in vivo* experimental designs. The fundamental proofs are provided by the comparison of the pharmacokinetic and pharmacodynamic measurements, as well as the similarity of the dose-effect relationships. These observations are complemented by the comparative clinical therapeutic trials which eventually support the similar therapeutic use of the follow-on medicinal products in the clinical practice. The final judgement of biosimilarity is a case-by-case decision based on the joint evaluation of all the data available.*

Kerpel-Fronius S. Clinical pharmacological aspects of development and application of follow-on biosimilar antibodies. Hungarian Oncology 56:104-112, 2012

Keywords: biosimilar, monoclonal antibody, IgG, immunogenicity, marketing authorization

Levelezési cím: Dr. Kerpel-Fronius Sándor, Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, 1089 Budapest, Nagyváradi tér 4. Telefon: (36-20) 479-0380, Fax: (06-1) 210-4412, e-mail: kerfro@net.sote.hu

Közlésre érkezett: 2012. március 14. • Elfogadva: 2012. március 20.

BEVEZETÉS

A biológiai rendszerben előállított, gyógyszerként forgalmazott makromolekuláris, célzott terápiát biztosító hatóanyagok első képviselői a 19. és 20. század fordulóján jelentek meg. A diphtheria és tetanus antitoxinok fejlesztésével, gyártásával, ellenőrzésével és alkalmazásával kapcsolatos gondok azonnal világossá váltak az új terápiás korszak hajnalán. Elvileg ma is hasonló problémákkal küszködünk, csupán a tudományos háttér gazdagodott, melynek következtében jóval differenciáltabban tudjuk ezeket a kérdéseket megközelíteni. A kezdeti időszakban is, midőn az ellenanyagok termelése kizárólag állatokban történt, az ellenanyagok specifikus kötődésének bizonyítása, a kötődés affinitásának mértéke, a nyert biológiai készítmény tisztasága, a hatás erősségének pontos mérése, és végezetül az alkalmazott kiserelés stabilitásának biztosítása volt a fő cél. Korszakalkotó immunitási elmélete mellett, Ehrlich részben a szérumgyártás és standardizáció területén elért kiemelkedő eredményeinek elismeréseként érdemelte ki a Nobel-díjat. Az 1896-ban alapított, általa vezetett intézet fő megbízatása a szérumértékelés módszereinek tökéletesítése, illetve a szérumkészítmények hatékonyságának értékelése volt (2).

A rekombináns géntechnológia elterjedésével a biológiai gyógyszerek túlnyomó többségét, beleértve a komplex felépítésű ellenanyagokat is, sejtenyészetekben állítják elő. Természetesen a termelő sejtek genetikai módosításához alkalmazott módszerek, valamint a sejtvonal tulajdonságainak ellenőrzése további szempontok figyelembevételét eredményezte a gyógyszergyártás minőségének ellenőrzésében. A klinikus által alkalmazott biológiai gyógyszerek hatásossága és biztonsága jelentős mértékben ezekben a nem-klinikai vizsgálatokban nyert eredmények összességén nyugszik. E tekintetben nem különböznek az eredeti, innovatív biológiai és a szabadalmi, illetve adatkizárólagosági védelem lejártá után kifejlesztett ún. követő biológiai készítmények, melyeket ma az EMA (3, 6, 15, 16, 18, 22) javaslata alapján biohasonló (biosimilar) gyógyszereknek nevezünk. A követő biológiai gyógyszerek gyártóinak előnye, hogy a hatóanyag, valamint az alkalmazással kapcsolatos tudományos eredmények már ismertek. Ilyen módon a követő molekula fejlesztésében biztos alapokról lehet indulni, azonban a gyártáshoz alkalmazott biológiai rendszert, továbbá ellenőrzésének teljes technológiáját újonnan kell kifejleszteni a biohasonló gyógyszerkészítmény gyártásakor.

A biológiai makromolekulák finomabb térbeli szerkezetét a ma ismert analitikai módszerekkel még nem lehet teljes pontossággal meghatározni, ezért az eredeti és a biohasonló készítményben alkalmazott hatóanyag teljes azonossága nem bizonyítható. A biohasonlóságot fehérjetermészetű ha-

tóanyag esetében az aminosav-szekvencia azonosságának, továbbá a hatásosságot és biztonságot meghatározó paramétereknek a legérzékenyebb modelleken és vizsgálati elrendezésekben végzett összehasonlítása alapján állapítják meg. Ezek együttesen kielégítően valószínűsítik a követő készítmény hasonló klinikai hasznosíthatóságát. Ennek ellenére a hasonló klinikai hatásosságot és biztonságot megfelelő összehasonlító klinikai vizsgálatokban kell megerősíteni. Ezekben a vizsgálatokban az elsődleges cél tehát az összehasonlítás és nem a betegek hasznának felmérése, hiszen ezt az eredeti készítménnyel elért terápiás eredmények már kielégítően alátámasztották. A nem klinikai és betegeken végzett vizsgálatok összességének értékelése alapján nagy biztonsággal megállapítható, hogy a bizonyított hasonlóság mértéke elégséges-e az eredeti és a biohasonló készítmények nagyon hasonló klinikai felhasználásához. Igenlő válasz esetén a követő biológiai gyógyszer hatásosan és biztonságosan alkalmazható az alkalmazási előírásban meghatározott betegségek kezelésére még akkor is, ha az eredeti és követő készítmények hatóanyagának teljes azonossága nem bizonyítható (16, 18). A fentiek alapján a „biogenerikus” kifejezés alkalmazása félrevezető és helytelen, hiszen a biológiai hatóanyag teljes azonossága az eredeti és követő készítményben nem bizonyítható.

Mivel a biohasonlóságot bizonyító eljárás során szinte az összes önálló bevezetéshez szükséges vizsgálatot el kell végezni, számos fejlesztő nem az összehasonlításra, hanem a kifejlesztett készítmény önálló forgalombahozatali engedélyezésére törekszik, azaz önálló és nem összehasonlító dokumentációt nyújt be. Ezeket a gyógyszereket általánosságban „me too” gyógyszereknek nevezik, mivel azonos indikációban kerülnek forgalomba. Mivel engedélyezésüket nem alapozzák összehasonlító vizsgálatokra, az eredeti és a „me too” készítmény farmakológiai és minőségi hasonlóságának, illetve eltérésének mértékét nem lehet pontosan meghatározni. Ennek megfelelően klinikai alkalmazásuk kizárólag a vizsgált betegségre korlátozódik, az eredeti készítmény további indikációira történő extrapolációhoz hiányzik az összehasonlításból adódó tudományos alap (38). Az eredeti gyógyszertől szerkezetileg eltérő, vagyis nem hasonló, de azonos hatásmechanizmusú, gyakran lényegesen kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkező „bio-better” gyógyszereket új analógnak, eltérő ATC szám alatt vezetik be a klinikai gyakorlatba. Ilyen analógok például a hosszabb hatást biztosító darbepoietin és a metoxi-polietilén-glikol-epoietin-béta. Az első esetben öt további aminosav cseréjével az eritropoietin molekulában növelni lehetett a glikoziláció mértékét és a szialavtartalmú oldalláncok számát, ami a felezési idő megnyúlását eredményezte (7). Az utóbbi esetben pegilációval lehetett még hosszabb felezési időt elérni (24). A biotechnológia lehetővé teszi teljesen új makromo-

1. táblázat. A különböző biológiai készítmények nevezéktana Módosítva Weise és mtsai nyomán (38)

Név	Meghatározás
Hasonló biológiai készítmény	Az eredeti készítmény másolata, az aminosav-szekvencia azonos. Kisebb kémiai eltérések elfogadhatók, amennyiben nincs klinikai jelentőségük. Összehasonlító hatóanyag- és biztonsági vizsgálatok alapján fizikai-kémiai, valamint nem klinikai és klinikai tulajdonságaik bizonyítottan hasonlóak.
Me-too biológiai készítmény	Önállóan fejlesztett, de nem-innovátor, eredeti készítmény, mely eleget tesz a forgalombahozatali követelményeknek. Részletes összehasonlítás az eredeti készítménnyel nem feltétele az engedélyezésnek, ezért a fizikai-kémiai, biológiai hasonlóság mértéke nem ismert. Hasonló klinikai hatás egyedül nem ad részletes felvilágosítást a hatóanyag esetleges jelentős egyéb farmakológiai eltéréseiről, következésképpen alkalmazásuk kiterjesztése más indikációkra bizonytalan.
Bio-better (hozzáadott értékű) készítmények	Biológiai készítmények, melyek szerkezeti vagy funkcionális eltérései az eredeti készítménynél kedvezőbb vagy eltérő klinikai tulajdonságokat eredményeznek (például a hatóerősség, immunogenitás módosulását, stb.). Engedélyezésük a biohasonló és innovatív készítményekre alkalmazott stratégia elemeiből épül fel. A kedvezőbb klinikai tulajdonságokat megfelelő összehasonlító vizsgálattal kell bizonyítani.
Újabb generációs biológiai készítmények	

lekulak, például azonos antigént kötő, de teljesen új felépítésű antitest-szerkezetek létrehozását is (4). Az új generációs készítmények lényegesen előnyösebb lehetőségeket nyújthatnak a célirányított biológiai gyógyszerek fejlesztésében. A különböző módon és céllal fejlesztett biológiai gyógyszerek elnevezésére a fejlesztők és a hatóanyag szakemberek egy egységes terminológiát igyekeznek meghonosítani (38). A bio-better és az új generációs termékek közötti határvonal azonban nem határozható meg pontosan, biztosan jelentős véleményeltérések lesznek az egyes termékek besorolása tekintetében (1. táblázat). A gyógyszerár meghatározásakor és az ártámogatási csoportosításakor válnak ezek az eltérések jelentős gazdasági tényezővé.

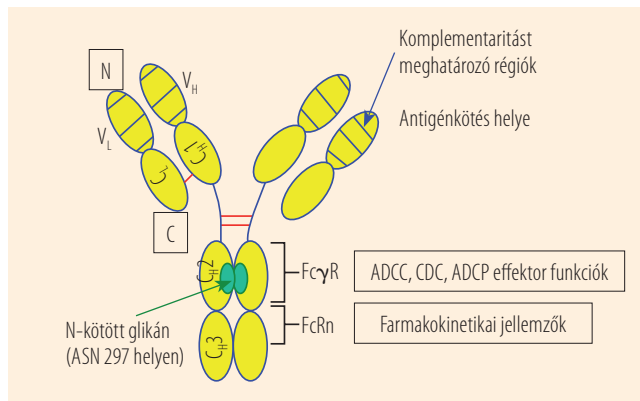
A CÉLZOTT TERÁPIÁHOZ ALKALMAZOTT MONOKLONÁLIS ELLENANYAGOK (ANTITESTEK) FELÉPÍTÉSE ÉS TERMELÉSE

A biohasonló ellenanyagok fejlesztése teljes mértékben követi a fenti alapelveket, azonban a monoklonális ellenanyagok bonyolult felépítése és komplex farmakológiai hatásai miatt

a vizsgálatok köre jelentősen bővül (14, 17). Az ellenanyagok nagy molekulású glikoproteinek, melyek közül a klinikai gyakorlatban elterjedt ellenanyagok csaknem kivétel nélkül az IgG1 osztályba tartoznak. Ez az izotípus fordul elő a legnagyobb mennyiségben a szervezetben, körülbelül egyenlő mértékben található a vérben és az extracelluláris térben. Az IgG1 immunoglobulin 146 kDa molekulatömegű „Y” alakú monomer diszulfidhidakkal összekapcsolt 2 nehézláncot és 2 könnyűláncot tartalmaz. A molekula sematikus felépítését az 1. ábra mutatja. A két nehézláncot a kapocs (hinge) régióban két diszulfidhíd köti össze. A nehézlánc konstans régiója 3 globuláris részből, a CH1, CH2 és CH3 doménkből áll, amelyeket a láncban belül elhelyezkedő diszulfidhidak stabilizálnak. A nehézlánc CH1 doménjéhez szintén diszulfidkötéssel kapcsolódik a két könnyűlánc konstans része (CL). A nehéz- és könnyűláncok N-terminális doménjei képezik a variábilis VH és VL régiókat. A nehéz- és könnyűláncokban található 3–3 hipervariábilis régió ujjakhoz hasonlóan zárja közre a megkötött antigént. Ennek megfelelően ezeket a komplementaritást meghatározó régióknak is nevezik (complementarity determining regions, CDR; az immunhálozat-teória keretében gyakran használják az idiotípus elnevezést is). A CDR szakaszokat az antigénkötésben közvetlenül nem érintett peptidszegmensek (framework regions) tartják össze (4, 25).

A papain az „Y” monomert két Fab (fragment antigen binding) és egy Fc (fragment crystallizable) fragmentumra hasítja. Az Fab rész kötődik az antigénhez, míg az Fc molekularész az effektor funkciókat váltja ki. Miután az Fab fragmentum megkötötte a célsejten található antigént, az Fc régió az effektor mononukleáris, neutrofil, eozinofil, illetve NK-sejteken található IgG-receptorokkal (FcγR), vagy a komplementrendszer egy összetevőjével (C1q) lép kapcsolatba. A kapcsolódás következtében meginduló ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), a CDC (complement-dependent cytotoxicity), az ADCP (antibody-dependent cellular phagocytosis) reakciók, illetve az Fcγ receptorokon kialakuló hiperkereszt-kötések által kiváltott apoptózis elpusztítják az antigént hordozó sejtet. Végezetül főleg az endothelsejtekben található ún. mentő (salvage) receptorhoz (FcRn) kötődés megvédi az IgG molekulát a gyors lizoszomális lebontástól. E kötődésnek köszönhető az IgG molekula aránylag hosszú, 21 órás felezési ideje. Az IgG molekulához meghatározott helyen kötődnek különböző szénhidrát oldalláncok. Ezek közül a két CH2 domén közötti térben található, a 297-es helyen elhelyezkedő aszparaginhoz kötődő szénhidrátlánc N-acetilglükózamin és mannóz alapszerkezetből épül fel, melyhez további fukóz-, galaktóz- és szialinsavmolekulák kapcsolódhatnak. E szénhidrátlánc összetétele és elhelyezkedése stratégiai jelentőségű. A biohasonló ellenanyagok esetében e szénhidrát-

1. ábra. Az IgG1 immunglobulin „Y” alakú monomer diszulfidhidakkal összekapcsolt nehéz- és könnyűláncokat tartalmaz. Az egyes láncokat stabilizáló belső diszulfidhidak nem kerültek feltüntetésre. A két nehézláncot a kapocs (hinge) régióban szintén diszulfidhidak kötik össze. A nehézlánc CH1, CH2 és CH3 doménekből épül fel. A nehézlánc CH1 doménjéhez szintén diszulfidkötéssel kapcsolódik a két könnyűlánc konstans része (CL). A nehéz- és könnyűláncok N-terminálisai képezik a variábilis VH és VL régiókat. A nehéz- és könnyűláncokban található 3-3 hipervariábilis régiót vonal jelzi. Ezek a komplementaritást meghatározó régiók ölelik körül a kötődő antigént (complementarity determining regions, CDR). A CDR szakaszokat tartó szerkezetet peptidszegmensek szolgáltatják (framework regions). A CH2 domének egymás felé mutató belső részein elhelyezkedő cukorlánc felépítése stratégiai jelentőségű, jelentős szerepet játszik az antitest receptorhoz való kötődésében. Az Fc fragmentum kötődése az Fc-receptorokhoz (Fc γ R) váltja ki az antitest farmakológiai hatásában fontos szerepet játszó ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), a CDC (complement-dependent cytotoxicity), illetve ADCP (antibody-dependent cellular phagocytosis) effektor funkciókat.



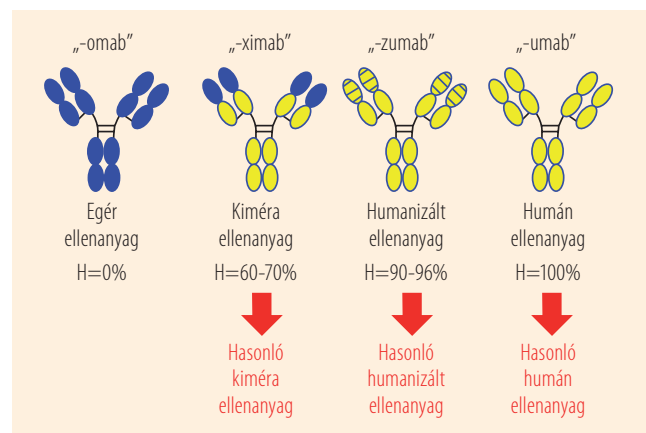
lánc felépítésének nagyfokú hasonlósága alapvetően fontos az Fc fragmentumhoz kapcsolódó effektor funkciók elvárt hasonlóságának elérésében (4, 25).

A legkorábbi terápiás monoklonális antitesteket egekben állították elő hibridóma technológiával. A meghatározott ellenanyagot termelő B-limfocitát immortalizált myelomasejttel fuzionálják *in vitro*. A keletkező hibridóma egér ascitesben szaporodva termeli a kívánt antitestet. Ez a módszer nem volt elégséges a modern klinikai gyakorlatban használt számos ellenanyag nagy mennyiségű termelésére. A problémát a géntechnológiai eljárások bevezetése oldotta meg. Az immunglobulinok egyes komponenseit kódoló, különböző kromoszómákon található géneit megfelelő sejtekbe beültetve lehetővé vált az egyes fehérjeláncok nagy mennyiségű *ex vivo* termelése, majd kémiai egyesítésükkel a megfelelő specificitású ellenanyag előállítása. Az egér antitestekkel már komoly terápiás sikereket lehet

tett elérni, azonban az eltérő fajban termelt ellenanyagoknak számos hátránya volt. Ezek közül legfontosabb jelentős antigenitásuk, mely hamar vezet a hatást semlegesítő, ún. neutralizáló antitestek képzéséhez. Emellett az egér Fc fragmentum gyengén kötődött az Fc γ R és FcRn receptorokhoz. A gyenge kötődés miatt a terápiás hatásban jelentős szerepet játszó effektor funkciók nem biztosítottak optimális hatást. Végezetül az egér antitestek aránylag gyorsan kiürültek a szervezetből.

Az egyes komponenseket meghatározó gének azonosítása lehetőséget nyújtott az antitest egyes részeinek célzott módosítására, mely megnyitotta az utat a különböző mértékben humanizált, majd később a teljesen humán antitestek termeléséhez. A kiméra antitestek első generációjában a teljes egér variábilis régiót kapcsolták össze a humán konstans régióval. Ez a kiméra még jelentős antigenitáshoz vezetett, mivel az ellenanyag 30–40%-a még egér eredetű volt. A humanizált antitestekben már csak az antigént körülölelő 6 CDR régiót, azaz a komplementaritást meghatározó peptidszakaszokat nyerték egér ellenanyagokból. Ilyen módon az egerből származó aminosavszekvenciák arányát 4–10%-ra csökkentették. Végezetül a humán antitestekben a variábilis régió CDR és szerkezeti fehérjei egyaránt emberi eredetűek. Az ellenanyagokat kódoló gének ismerete megnyitotta az utat a variábilis régió antigénkötésének, az effektor funkcióknak, farmakokinetikai és farmakodinámiai tulajdonságoknak további célirányos optimalizálásához (4, 10, 19) (2. ábra).

2. ábra. A klinikai gyakorlatban alkalmazott egér, kiméra, humanizált és humán antitestek. A kiméra antitestekben a teljes variábilis rész egér eredetű, míg a humanizált antitestekben csak a komplementaritást meghatározó régiók származnak egerből. A humanizáció mértékével csökken az antitestek immunogenitása, de a humán antitestek esetén sem tűnik el teljesen. A biohasonló antitesteknek a követett antitest típusal kell hasonlóságot mutatnia.



A humanizált és humán antitestek termelése lehetséges transzgenikus állatokban, melyekben a fajra specifikus antitest-géneket humán génekre cserélték. Az ipari méretű termelés azonban megfelelő géneket tartalmazó sejtenyészetekben jóval egyszerűbb. Lehetséges továbbá a gének növényekbe történő átvitele is, mely további gazdasági lehetőségeket nyújt az olcsó ellenanyag-termeléshez (33). A különböző felépítésű antigénkötő szerkezetek előállítására ma a legalkalmasabb módszer az ún. phage-display módszer. Ezzel az eljárással a megfelelő DNS-szekvenciát a fág köpenyfehérjéjébe kódoló génhez kapcsolják. A fagot borító fehérjeköpenyben megjelenik az a fehérje is, amelyet a fág génhez kapcsolt DNS kódol. A phage-display könyvtárak gyakorlatilag végtelen antigént kötő fehérjekombinációk létrehozását teszi lehetővé. A nehéz- és a könnyűláncok variábilis régióit rövid peptidláncsal összekapcsolva kicsiny antitesttöredéket, az ún. single chain variable domain antitest-fragmentumot (scFv) lehet létrehozni. Ezeket, mint építőköveket használva tetszés szerinti antigénkötő kombinációkat lehet előállítani, amelyek teljesen új távlatokat nyitnak a célzott ellenanyag-terápia számára (4, 10, 19).

KÖVETŐ MONOKLONÁLIS ELLENANYAGOK BIOHASONLÓSÁGÁNAK BIZONYÍTÁSA

A biohasonlóság fentebb tárgyalt alapkritériumai és bizonyításának alapelvei valamennyi biológiai készítményre vonatkozóan azonosak. A makromolekuláris hatóanyagok komplexitásának növekedésével azonban arányosan növekszik a hasonlóság bizonyításának összetettsége. Schneider gondolatmenetét követve a monoklonális ellenanyagok komplexitásuk miatt kifejezetten „individuális” hatóanyagok, melyek esetében csoportra vonatkozó, általános döntések nehezen képzelhetők el. Minimális változások a molekula felépítésében gyakran döntő farmakológiai eltéréseket eredményeznek. Érthető, hogy a biohasonló antitestek kapcsán az összes adat birtokában esetenként lehet csak döntést hozni a hasonlóság mértékére (26, 32, 34). A bizonyításhoz a legérzékenyebb és a legmegbízhatóbb vizsgálati modelleket kell választani, melyek alkalmasak arra, hogy megállapítsák a hasonlóság mértékét és a lehető legpontosabban felmérjék a hasonló biológiai gyógyszer bevezetésének kockázatát. Döntő szerepet játszik a farmakokinetikai, valamint a dózis-farmakodinámiás hatás összefüggések hasonlóságának kimutatása *in vitro* és *in vivo* kísérletekben. A mellékhatások megjelenésének és lefolyásának hasonlósága is fontos bizonyítékokat szolgáltathat. Ebben a vizsgálati rendszerben valójában az ember is „modellként” szerepel, az összehasonlító klinikai vizsgálatok elsődlegesen a farmakológiai és terápiás hasonlóság bizonyítását és nem közvetlenül a terápiás eredmények összevetését szolgálják, mivel a terápiás

végpontok adatai gyakran jóval nagyobb szórást mutatnak (17). A monoklonális antitestek hasonlóságának bizonyításával kapcsolatos számos gondot és nehézséget a hatósági és ipari szakemberek együttesen igyekeztek áttekinteni és megoldani egy szimpózium keretében (32).

Kémiai felépítés. A hasonlóság alapelve az aminosav-szekvencia azonossága. Ebből az elvből nyilvánvalóan következik, hogy például egy kiméra antitest követő készítménye nem lehet egy humanizált vagy humán antitest (2. ábra). A biohasonló ellenanyagok előállítása gyakorlatilag egy teljes gyártási folyamat, és minőségellenőrző módszerek bevezetését követeli meg. Feltételezhető volt, hogy számos utángyártó inkább egy csökkent immunogenitással rendelkező, minőségileg jobb humanizált vagy humán antitest gyártását fogja megkísérelni (34). Ez a feltételezés azonban tévesnek bizonyult, a jelen előrejelzések szerint inkább a klinikai gyakorlatban széles körben elterjedt molekulák, például a rituximab, trastuzumab lehető legpontosabb másolására törekszenek az utángyártók. A modern analitikai módszerekkel a kémiai hasonlóság, illetve különbözőség már aránylag pontosan dokumentálható. Például a referens és egy követő molekulaként fejlesztett trastuzumab esetében néhány aminosavat érintő eltérés helyét és jellegét, valamint a poszttranszlációs glikoziláció során beépült szénhidrátszarmazékok arányainak módosulását is nagy biztonsággal meg lehetett határozni, melyek alapján a biohasonlóság kizárható volt (39). Természetesen a szerkezeti eltérések funkcionális következményei-re csak a biológiai vizsgálatok adhatnak felvilágosítást.

In vitro farmakodinámiás vizsgálatok. A biológiai értékelésben döntő szerepet játszanak az *in vitro* eljárások, hiszen az állatmodellek az immunológiai eltérések miatt alig használhatók. Szükség esetén transzgenikus vagy transzplantált kísérleti állatok jöhetnek szóba. A vizsgálatokat minden esetben az EU-ban engedélyezett antitesttel szemben kell végezni, párhuzamos elrendezésben. Az *in vitro* vizsgálatok köre széles, és szükségszerűen le kell fednie a komplex IgG valamennyi tulajdonságát és funkcióit: az antitest-célantigén, illetve az Fc fragmentum-Fc γ receptorok kötődésének specificitását és erősségét, továbbá az Fab fragmentum neutralizációs, receptor-aktivációs vagy blokkoló hatásait, valamint az Fc effektor ADCC és CDC, valamint komplementaktivációs funkciót. Ezek a vizsgálatok alapvető fontosságúak, jelentős eltérés esetében a biohasonlóság feltételezése nagy biztonsággal elvethető (17, 32).

In vivo nem-klinikai vizsgálatok. Az állatkísérletek első sorban a minőség ellenőrzése kapcsán válnak szükségessé az előállítás során keletkező, illetve a termékre jellemző szennyezések, vagy kevésbé ismert *in vivo* anyagok vizsgálatakor. Az *in vivo* farmakokinetikai és farmakodinámiás vizsgálatok kísérleti állatokban nem adnak valóban használható felvilágosítást a célantigén, illetve a hozzá kapcsolódó jelátviteli rendszerek

eltérései, és végezetül az emberi antitestek ellen keletkező antitestek miatt. Az összehasonlító, toxikológiai vizsgálatokat leggyakrabban nem emberszabású majmokon végzik.

Klinikai vizsgálatok. Az in vitro összehasonlító farmakodinámiai kísérletek mellett az összehasonlító humán farmakokinetikai vizsgálatok képezik a biohasonlóság megállapításának második kiemelkedően jelentős pillérét. A hosszú, általában 20 nap feletti felezési idő miatt párhuzamos csoportos vizsgálati elrendezés javasolt, amennyiben etikailag lehetséges, egészséges önkénteseken. Mivel a clearance többszöri adagolás esetén változhat, a méréseket egyszeri adagolás után javasolt végezni. Az AUC értékek logaritmusának hányadosa a szokásos 90%-os konfidencia intervallum alkalmazása mellett 0,80–1,25 közé kell, hogy essen a biohasonlóság elfogadásához. A biohasonlósági vizsgálatokat betegekben is el kell végezni, törekedni kell a lehető leghomogébb betegcsoport kialakítására. Amennyiben patomechanizmusukban lényegesen eltérő betegségekben is alkalmazzák az ellenanyagot, akkor mindegyik betegségtípusban javasolt a biohasonlóság bizonyítása. A tumoros betegekben például a daganatteher csökkenésével párhuzamosan nőhet az antitest felezési ideje a szervezetben. További információt szolgáltat a biztonságos alkalmazáshoz a betegekben többszöri adagolás során a steady state elérésekor mért AUC_{ss} , $C_{max,ss}$ illetve az ismételt adagolást megelőző legalacsonyabb plazmaszint-értékek hasonlósága (17, 32).

Amennyiben megfelelő specificitással rendelkező és pontosan mérhető farmakodinámiai tulajdonság jellegzetesen megfigyelhető a betegekben, akkor a dózis-farmakodinámiai összefüggés hasonlósága jelentős érv a biohasonlóság mellett. Esetenként mellékhatás(ok) is alkalmazható(k) e célra. A biohasonlóság bizonyításának utolsó láncszeme a hasonló klinikai hatásosság és biztonság kimutatása statisztikailag megfelelő nagyságú, lehetőség szerint leghomogébb betegcsoportban. Ha van jól mérhető farmakodinámiai paraméter az összehasonlításhoz, akkor az elsődleges végpont gyakran eltérhet a szokásosan alkalmazott klinikai végponttól, melyet azonban másodlagos végpontként ilyenkor is követni kell. Onkológiában a klinikailag releváns végpontok, például a különböző túlélési paraméterek sokszor nagy szórást mutatnak, ezért statisztikailag biztosan értékelhető összehasonlításhoz esetenként több ezer beteget is kellene vizsgálni. Kisebb betegszámon nyert eredmények viszont nem nyújtanak kellő biztosítékot a biohasonló készítmény eredményes használatához potenciálisan kuratív beavatkozások esetében. Ezért az objektív remissziós ráta mérése, illetve az egyes betegekben mért százalékos tumor-méret-csökkenés (waterfall plot) alkalmasabbnak tűnik az összehasonlítás számára. Természetesen a mellékhatások jellegének, előfordulási arányának és súlyosságának összehasonlítása is fontos eleme a biohasonlóság elbírálásának.

Jellegzetesen randomizált, kettős vak vizsgálati elrendezésben hasonlítják össze az EU-ban forgalmazott referens gyógyszert a követő készítménnyel. A klinikai vizsgálatok elsősorban az egyenlőség bizonyítását célozzák, a nem-inferioritás kimutatását, noha elfogadhatónak tartják, klinikai szempontból mégis kevésbé biztonságosnak vélik. Minden paraméter esetében kritikus gond azon határérték megállapítása, melyen belül az eredeti és követő ellenanyag klinikai hatásossága és biztonságossága a gyakorlat szempontjából egyenlőnek értékelhető, noha a hatóanyagok teljes azonossága nem áll fenn. A klinikai hatásossági és biztonságossági megfigyelések extrapolációjának lehetősége egyik betegségről a másikra ellenanyag-terápia esetén jóval nehezebb, mint például a kevésbé komplex hatásmechanizmussal rendelkező eritropoietin vagy G-CSF esetében. Különösen nagy körültekintést igényel, ha felmerül a gyanú, hogy a kiválasztott kórképekben az antigén-antitest kötődés által kiváltott reakciók, az Fc részhez kapcsolható effektor funkciók klinikai jelentősége eltérő lehet, vagyis az ellenanyagok feltehetően nem teljesen azonos módon hatnak (32).

Immunogenitás. A biológiai terápia legnagyobb gondja a biológiai rendszerben előállított makromolekula-ellenes ellenanyagok megjelenésének lehetősége. Az antitestek komplexitása miatt semlegesítő antitestek képződhetnek az Fab és az Fc fragmentumokkal szemben is, ami sokrétű komplikációhoz vezethet. Az egér antitestek esetén csaknem minden esetben számolni kell jelentős mennyiségű antitest képződésével. Az immunogenitást lényegesen csökkentették a kiméra antitestek, további javulást hoztak a humanizált, majd a teljesen humán antitestek. A gyakorlat számára lényeges tudatosítani, hogy a humanizált és humán antitestek ellen is kell ellenanyag-képződéssel számolni, melynek gyakoriságát 1–10% közötti értékre becsülik (19). A jelentős szórás egyik oka az egyes terápiás antitestek eltérő tulajdonságai. Másik oka technikai, nevezetesen az, hogy az antitestek ellen képződő antitestek kimutatásának módszerei nem kellően érzékenyek és/vagy specifikusak (13, 14). Az antitestképződést a terápiás humanizált és humán monoklonális antitestben található két különböző antigéncsoport váltja ki. Az allotípiás epitópok fajon belüli genetikai variációk következményei, melyeket a nehézlánc, illetve kappa könnyűlánc konstans régióiban helyezkedő, különböző allélek által kódolt fehérjék váltanak ki. Amennyiben a kezelt beteg más allélekkel rendelkezik, akkor IgG allotópok ellen anti-allotípus antitestek keletkeznek. Az anti-idiotípus antitestek az antigént kötő hipervariábilis régió (CDR, idiotípus) ellen képződnek, hiszen ezek ismeretlen fehérjeként hatnak a szervezetre. Az anti-idiotípus antitestek gyakran az antitest antigénkötő helyére kötődnek és meggátolják az antigén-antitest kötődést. Más esetekben a hipervariábilis régió egyéb részeihez kötődve csak módosítják a kötés erős-

ségét, esetleg a molekula farmakokinetikai tulajdonságait. Elsősorban az anti-idiotípus immunogenitásnak van nagy gyakorlati jelentősége a klinikai gyakorlatban. A terápiás antitestek immunogenitásának csökkentése a molekuláris szerkezet változtatásával igen fontos szempont újabb, biztonságosabb antitestek kifejlesztésében (19).

Az immunogenitás követésére kidolgozott általános, valamennyi biológiai hatóanyagra kiterjedő EMA-irányelvet (13) újabban kiegészítették a monoklonális ellenanyagokra vonatkozó speciális előírásokkal (14). Hasonlóan valamennyi biológiai hatóanyaghoz, a molekula további változásai a gyártás, kiszerezés, tárolás és az alkalmazási előkészítés során szintén okozhatják az immunogenitás módosulását. Ebből a szempontból az eredeti és biohasonló készítmények a különböző gyártási eljárások következtében eltérőek lehetnek, ezért kell oly nagy figyelmet fordítani a minőségi jellemzőkre a hasonlóság mértékének megítélésakor. Természetesen a beteg és a betegség tulajdonságai, a beadás módja, az alkalmazás hosszúsága mind jelentős szerepet játszanak. Az antitestek adagolásához társuló immunogenitással kapcsolatos leggyakoribb tünetek a hatásosság csökkenése, szérumbetegség/immunkomplexhez kapcsolódó betegség, szervi károsodások, súlyos allergiás reakciók. A leggyakrabban megjelenő gyógyszerellenes antitestek az IgG csoportba tartoznak, esetenként azonban IgM, IgA, és allergiás reakciók esetén IgE is kimutathatók. Az immunogenitás bizonyításához a klinikai tünetek, a hatásosság és mellékhatások, a farmakokinetikai/farmakodinámiás változások időbeni megjelenése a vezető támpontok. Ezek mellett mindenképpen törekedni kell a keletkező, immunogenicitásért felelős antitestek kimutatására és mennyiségük alakulásának időbeni követésére, noha ez technikailag komoly problémát jelenthet. Végsőül szükséges olyan in vitro biológiai vizsgálati modell beállítása, melyben a terápiás antitest hatásának felfüggesztését lehet mérni a gyanúsított antitest(ek) jelenlétében. Ezért minden terápiás antitest gyártónak a fejlesztés és a klinikai alkalmazás során fel kell készülnie az interferáló antitestek kimutatására a kockázatkezelési terv részeként (13, 14).

Az EMA- és a közelmúltban kiadott FDA (11, 12) szabályozások egybehangzóan magas minőségi és biztonsági hasonlóságot követelnek meg a biohasonló készítményektől. Ezért fontos az EMA, illetve az FDA által elfogadott biohasonlósági és minőségi követelményeket nem kielégítő készítmények külön csoportként történő kezelése, melyek forgalmazása természetesen az EMA és FDA által szabályozott piacokon nem engedélyezett. Ezek a készítmények biológiailag hatásosak, de szennyeződések esetenként jelentős biztonsági kockázatot jelenthetnek. A monoklonális ellenanyagok közül az önálló indiai fejlesztésű rituximab 2007-ben jelent meg Reditux néven, és azóta is sikeresen használják elsősorban az onkológiai és rheumatoid arthritis terápiában (30). Ára körülbelül fele az

Egyesült Államokban és Európában különböző cégek által forgalmazott originális készítményének. Az eredeti készítménnyel összehasonlítva bizonyítható az azonos aminosav-szekvencia, de emellett jelentős eltérések észlelhetők. Többek között a gyártáshoz használt sejtekből származó fehérjék mutathatók ki, enyhe eltérések találhatóak a glikozilációban, a kiváltott effektor funkciókban (28). Az egyes eltérések klinikai jelentősége megfelelő összehasonlító vizsgálatok hiányában nem ítéhető meg pontosan. Elsősorban a gyártáshoz alkalmazott biológiai rendszerből bekerülő szennyező fehérjék jelentenek biztonsági kockázatot. Éppen emiatt az EU minőségi elvárásai jóval magasabbak a világ számos országában elfogadott követelményeknél (26). A szigorú elbírálással együtt természetesen nőnek az előállítási követelmények, a biohasonlóság kimondásához szükséges módosítások a Reditux árát feltehetően jelentősen megemelnék (36). Az elmondottak alapján szükséges felhívni a gyakorló orvosok figyelmét arra, hogy a biológiai gyógyszerek esetén nemcsak tilos, de kifejezetten veszélyes lehet az EU-ban nem engedélyezett biológiai gyógyszerekkel történő kezelés még akkor is, ha a klinikai hatásosságot más országokban kellően dokumentálták.

A JÖVŐ TÁVLATAI, A JELEN GONDJAI

A molekuláris biológia fejlődése, az ellenanyagokat felépítő részek összetételének és tulajdonságaiknak megismerése lehetőséget nyújtanak az antitestek tulajdonságainak messzemenő optimalizálására (19), sőt a természetben nem található ellenanyagok szinte tetszés szerinti változottságban való előállítására is (4). Izgalmas lehetőség, de nem könnyen megvalósítható az ún. bispecifikus antitestek előállítása, melyekben az antitest „Y” szárának végéhez kötnek azonos, vagy éppen más-más antigénre specifikus variábilis régiókat. Ilyen módon több antigénen egyszerre igyekeznek additív vagy szinergista hatást kiváltani (10). A fehérje-bioengineering mellett a glycoengineering is újabb, hatásos molekulákhoz vezethet. Az eddigi tapasztalatok azt mutatják, hogy az IgG molekulán elhelyezkedő szénhidrátláncok kisebb eltérései általában nem okoznak funkcionális változásokat, és elfogadhatóak a biohasonlóság megállapításakor. A CH2 domének között a 297-es helyen található aszparaginhoz kötődő szénhidrátoldallánc a fukóz szerepét azonban döntő jelentőségűnek találták az ellenanyag klinikai farmakológiai tulajdonságainak meghatározásában. A fukóz eltávolítása már az egyik láncról is az IgG térbeli szerkezetét oly mértékben változtatja, hogy az könnyebben lesz képes illeszkedni az immun effektor sejtek FcγRIII receptoraihoz (27). Az affinitás emelkedésével fokozódnak az Fc fragmentum által kiváltott effektor ADCC, illetve az ún. 2-es típusú közvetlen sejtkárosító hatások (9). A fukózmentes, új generációs CD20-ellenes anti-

test különösen az alacsony affinitású FcγRIII receptorokkal rendelkező betegek számára biztosított hatásosabb kezelést. A limfómák kezelésében az így létrehozott fukózmertes CD20-ellenes obinituzumab (GA101) eredményesebbnek tűnt a rituximabnál a korai összehasonlító klinikai vizsgálatokban (5). A kötődés mértékének hasonló fokozódásához vezetett, ha a célsejten található receptor molekuláról távolították el az Asn-162-höz kötődő szénhidrát-molekulát. Ez a receptorváltozat a klinikai gyakorlatban is megfigyelhető volt olyan betegekben, akik kiemelten jól reagáltak rituximab-kezelésre (37). Viszont ha az antitestről és a receptorról is eltávolították a szénhidrát-molekulákat, akkor érdekes módon az affinitás jelentősen csökkent.

A klasszikus módszerekkel fejlesztett monoklonális antitestek eltérései szintén újabb generációs antitestekhez vezethetnek. Előfordul, hogy azonos antigén ellen termelt antitest az antigénezen található eltérő epitóphoz kötődik, aminek következtében az antitest klinikai farmakológiai tulajdonságai megváltoznak. Ezeknek a nem biohasonló ellenanyagoknak éppen a különbözőségét lehet eredményesen felhasználni. A HER2 ellen termelt humanizált trastuzumab például a receptor szubdomén IV-hez, míg a szintén HER2-ellenes pertuzumab a szubdomén II-höz kötődik. Mindkét ellenanyag képes ADCC-reakciót kiváltani. A trastuzumab specifikusan gátolja a HER2 által kiváltott, nem ligand-dependens mitogén jelátvitelt, ezzel szemben a pertuzumab blokkolja a HER2 receptor dimerizációját más HER receptorokkal. Különösen a HER2 és HER3 dimerizációjának gátlása okozott sejttényészetekben jelentős tumornövekedés-gátlást (8). Kézenfekvő volt az azonos antigén eltérő epitópjai ellen termelt antitestek kombinációja. Emlőtumoros betegekben is a docetaxel trastuzumabbal és pertuzumabbal együttesen adagolva jóval eredményesebbnek bizonyult, mint a kontroll trastuzumab + docetaxel kezelés. A medián progressziómentes túlélés 12,4 hónapról 18,5 hónapra nőtt ($P < 0,001$) (1).

Az EU-ban biohasonló monoklonális antitestek még nem kaptak forgalombahozatali engedélyt, de hamarosan várható megjelenésük a kereskedelmi forgalomban. Az EMA nagyon kiterjedten és alaposan foglalkozott a biohasonló ellenanyagok befogadásának elveivel, a jelen munka ezeket az elveket igyekezett megvilágítani a klinikusok számára. A biohasonló ellenanyagok helyettesíthetőségének kérdésében természetesen még nem alakult ki klinikai tapasztalatokon nyugvó álláspont. Azonban az elv minden bizonnyal hasonló lesz az egyszerűbb felépítésű biohasonló molekulák esetén követett gyakorlathoz, mellyel kapcsolatban korábbi magyar közleményre utalok (21). A széles körben elfogadott hatósági és klinikai álláspont szerint a kezelés megkezdésére az eredeti és biohasonló követő készítmények egyaránt megfelelőek. Az elkezdett terápiát azonban ugyanazon készítménnyel javasolt végezni, mivel a készítmények gyakori cseréje a klini-

kai tapasztalatok szerint fokozott immunogenitáshoz vezet (23, 29). Éppen ezért biológiai gyógyszereket érintő váltást klinikai indokok alapján kizárólag a kezelő orvos végezzen. A biohasonló, a jobb tulajdonságokkal rendelkező „bio-better”, illetve az újabb generációs, de azonos antigént támadó készítmények csoportosítása és besorolása a támogatási rendszerbe a közeli jövő jelentős szakmai kihívása lesz, melyre az egészségügyi biztosítóknak és a felhasználóknak közösen kell a költséghatékony klinikai gyakorlatot optimálisan támogató megoldást találni. A gyakorlat számára talán a legfontosabb, hogy a kezelőorvosok az eredeti és követő monoklonális ellenanyag-készítményeket önálló gyógyszerként, a bizonyított egyedi biztonságossági és hatásossági tulajdonságaik alapján alkalmazzák, hiszen a biohasonlóság elsősorban klinikai farmakológiai fogalom.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom Buzás Zsuzsanna, Holló Zsolt, Medgyesi György és Nagy András kollégáknak, akik kiváló szakmai tanácsaikkal jelentős segítséget nyújtottak a közlemény gondolatainak és következtéseinek egyértelmű és világos kifejtésében, az eltérő szakmai vélemények feloldásában és végezetül az alkalmazott szakmai szóhasználat egységesítésében, mely még ma is számos ellentmondással terhelt.

IRODALOM

1. Baselga J, Cortés J, Kim S-B et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 366:109–119, 2012
2. Bäuml E. Paul Ehrlich research for life. Eds. Gericke D, Jung H, Metz T, et al. Public Relation Department of Hoechst AG. 1979
3. Buzás Z. Biohasonlóság és bioekvivalencia. *Magyar Orvos* 12:37–40, 2010
4. Carter PJ. Potent antibody therapeutics by design. *Nat Rev Immunol* 6:343–357, 2006
5. Chustecka Z. Obinituzimab. New drug to replace rituximab? American Society of Hematology Annual Meeting, Abstract 629, 2011
6. Eggenhofer J. Biológiai készítmények, biohasonlóság, hasonló biológiai készítmények. *Orvostovábbképző Szemle* 14:12–18, 2007
7. Egrie JC, Browne K. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* 16(Suppl 3):3–13, 2001
8. El-Sahwi K, Bellone S, Cocco E, et al. In vitro activity of pertuzumab in combination with trastuzumab in uterine serous papillary adenocarcinoma. *Br J Cancer* 102:134–143, 2010
9. Ferrara C, Stuart F, Sondermann P, et al. The carbohydrate at FcγRIIIa Asn-162. An element required for high affinity binding to non-fucosylated IgG glycoforms. *J Biol Chem* 281:5032–5036, 2006
10. Fitzgerald J, Lugovskoy A. Rational engineering of antibody therapeutics targeting multiple oncogene pathways. *MAbs* 3:299–309, 2011
11. Guidance for industry. Scientific considerations in demonstrating biosimilarity to a reference product. 2012. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM291128.pdf>
12. Guidance for industry. Quality considerations in demonstrating biosimilarity to a reference protein product. 2012. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM291134.pdf>
13. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006
14. Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use. EMEA/CHMP/BMWP/86289/2010, 2010. <http://www.emea.eu.int>
15. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues. Committee for Me-

- dicinal Products for Human Use. EMEA/CHMP/BWP/ 49348/2005, 2006. <http://www.emea.eu.int>
16. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMEA/CHMP/BWP/42832/2005, 2006. <http://www.emea.eu.int>
17. Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMA/CHMP/BWP/403543/2010, 2010. <http://www.emea.eu.int>
18. Guideline on similar biological medicinal products. Committee for Medicinal Products for Human Use. CHMP/437/04, 2005. <http://www.emea.eu.int>
19. Igawa T, Tsunoda H, Kuramochi T, et al. Engineering the variable region of therapeutic IgG antibodies. *MAbs* 3:3243–252, 2011
20. Kerpel-Fronius S. Biológiai gyógyszerek ártámogatása klinikai farmakológiai nézőpontból. *IME* 9:52–58, 2010
21. Kerpel-Fronius S. Eredeti és hasonló biológiai gyógyszerek alkalmazásának klinikai farmakológiai elvei és nehézségei. *LAM* 20:485–491, 2010
22. Kerpel-Fronius S. Hasonló biológiai (biosimilar) követő gyógyszerek fejlesztésének és alkalmazásának klinikai farmakológiai elvei. *Orvosi Hetilap* 48:915–921, 2007
23. Ku A. Considering all the factors. *BioCentury* 15:A1–A5, 2007
24. Macdougall IC, Eckardt KU. Novel strategies for stimulating erythropoiesis and potential new treatments for anaemia. *Lancet* 368:947–953, 2006
25. Mayer G. Immunoglobulins – structure and function. In: *Immunology. Microbiology and Immunology on-line*. University of South Carolina, School of Medicine, 2006. <http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/IgStruct2000.htm>
26. McCamish M és Woollett. Worldwide experience with biosimilar development. *MAbs* 3:209–217, 2011
27. Oflazoglu E, Laurent P, Audoly LP. Evolution of anti-CD20 monoclonal antibody therapeutics in oncology. *MAbs* 2:14–19, 2010
28. Yang P. Roche – an innovator's perspective and position on biosimilars. www.roche.com/irp101005.pdf
29. Public Statement. EMEA completes the review of recombinant factor VIII products and inhibitor development. EMEA/310225/2007. <http://www.emea.eu.int>
30. Reditux-Leaflet-India.pdf, Dr. Reddy's Laboratories Ltd.
31. Reichert JM. Which are the antibodies to watch in 2012? *MAbs* 4:1–3, 2012
32. Reichert JM. Next generation of biosimilar monoclonal antibodies. Essential consideration towards regulatory acceptance in Europe. *MAbs* 3:223–240, 2011
33. Rituximab biosimilar successfully produced in plants. Posted 21/10/2011, www.gabionline.net
34. Schneider CK, Kalinke U. Toward biosimilar monoclonal antibodies. *Nat Biotechnol* 26:985–990, 2008
35. Scientific considerations in demonstrating biosimilarity to a reference product. 2012. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM291128.pdf>
36. Scolnic P. Perspective mAbs. A business perspective. *MAbs* 1:179–184, 2009
37. Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the FcγR. *J Biol Chem* 276:6591–6604, 2001
38. Weise M, Bielsky M-C, De Smet K, et al. Biosimilars – why terminology matters. *Nat Biotechnol* 29:690–693, 2011
39. Xie H, Chakraborty A, Ahn J, et al. Rapid comparison of a candidate biosimilar to an innovator monoclonal antibody with advanced liquid chromatography and mass spectrometry technologies. *MAbs* 2:379–394, 2010

H I R D E T M É N Y

A MAGYAR PATHOLOGUSOK TÁRSASÁGA ÉS A MAGYAR ONKOLÓGUSOK TÁRSASÁGA

által a 2011. évre meghirdetett

„A vezérelt cytologiai mintavételek helye a betegellátásban”

című

KROMPECHER ÖDÖN

pályázat nyertese:

- I. helyezést ért el:** „ORCA” jeligével Ács Balázs, SE ÁOK IV. évf. hallgató
- II. helyezett:** „TADEUSZ” jeligével Sághi Márton, SE ÁOK V. évf. hallgató
- III. helyezett:** „Esti Kornél” jeligével Oláh Roland, PTE ÁOK VI. évf. hallgató

Budapest, 2012. március

MAGYAR PATHOLOGUSOK TÁRSASÁGA
és
MAGYAR ONKOLÓGUSOK TÁRSASÁGA
VEZETŐSÉGE