

Problematika originálních léčiv, generických přípravků a biosimilars – záměny léků dnes a zítra s hlavním zacílením na rizika spojená s biotechnologiemi

The Problematic of Original and Generic Drugs and Biosimilars – Switching of Drugs Today and Tomorrow with the Main Targeting on Biotechnologies-Associated Risks

Svoboda T.

KOC FN Plzeň

Souhrn

V onkologii i ostatních oborech klinické medicíny se v poslední dekádě stále více uplatňují poněkud levnější formy léků, jejichž výrobu umožnilo skončení patentové ochrany původně používaných originálních přípravků. Nejdůležitější otázkou je tedy dnes účinnost a spolehlivost generik a především léků vyráběných biotechnologicky, tzv. biosimilars. Právě s jejich podáváním je spojena řada dosud nevyřešených problémů. Následující přehled shrnuje současné poznatky týkající se bezpečnosti biosimilars a s nimi spojenými možnými riziky.

Klíčová slova

originální léky – generika – biosimilars – biotechnologie – farmakokinetika – farmakodynamika – imunogenicitá

Summary

Cheaper drug forms have been administered more and more in the last decade in oncology and in other fields of clinical medicine, too. Their production was enabled by the end of patent protection of the original drugs used previously. The efficacy and reliability of generic drugs and primarily medicaments produced by biotechnology -so-called biosimilars – is the most important question today. There are still some unresolved problems associated with their administration. The current knowledge concerning the safety of biosimilars and possible risks associated with their use is summarised in this review.

Key words

original drugs – generics – biosimilars – biotechnology – pharmacokinetics – pharmacodynamics – immunogenicity

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declares he has no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Tomáš Svoboda

KOC FN Plzeň

Doudlevecká 69

301 33 Plzeň

e-mail: svobodat@fnplzen.cz

Obdrženo/Submitted: 11. 3. 2010

Přijato/Accepted: 3. 8. 2010

Úvod

V posledních letech došlo k významnému rozšíření portfolia nejen onkologických přípravků. Příčinou tohoto jevu jsou dvě skutečnosti: zavádění cílené biologické terapie (i když zatím jen u některých diagnóz a v limitovaném počtu, ale s perspektivou dalších 1 500–2 000 nových léčiv, která zatím procházejí preklinickým testováním a základním klinickým výzkumem), ale hlavně rozšíření dosavadní nabídky originálních preparátů o jejich lékové ekvivalenty, generika, po vypršení ochranného patentu. Generika by měla představovat kvalitativní a kvantitativní obdobu originální látky, obsahují stejnou účinnou substanci, mají shodnou lékovou formu a jejich efektivitu by měly doložit bioekvivalenční studie.

Cílem pro zavádění generických přípravků bylo díky jejich výrazně nižší ceně (např. ve Španělsku se u některých léčiv pohybuje na úrovni 30 % ceny originálu) dosažení zvýšené dostupnosti těchto léčiv v méně ekonomicky vyspělých zemích a ve státech vyspělých pak snížení nákladů a udržení široké dostupnosti lékařské péče. Problémem zůstává, že zatímco originální léčiva procházejí dlouhým, náročným a nákladným (miliardy dolarů) klinickým zkoušením ve studiích zahrnujících minimálně 3 fáze na tisících pacientů, k potvrzení podobné účinnosti generika postačuje uvedená bioekvivalenční studie (testování stejné dávky a lékové formy se stejnou indikací a aplikací u těžce skupiny nemocných) se třemi desítkami zdravých dobrovolníků. Nezodpovězenou otázkou také zůstává, zda se lze zcela spokojit s požadovanou účinností v rozmezí 80–125 % originálního léku (platné i pro biosimilars), pokud je z aplikace např. cytostatik a jejich kombinací v léčbě nádorových onemocnění známo, že podání dávky pod 85 % plánované účinnosti má účinnost podobnou placebo či ponechání bez léčby [1], což vede k významnému zhoršení přežití bez relapsu i celkového (jednoznačně doloženo na příkladu karcinomu prsu nebo NHL) [2,3], zatímco aplikace dávek standardních je naopak často na hranici tolerability a dávka o čtvrtinu vyšší by tudíž mohla způsobit velmi vážné kompli-

kace nebo nemocné ohrozit. Efektivita generik by se tak teoreticky mohla pohybovat od úrovně látek prakticky neúčinných až po léky s extrémní toxicitou. Přesto je generická záměna ve většině případů poměrně dobře proveditelná, bezpečná a někdy může představovat nejjednodušší řešení intolerance léčby, která může mít souvislost s reakcí na použité vehikulum a při podání stejné účinné látky odlišně připravené se neprojeví, takže lze pokračovat v podávání prakticky stejného preparátu.

Odlišnou kapitolou jsou z mnoha důvodů tzv. biosimilars (v americké literatuře uváděné jako FOB's – Follow-on Biologics), tedy látky připravované většinou generickými firmami biotechnologicky. Právě biotechnologickým léčivům bývá odbornou veřejností přisuzována obrovská budoucnost s tím, že by v brzké době měla nahradit léky vyráběné chemicky, výdaje na ně by měly předpokládaně narůstat o 15–30 % ročně [4] a jejich podíl na finančním trhu by tak mohl již v příštích letech přesáhnout 50 % [5,6]. Biotechnologické léky, tj. originální přípravky i jim podobné biosimilars, jsou vyráběny pomocí živých, často geneticky modifikovaných buněčných a speciálních tkáňových kultur (typicky náhradou nebo doplněním přirozeného tělesného proteinu), jejich struktura bývá velice heterogenní a tím jsou poměrně nestabilní, s možností vzniku odlišné charakteristiky v závislosti na změnách okolního prostředí. Jejich molekuly jsou velké (mnohonásobně vyšší molekulová hmotnost proti malým molekulám chemicky syntetizovaných léčiv) a tím dosti fragilní a mechanismus jejich účinku může být zajišťován molekulami jinými, jako jsou buněčné receptory nebo nukleové kyseliny. Možnosti standardizace výrobního procesu jsou při rizicích odlišné glykosylace, kontaminace nebo změny 3D struktury jen velmi obtížně zajišťitelné. Např. glykosylace rekombinantních proteinů může ovlivnit jejich degradaci, solubilitu a vystavení antigenním vlivům se vznikem nových antigenních epitopů odlišných od mateřské molekuly způsobí potenciální nárůst imunogenicity a může ovlivnit biologickou aktivitu a metabolický poločas. Zdrojem znečištění mohou být che-

mikálie nebo antibiotika užitá v průběhu výrobního procesu, stejně jako kontaminace mikrobiální nebo virové etiologie. Tyto signály následně aktivují prostřednictvím T- a B-buněk po podání léku imunitní odpověď. Příčinou změn ve 3D konfiguraci proteinu mohou být jejich agregace vlivem rozpouštědel, teploty, povrchových interakcí a dalších manipulací [7]; oxidativním procesům, které mohou být vyvolány expozicí světlu; nebo deaminací v průběhu výroby [8]. Může však dojít i k metylaci, acetylaci a dalším změnám v terciární a kvartérní struktuře bílkoviny. Již z vlastního názvu vyplývá, že na rozdíl od chemicky definované stejné struktury generik se v případě biosimilars jedná o látky pouze podobné (molekule originálu, podané ve stejné indikaci a dávce), jejichž unikátnost se navíc může v průběhu času měnit [9]. K doposud známým 120 přípravkům je nutno připočítat dalších 400, u kterých probíhá intenzivní výzkum, přičemž největší zájem je zatím o oblast onkologie, infekčních a autoimunitních onemocnění a poškození dýchacího traktu.

Výhodou biotechnologické výroby, probíhající většinou při tělesné teplotě, je její energetická nenáročnost, šetrnost k životnímu prostředí a bezodpadovost, je tedy ekologická. Nevýhodou je naopak obtížná schopnost dodržení vysokých požadavků na kvalitu a reprodukovatelnost výrobního procesu (jen u interferonu alfa představuje téměř 250 postupných kroků) u odlišných buněčných linií jednotlivých výrobců při jejich extrémní citlivosti vůči okolí, kdy i jeho sebemenší změna může vést ke vzniku velkých rozdílů ve složení a kvalitě výsledného produktu.

Jelikož jsou vzniklé látky bílkovinné povahy, mají samozřejmě imunogenní účinky jako reakci na cizorodou nebo zkrříženě i na endogenní bílkovinu, což nelze odhalit v rámci preklinického výzkumu [10,11]. Během klinických hodnocení pak lze imunogenní vlastnosti léčiva odhalit pouze tehdy, jedná-li se o dlouhou dobu testování na dostatečném souboru pacientů, jak zaručují klinické studie s léčivy originálními. Do popředí se tak dostává daleko naléhavější problematika postmarketingového sle-

dování bezpečnosti biosimilars [12]. Nežádoucí imunogenicitu se může projevit ve formě alergické až anafylaktické reakce, snížení účinnosti (někteří pacienti si dokáží vytvořit protilátky neutralizující biologickou aktivitu léčiva, u jiných se protilátky vazbou na produkt podílejí na zhoršení farmakokinetiky a farmakodynamiky) a někdy i výskytem závažných nežádoucích účinků [13]. Existuje sice řada metod schopných detekovat pacientovy protilátky vzniklé po podání biosimilars, přesto je spolehlivost takového určené populace, u které lze dané léky bez obav podat, omezená, pokud vůbec nějaká je [14,15]. Odborníci se domnívají, že ani veškeré současné metody nemohou plně předpovědět biologické vlastnosti takového produktu, zatímco imunitní systém detekuje sebemenší změnu nezjištěnou analytickými metodami a dokáže na ni někdy pro pacienta závažným způsobem zareagovat.

K závažnému problému došlo např. i u rekombinantně vyráběného originálního epoetinu α , kdy vlivem pouhé změny použitého stabilizátoru (sorbitol namísto albuminu) došlo ke vzniku čisté aplazie červené krevní řady (PRCA) [4]. V případě léčiva pouze podobného může být takové riziko dále navýšeno.

Schvalovacím procesem v EU prošla dvě léčiva na bázi erythropoetinu a čtyři podobná G-CSF, naopak žádost byla stažena u tří preparátů inzulinu.

Některé z dostupných výsledků

Např. A. Singh (Brigham and Women's Hospital, Boston) se ve své práci [16] věnoval srovnání biosimilars erythropoetinu a jejich vztahu k bezpečnosti pacienta. Celkově zhodnotil proti originálním přípravkům 36 různých preparátů vyráběných ve 14 zemích světa. Zjištěné výsledky pro biotechnologická léčiva nevyzněly dobře, protože 32 z nich nesplnilo specifikace stanovené EU pro EPO alfa ve smyslu kvality a síly, část jich byla kontaminována endotoxiny a další obsahovala nadbytek agregátů. Vše představuje riziko pro pacienta, neboť účinnost a bezpečnost podání není předvídatelná.

Na odlišnosti těchto erythropoetinu upozornili již Jelkman et al [17] v roce

2007, když odhalili rozdíly ve struktuře, plazmidech, transformovaných hostitelských buňkách, purifikaci i výrobním procesu (především absence DNA a proteinů hostitelských buněk, nedostatek agregátů a integrity glykanů u původních léčiv), jejichž důsledkem může být u nových přípravků zvýšena imunogenicitu.

U biosimilars filgrastimu se rovněž objevilo několik zajímavých skutečností. Indikací k podávání Neupogenu je celá řada, především pro léčbu chemoterapií navozené neutropenie, dále ale např. i při neutropenii vyvolané myeloablativní chemoterapií s následnou transplantací kostní dřeně nebo při mobilizaci PBPC před transplantací, vzácně u neutropenii kongenitálních, idiopatických či v souvislosti s AIDS, všechny jsou pak podloženy výsledky randomizovaných studií. Indikace u přípravků skupiny biosimilars mají většinu dat získaných pouze u pacientů s neutropenií po chemoterapii, u všech ostatních případů se jedná pouze o extrapolaci dat. Chybí data o účinnosti u dětských pacientů (stejně jako u starších nemocných, s renální a jaterní insuficiencí apod.). Při testování byla zdravým dobrovolníkům podána jedna dávka léčiva, zatímco pacienti ve studiích s Neupogenem jich dostali průměrně 9–11 na cyklus. Zkoumané soubory jsou stále poměrně malé a přes možnou shodu ve většině parametrů bylo možno třeba u plicních nádorů doložit statistický benefit v rameni s klasickým filgrastimem proti jeho biosimilars. I nadále tedy panují obavy, zda pouhé farmakovigilanční studie představují dostatečnou oporu, především pro podávání u mobilizace PBPC při nejasné bezpečnosti biosimilars. Všechna klinická data pocházejí od klasického filgrastimu.

Prakticky na základě stejných obav se pak výkonný výbor Evropské komise pro transplantaci kostní dřeně postavil proti užívání biosimilars G-CSF u zdravých dárců kostní dřeně, dokud nebudou jednoznačně doložena data ohledně jejich bezpečnosti a účinnosti.

Práce Korena et al [18] je věnována nejproblematictější vlastnosti biosimilars, jejich imunogenicitě, která může vznikem protilátek působit mírné i vážnější nežádoucí účinky a ovlivnit i účin-

nost léčiva [19,20]. I když bývá udáváno, že se jedná o komplikace související se zhoršenou imunokompetencí pacienta, právě ta je v onkologii vlivem základního onemocnění a jeho léčby přítomna prakticky vždy. Protilátky jsou vytvářeny proti většině léčiv a jejich projevy jsou rozmanité, od hematologických (trombopenie u anti-TPO 1. generace, PRCA u epoetinu α – Eprexu) [21,22] přes kožní projevy (exantém) u monoklonálních protilátek až k anafylaxi. Je tedy nutné některou z vhodných metod testovat hladiny protilátek, stejně jako hlavních imunoglobulinů IgG, IgM a IgA.

Pozice, vyjádření a doporučení jednotlivých institucí

EMA např. v nedávné době odmítla schválit biosimilars k interferonu A z důvodu nízké validace výrobního procesu, horších výsledků, průkazu nečistot, horší stability a většího množství nežádoucích účinků.

Přestože se EMA začala věnovat regulační politice u biosimilars již v roce 2004, dodnes nejsou definovány jasné mantinely, nicméně přesto lze říci, že má před americkým FDA řádný náskok. V roce 2008 však schválila k používání 4 léčiva skupiny biosimilars – 2 analoga růstového hormonu a 2 látky na bázi ESP (erythropoezu stimulujících proteinů), ačkoliv proti originálním přípravkům byly zdokumentovány některé odlišnosti v účinnosti a konzistenci. Lze tedy spekulovat o tom, zda tento náskok v procesu schvalování EMA nepředstavuje spíše jakousi zbytečně aktivní až ukvapenou politiku této organizace, kterou se svými posledními kroky snaží kompenzovat.

Např. při zavádění nových biotechnologických látek odvozených od erythropoetinu definovala EMA v rámci schvalovacího procesu doporučený postup požadovaných studií. Mezi ně patří základní studie farmakodynamické (*in vitro*), *in vivo* testování na zvířecích modelech, toxikologické s opakovaným podáním stanovené dávky léku po dobu alespoň 4 týdnů a se zvláštním zaměřením na riziko imunogenní odpovědi, v klinickém hodnocení pak standardní studie farmakokinetické a farmakodynamické, studie zaměřené na porovnání účinnosti proti látce referenční – ales-

poň 2 randomizované, paralelní s dostatečnou silou, nejlépe dvojité zaslepené s dobou sledování nejméně 3, lépe alespoň 6 měsíců. Touto cestou prochází již Binocrit (Sandoz) s dokončenými studiemi III. fáze s aplikací i.v. i s.c. u nemocných s renálním selháním a u anémie v souvislosti s protinádorovou chemoterapií (již probíhá i studie fáze IV [23]).

Před podáním žádosti o schválení by měla být k dispozici komparativní bezpečnostní data po alespoň 12 měsících. I po této době se může objevit řada komplikací, proto bylo rovněž doporučeno zcela rutinní absolvování farmakovigilančních programů se záměrem sledování dlouhodobé účinnosti a bezpečnosti biosimilars po jejich schválení. EMEA povoluje generickou záměnu na základě stejné účinné látky, nikoli však možnost nahrazovat jakýkoliv lék za jemu biotechnologicky podobný [24]. Podle doporučení nelze schvalovat biotechnologicky podobná léčiva na bázi režimu obvyklého pro chemicky definovaná generika [25,26]. Biologické léčivo musí být definováno ve vztahu k charakteristice své molekuly a výrobnímu procesu, který musí být výrobcem zajištěn na trvale dostatečně konzistentní a robustní úrovni. Testy musejí potvrdit jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, biologickou aktivitu a výslednou nepřítomnost jakýchkoliv nečistot.

Z výše uvedeného vychází také stanovisko ČOS z konce minulého roku, podle kterého pro chybějící klinické zkušenosti, nedostatek dat a riziko špatně předvídatelné imunogenicity a nižší účinnost nelze biosimilars v žádném případě považovat za zaměnitelné s originálními přípravky a o jejich event. podání musí rozhodnout pouze odborný a dostatečně informovaný lékař. Jde tedy o prakticky stejný názor, jaký již v roce 2008 vyslovilo jak naše ministerstvo zdravotnictví, tak i vedení České nefrologické společnosti, protože jedny z prvních biosimilars s očekávaným časným vstupem na náš trh by měly představovat náhradu erythropoetinu alfa. Shodné bylo i doporučení Evropské federace farmaceutického průmyslu a asociací již z roku 2006.

V současnosti je automatická substituce biosimilars již zakázána zákonem ve

většině zemí Evropy – v Německu, Nizozemí, Francii, Španělsku, Norsku, Švédsku, Finsku, Velké Británii, Maďarsku i na sousedním Slovensku [27,28].

Diskuze

Bezpochyby lze polemizovat nad skutečností, zda by s ohledem na současné podmínky, za kterých probíhá originálními farmaceutickými společnostmi prováděné klinické zkoušení nových přípravků, nebylo vhodné prodloužit patentovou ochranu nových léků. Výzkum těchto léků je stále nákladnější, což je způsobeno mnohem delšími a náročnějšími studiemi na větších souborech nemocných, jejich povinným pojištěním, náročným dlouhodobým sledováním, opakovaným hodnocením materiálů, včetně nezávislých komisí apod. V dnešní době, kdy je trh již zaplaven mnohými generiky a očekává se i nástup biosimilars, pak byly originálními firmami některé studie předčasně zastaveny nebo nebyly vůbec dokončeny, protože nelze předpokládat pokračování v jejich financování a čekání, než jejich data uzrají, pokud jsou z prodeje daného léku prakticky vytěsněny. Jelikož i některá cílená biologická léčiva jsou na trhu řadu let, lze očekávat, že stejný problém brzy postihne i tuto finančně nákladnou skupinu léčivých přípravků.

Nevýhodou firmy zabývající se vývojem originálních léčiv je také fakt, že se finanční prostředky vložené do výzkumu nemusejí vrátit, protože lék neprokáže svoji účinnost nebo bude později z jakéhokoliv důvodu stažen z trhu (např. rofecoxib, tacrin). Proti tomu generický lék již má ustavenou jasnou pozici po nesrovnatelně kratším a jednodušším zkoušení a s vynaložením zlomku nákladů.

Problémem dnešní doby může být v některých případech velký počet generických přípravků na bázi jedné účinné látky, který znesnadňuje přehlednost, navíc je poměrně obvyklé, že i mezi samotnými generiky existují např. odlišnosti v jejich SPC schválených SÚKL (jako je tomu u inhibitorů aromatázy u karcinomu prsu).

Je nasnadě, že zavádění biosimilars na trh se musí řídit jinými pravidly, než je tomu u generik. Není tomu tak pouze ze samotné obavy z léčebného výsledku

u daného pacienta, ale je nutno přihlídnout i k právní zodpovědnosti lékařů. Snad nikdo by u svých nemocných neriskoval podání nedostatečně ověřených léčivých přípravků. Za správný průběh léčby a podání odpovídajících léků a jejich dávkování je zodpovědný lékař [29]. Podle mého názoru by měl farmaceut v lékárně k tomu takto přistupovat a jednotlivé přípravky bez souhlasu lékaře nezaměňovat, a to ani tehdy, jde-li o náhradu originálního přípravku za generikum. V klinické praxi je řada případů, kdy pacient na stejný lék od jiné firmy zareaguje odlišným způsobem, a pouze lékař by měl vědět, kdy a co přepsat. Nepochopitelná je tedy také absence zpětné vazby, kdy lékárník vydá jiné léčivo, než na jaké je vypsán recept, a nemá povinnost o tomto lékaře informovat. Ten potom v případě např. vedlejších projevů nebo intolerance nemá informaci, po jakém preparátu se objevila, a má tak okleštěné možnosti adekvátní změny terapie.

U léčiv ze skupiny biosimilars nelze alespoň zatím záměnu ani v případě přání pacienta, nižšího doplatku ani z jiného důvodu povolit vůbec. Z tohoto pohledu je poněkud nepochopitelné stanovisko SÚKL a ostatních institucí přesouvajících část rozhodovacích pravomocí na farmaceuta, který nemůže být důkladně informován o předchozí léčbě, komorbiditách pacienta a dalších skutečnostech včetně anamnézy, nebo dokonce na samotného pacienta, který je jen zřídka odborníkem natolik zdatným, aby o své léčbě mohl odpovědně rozhodnout, a spíše se soustředí jen na její cenu – právě vyšší doplatku.

Závěr

Náhrada řady originálních léků za přípravky generické je proveditelná, neboť přes určité odlišnosti se jedná o podávání stejných základních chemicky definovaných látek s pravděpodobně podobnou účinností, ale zajištěnou kvalitou a stabilitou. Tento koncept je proto odbornou veřejností široce přijímán a i v zemích EU běžně používán, v některých je generická preskripce a zaměnitelnost zakotvena dokonce legislativně. V klinické praxi však každý známe případy, kdy na základě odlišné tolerance

jednotlivých preparátů není záměna ani mezi generiky vhodná, nebo dokonce možná, proto o podaném léčivu by vždy měl rozhodovat indikující lékař.

Proti tomu stojí fakt, zda lze šetřit finanční prostředky – biosimilars by přes vysoké vstupní náklady související se zahájením výroby mohly představovat poněkud levnější alternativu zavedených léků na úkor bezpečnosti pacientů; otázka je, zda si nemocný nechá podat namísto vyzkoušeného léku jeho podobnou náhradu a jestli si tuto aplikaci dovolí na základě svých zkušeností nabídnout i ošetřující lékař. Asi nejvhodnějším postupem se tedy u těchto léčiv jeví absolvování klasických fází klinického zkoušení a dlouhodobých farmakovigilačních hodnocení jejich účinnosti a bezpečnosti, které by měly napomoci v rozhodování. Biologicky připravovaná léčiva jsou ve své struktuře mnohem komplexnější a méně stabilní. Jelikož sebemenší odchylka v některém z mnoha výrobních kroků od buněčných linií po podání pacientovi se může promítnout do různých nežádoucích účinků a nestejné imunogenicity jednotlivých biosimilars, bude třeba být při jejich aplikaci po uvedení na trh velmi obezřetnými [30].

Již se objevily návrhy [31], jak zabránit snadnému zaměňování originálů za generika u chemicky definovaných léků či originálů za biosimilars v případě léčiv vyráběných biotechnologicky. Patří sem např. zavedení povinnosti explicitně používat jiné obchodní názvy, které by nenaznačovaly podobnost s daným originálem nebo jiným biosimilars s obsahem stejné účinné látky, opačné tendence k jednomu souhrnnému názvu by sice přinášely možnost snazší záměny, avšak znemožnily by sledování charakteristik stejných léčiv od různých výrobců. Dalším je doplnění SPC těchto přípravků o varování ohledně možných rizik, zákaz preskripce biologik podle účinné látky nebo označování (léků či pacientů) čá-

rovými kódy [32,33]. Pokud by vyvstala potřeba provedení legislativních změn, měla by být umožněna jejich realizace.

V poslední době vstupovaly do schvalovacích procesů vedle náhrad růstového hormonu a inzulínu také biosimilars v oblasti interferonu, erythropoetinu a kolonie stimulujícího faktoru, v každé z těchto oblastí s až desítkou firem zabývajících se již jejich biosimilárními verzemi.

Literatura

1. Bonadonna G, Moliterni A, Zambetti M et al. 30 years' follow up of randomised studies of adjuvant CMF in operable breast cancer: cohort study. *BMJ* 2005; 330(7485): 217–220.
2. Pettengell R et al. *Haematologica* 2006; 91 (Suppl 1): 69–70. Abstract 0185.
3. Chirivella I et al. *J Clin Oncol* 2006; 24 (part I of II): 44. Abstract 668.
4. Dudzinsky DM, Kesselheim AS. Scientific and Human Viability of Follow-on Protein Drugs. *N Engl J Med* 2008; 358(8): 843–849.
5. Mellstedt H, Niederwasser D, Ludwig H. The challenge of biosimilars. *Ann Oncol* 2008; 19(3): 411–419.
6. Locatelli F, Goldsmith D. Biosimilars: uncharted territory. *J Nephrol* 2007; 20(3): 265–267.
7. Braun A, Kwee L, Labow MA et al. Protein aggregates seem to play a key role among the parameters influencing the antigenicity of interferon α (IFN- α) in normal and transgenic mice. *Pharm Res* 1997; 14(10): 1472–1478.
8. Li S, Schöneich C, Borchardt RT. Chemical instability of protein pharmaceuticals: mechanisms of oxidation and strategies for stabilization. *Biotechnol Bioeng* 1995; 48(5): 490–500.
9. Schellekens H. The first biosimilar epoetin: but how similar is it? *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(1): 174–178.
10. Rosenberg AS. Effects of protein aggregates: an immunologic perspective. *AAPS J* 2006; 8(3): E501–E507.
11. Jenkins N. Modifications of therapeutic proteins: challenges and prospects. *Cytotechnology* 2007; 53(1–3): 121–125.
12. Locatelli F, Roger S. Comparative testing and pharmacovigilance of biosimilars. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (Suppl 5): v13–v16.
13. Koren E, Zuckerman LA, Mire-Sluis AR. Immune responses to therapeutic proteins in humans – clinical significance, assessment and prediction. *Curr Pharm Biotechnol* 2002; 3: 349–360.
14. Wadhwa M, Thorpe R. Unwanted Immunogenicity: Implications for Follow-on Biologicals. *Drug Inf J* 2007; 41: 1–10.
15. Wadhwa M, Bird C, Dilger P et al. Strategies for detection, measurement and characterization of unwanted antibodies induced by therapeutic biologicals. *J Immunol Methods* 2003; 278: 1–17.
16. Singh A. Gaps in the Quality and Potential Safety of Biosimilar Epoetins in the Developing World: An International Survey, ERA-EDTA, Abst. Nr. 409.

17. Jelkman W. Recombinant EPO production – points the nephrologist should know. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(10): 2749–2753.
18. Koren E, Smith HW, Shores E et al. Recommendations on risk-based strategies for detection and characterization of antibodies against biotechnology products. *J Immunol Methods* 2008; 333(1–2): 1–9.
19. Sharma B. Immunogenicity of therapeutic proteins: Part 2. Impact of container closures. *Biotechnol Adv* 2007a; 25(3): 318–324.
20. Sharma B. Immunogenicity of therapeutic proteins: Part 1. Impact of product handling. *Biotechnol Adv* 2007b; 25(3): 310–317.
21. Schellekens H. Erythropoietic proteins and antibody-mediated pure red cell aplasia: a potential role for micelles. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(9): 2422.
22. Casadevall N, Nataf J, Viron B et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N Engl J Med* 2002; 346(7): 469–475.
23. Brockmayer C, Seidl A. Binocrit: assessment of quality, safety and efficacy of biopharmaceuticals. *Eur J Hosp Pharm Pract* 2009; 15 (2): 34–40.
24. Covic A, Cannata-Andia J, Cancarini G et al. Biosimilars and Biopharmaceuticals: What the nephrologist need to know – A position paper by the ERA-EDTA Council. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(12): 3731–3737.
25. EMEA Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. London 2006. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003920.pdf.
26. EMEA Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology derived proteins as active substance: quality issues. London, 2006. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003953.pdf.
27. Legifrance.gouv.fr. Projet de loi portant diverses dispositions d'adaptation au droit communautaire dans le domaine du médicament. Available at: http://www.legifrance.gouv.fr/html/actualite/actualite_legislative/exp_ddac_medicament.htm.
28. Biosimilar Products. Drug Safety Update 2008; 1(7): 8. Available at <http://www.mhra.gov.uk/mhra/drugsafety-update>.
29. Finek J. Kdy kopie přestává být kopií. *Lék list* 2009; 2: 34.
30. Mellstedt H et al. *Annals of Oncology*. Advance Access published on September 14, 2007; doi:10.1093/annonc/mdm345.
31. Derleck PJ. Biotherapeutics in the Era of Biosimilars. Chat really matters is patient safety. *Drug safety* 2007; 30(12): 1087–1092.
32. European Biopharmaceutical Enterprises. EBE-EFPIA Position paper: inapplicability of automatic substitution rules to biotechnology products, including biosimilar medicinal products: recommendation for addressing unique safety concerns. 31 July 2006. Available at: <http://www.ebe-biopharma.org>.
33. European Biopharmaceutical Enterprises. EBE-EFPIA Position paper: Naming of biosimilar medicinal products: options for addressing unique safety concerns. 7 July 2006. Available at: <http://www.ebe-biopharma.org>.