

Uloga biosimilara u humanoј reprodukciji

Dumančić, Stipe

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:583140>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Stipe Dumančić

Uloga biosimilarara u humanoј reprodukciji

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Stipe Dumančić

Uloga biosimilarara u humanoј reprodukciji

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Marine Šprem Goldštajn i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

POPIS KRATICA

r-hFSH – rekombinantni humani folikulostimulirajući hormon

MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

EMA – Europska medicinska agencija

PK/PD – farmakokinetika/farmakodinamika

KOH – kontrolirana ovarijska hiperstimulacija

CHO – jajnik kineskog hrčka

GnRH – gonadotropin oslobađajući hormon

AUC – površina ispod krivulje

hCG – humani korionski gonadotropin

LH – luteinizirajući hormon

OHSS – ovarijski hiperstimulacijski sindrom

IU – internacionalna jedinica

kDa – kilodalton

hFSHR – humani FSH receptor

Neu5Ac – N-acetilneuraminska kiselina

Neu5Gc – N-glikolil neuraminska kiselina

Kd – konstanta disocijacije

IVF – in vitro fertilizacija

ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija

AMH – anti-Mullerov hormon

CEA – analiza troška i učinkovitosti

ICER – inkrementni omjer troška i učinkovitosti

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	I
SUMMARY	III
1. UVOD	1
2. REGULATORNI ASPEKTI RAZVOJA BIOSIMILARA	2
2.1. Status biosimilarara	2
2.2. Smjernice za razvoj biosimilarara	3
2.3. Razvoj biosimilarara.....	5
2.3.1. Usporedna ispitivanja biosličnog i referentnog lijeka	6
3. PREPARATI EGZOGENOG FSH	11
3.1. Urinarni FSH	12
3.2. Rekombinantni FSH	12
4. BIOLOŠKI ASPEKTI FSH.....	15
5. BIOSIMILARI FSH	18
5.1. Pretklinička ispitivanja	19
5.2. Klinička ispitivanja.....	22
5.2.1. Klinička farmakologija.....	24
5.2.2. Klinička djelotvornost	27
5.2.3. Klinička sigurnost.....	37
5.3. Zaključak o statusu biosimilarara folitropina α	43
6. FARMAKOEKONOMSKI ASPEKTI BIOSIMILARA FSH	44
7. ZAKLJUČAK	52
ZAHVALE	56
LITERATURA.....	57
ŽIVOTOPIS	64

SAŽETAK

Uloga biosimilara u humanoј reprodukciji

Stipe Dumančić

Biosimilar ili bioslični lijekovi mogu biti razvijeni te odobreni kao kopije, nakon isteka patentne zaštite, originalnih, referentnih bioloških lijekova u svim indikacijama za koje se koristi referentni lijek. Potencijalni kandidati stječu status biosimilara temeljem prikaza vrlo sličnog profila prema referentnom lijeku u nizu usporednih ispitivanja kvalitete, nekliničkih i kliničkih ispitivanja. Opseg potrebnih ispitivanja određuju te posljedično znanstvenu potvrdu biosimilara daju regulatore medicinske agencije, prije svega Europska medicinska agencija kao predvodnik u ovom području, a odobrenje podnositelju zahtjeva za stavljanje biosimilara na tržište provodi Europska komisija. U polju humane reprodukcije trenutno su odobrena dva biosimilara folitropina alfa, koji se koriste kao stimulatori multifolikularnog razvoja u sklopu kontrolirane ovarijske hiperstimulacije za potrebe medicinski potpomognute oplodnje, među nekoliko indikacija. U pretkliničkim ispitivanjima uočene su razlike u strukturi biosimilara iscrpno istražene, dokumentirane te su smatrane prihvatljivima prema konceptu biosličnosti. Stoga otkrivene razlike nisu pokazale utjecaj na biološku aktivnost ispitanu u in vitro i in vivo ispitivanjima. U kliničkim ispitivanjima faze I dokazana je bioekvivalenost farmakokinetičkih profila biosimilara prema referentnom folitropinu alfa (Gonal-f) u skupini zdravih dobrovoljnih žena. Konačno, u kliničkim ispitivanjima faze III dokazana je usporediva terapijska djelotvornost biosimilara i referentnog folitropina alfa prema primarnom ishodu, broju dobivenih oocita, te je utvrđena usporedivost sekundarnih ishoda kao i usporediv profil štetnih događaja u skupini neplodnih žena podvrgnutih kontroliranoj ovarijskoj hiperstimulaciji za metode medicinski potpomognute oplodnje. Primarna svrha razvoja biosimilara, zbog potencijalno kraćeg procesa proizvodnje, jest sniženje cijena terapija biološkim lijekovima prilikom nadmetanja cijena biosimilara s originalnim preparatima. Međutim, biosimilar folitropina alfa imali su manji utjecaj na cijenu i obujam korištenja rekombinantnih preparata folitropina u Europi, a dostupne farmakoekonomske analize nisu pokazale kako cjeloviti terapijski ciklusi medicinski potpomognute oplodnje korištenjem biosimilara vode stvarnim uštedama za dionike zdravstvenih sustava.

Ključne riječi: biosimilar, bioslični lijekovi, folitropin alfa, rekombinantni folikulo-stimulacijski hormon, kontrolirana ovarijska hiperstimulacija

SUMMARY

The role of biosimilars in human reproduction

Stipe Dumančić

Biosimilars or biosimilar medicines can be developed as a copy of original, reference biological drug, after the market protection of the reference product has expired, and approved for use in all indications for which the reference product is approved. Potential candidates gain biosimilars status by demonstrating a very similar profile to the reference medicine in a series of comparative quality, non-clinical and clinical trials. The volume of the trials required is determined, and consequently the scientific certification of a biosimilar is given by the regulative medical agencies, first and foremost by the European Medical Agency as a leader in this field, followed by the market approval of the Applicant which is carried out by the European Commission. In the field of human reproduction two biosimilars of follitropin alfa are currently approved, which are used as stimulants of multifollicular development in controlled ovarian hyperstimulation for the purposes of assisted reproductive technology, among several indications. In pre-clinical studies, differences in the structure of biosimilars to the reference follitropin alfa (Gonal-f) were observed, thoroughly researched, documented and considered acceptable according to the concept of biosimilarity. These differences did not show any influence on the biological activity examined in in vitro and in vivo studies. Phase I clinical trials have demonstrated the bioequivalence of the pharmacokinetic profiles of both biosimilars according to the reference follitropin alfa (Gonal-f) in a group of healthy voluntary women. Finally, Phase III clinical trials have demonstrated comparable therapeutic efficacy of biosimilars and the reference follitropin alfa by primary endpoint, the number of retrieved oocytes, and comparability of secondary endpoints as well as a comparable adverse event profile in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for the treatment of assisted reproductive technology. The primary purpose of developing biosimilars, due to the potentially shorter production process, is to lower the price of biological therapies when bidding on biosimilars with original products. However, biosimilars of follitropin alfa have had a smaller impact on the cost and volume of use of recombinant follitropin in Europe, and available pharmacoeconomic analyses have not shown that complete treatment cycles of assisted reproductive technology using biosimilars lead to real cost-savings for healthcare system stakeholders.

Key words: biosimilars, similar biological medicines, follitropin alfa, recombinant follicle-stimulating hormone, controlled ovarian hyperstimulation

1. UVOD

Dvadeset godina nakon uvođenja prvih rekombinantnih humanih preparata folikulo-stimulacijskog hormona (r-hFSH), folitropina alfa i beta, polje humane reprodukcije naišlo je na udar novog izazova – uvođenja biosimilara FSH preparata. Bez obzira na terapijski napredak, ograničeni pristup visokokvalitetnim biološkim lijekovima zbog visoke cijene, uz sinergizam problematike liječenja neplodnosti postavljaju globalni javnozdravstveni problem, čime je povećani interes za razvoj biosimilara ili biosličnih proizvoda, posljedično isteku patenta originalnog biološkog lijeka otvorio nove mogućnosti liječenja za značajni segment svjetske populacije (1, 2, 3). Razvijeni su biosimilari folitropina alfa, Bemfola i Ovaleap, nakon isteka patenta originalnog biološkog lijeka Gonal-f, što je omogućilo veći pristup učinkovitim i sigurnim terapijskim opcijama prihvatljivije cijene (4).

Biosimilari ili bioslični lijekovi su kompleksne molekule koje su, strukturno ili funkcionalno, u velikoj mjeri podudarne referentnim lijekovima, a mogu biti razvijeni nakon isteka patenta originalnog odnosno referentnog biološkog lijeka u drugoj farmaceutskoj kompaniji. Sadržavaju istu djelatnu tvar (aktivni farmaceutski sastojak, engl. active pharmaceutical ingredient; API) kao referentni lijek zbog čega se nazivaju i „follow-on“ biološki lijek ili „subsequent entry biologics“ (Tablica 1), a koriste se u istim indikacijama i dozama te istim putem primjene kad steknu regulatorni status biosimilara (3, 5).

Tablica 1 **Definicije biosimilara.** (Modificirano prema Wang i Chow, 2012. [6])

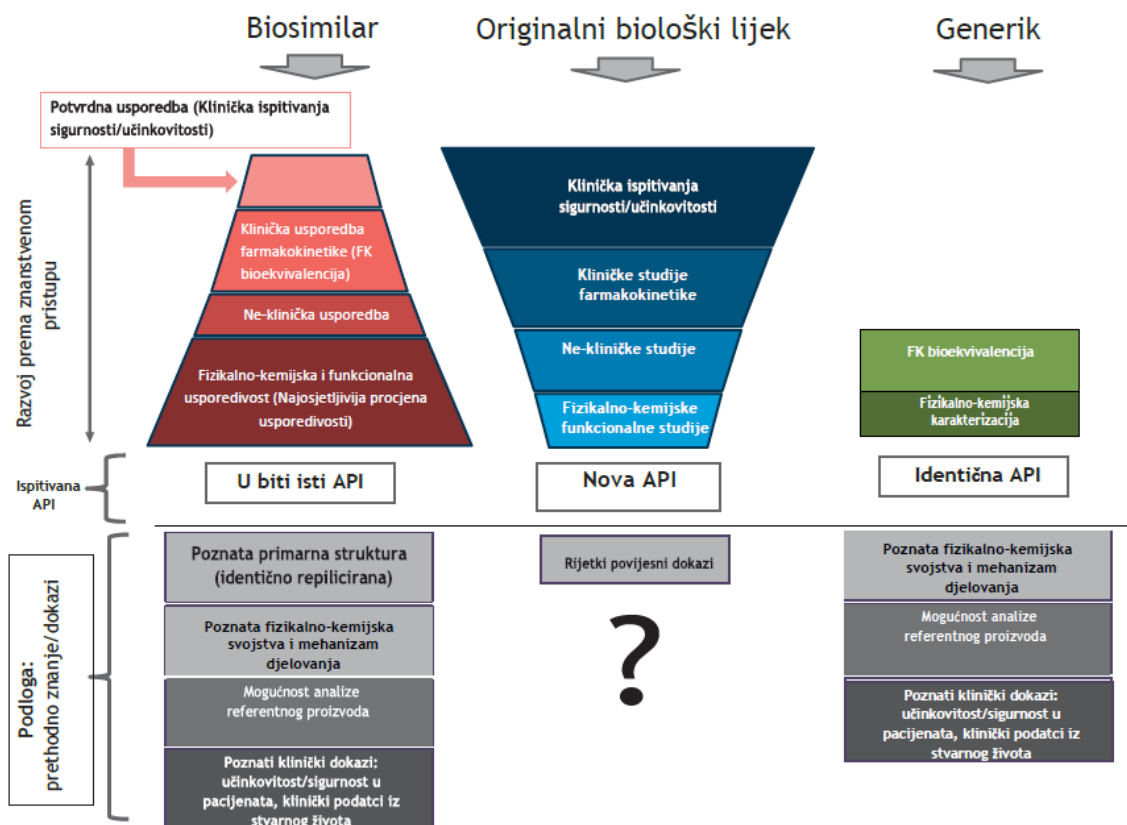
Izvor	Naziv	Definicija
EU	Biosimilar	Biološki lijek kojem je dokazana sličnost s referentnim biološkim lijekom
WHO	Similar biotherapeutic product (SBP)	Biološki proizvod koji je sličan odobrenom referentnom biološkom proizvodu u kakvoći, djelotvornosti i sigurnosti
SAD	Follow on biologic (FOB)	Biološki lijek visoke sličnosti referentnom biološkom lijeku odobrenom u SAD-u, bez značajnih razlika u sigurnosti, čistoći i aktivnosti
Kanada	Subsequent-entry biologic (SEB)	Biološki lijek koji dolazi na tržište nakon prethodno odobrene verzije te je sličan referentnom biološkom lijeku

Izrazito visok stupanj sličnosti biosimilara folitropina alfa, u pogledu njihove kvalitete, čistoće, učinkovitosti i sigurnosti s referentnim lijekom upravo je inherentna stavka stjecanja preporuke regulatornih agencija, što se prikazuje serijom prekliničkih te nekliničkih i kliničkih usporednih ispitivanja (engl. *comparability exercise*) u skupini žena podvrgnutih stimulaciji ovulacije za postupke medicinski potpomognute oplodnje (MPO). U daljnjem tekstu analiza razvoja biosimilara temeljit će se na regulativi Europske medicine agencije (EMA) kao predvodniku ove problematike. Naime, FDA (engl. *Food and Drug Administration*) je vlastite smjernice razvio tek po izlasku smjernica EMA-e koja provodi najstrožu regulativu razvoja biosimilara te daljnju kontrolu farmakovigilancije lijeka na tržištu. Međutim, u drugim se dijelovima svijeta (Kina, Indija, Latinska Amerika) biosimilari odobravaju bez ikakvih pravila (2, 5, 7).

2. REGULATORNI ASPEKTI RAZVOJA BIOSIMILARA

2.1. Status biosimilara

Svojevrsna neidentičnost bioloških lijekova i biosimilara predstavlja glavnu razliku prema generičkim lijekovima, koji su male kemijske sintetizirane molekule, kemijski identične i potpuno bioekvivalentne referentnim lijekovima odnosno identični u farmakokinetском i farmakodinamskim karakteristikama. Generici zbog toga trebaju pokazati samo ograničene usporedne podatke prema referentnom proizvodu za ostvarivanje odobrenja za izlazak na tržište (7). Suprotno, biološki lijekovi proizvedeni su složenim biotehnološkim postupcima na linijama staničnih kultura pa nije moguće izbjeći varijabilnost određenu biološkim sustavom i proizvesti lijek koji ima potpuno identičnu strukturu djelatne tvari kao referentni biološki lijek. Zbog toga, ali i svojstva velike, kompleksne strukture karakterizirani su različitim sadržajem odnosno mješavinom izoformi (glikolizacijskih profila), koje im daju određeni stupanj mikroheterogenosti s posljedičnim mogućim utjecajem na kliničku učinkovitost ili sigurnost (8, 9). Tako u slučaju biosimilara mala promjena u procesu bioproizvodnje može rezultirati promjenama u mikroheterogenosti, stoga se standardni pristup razvoju i odobravanju generičkih kemijskih lijekova, temeljen na dokazu bioekvivalentnosti s izvornim lijekom, ne može primijeniti kod bioloških lijekova (7). Ova neusklađenost generika i biosimilara potaknula je regulatorna tijela da razviju puteve odobravanja biosimilara, zbog čega je farmaceutska tvrtka obvezna provesti randomiziranu kliničku studiju treće faze s dokazom da navedene promjene štetno ne utječu na identitet, čistoću ili jakost potencijalno odobrenog biosimilara (Slika 1) (3, 7).



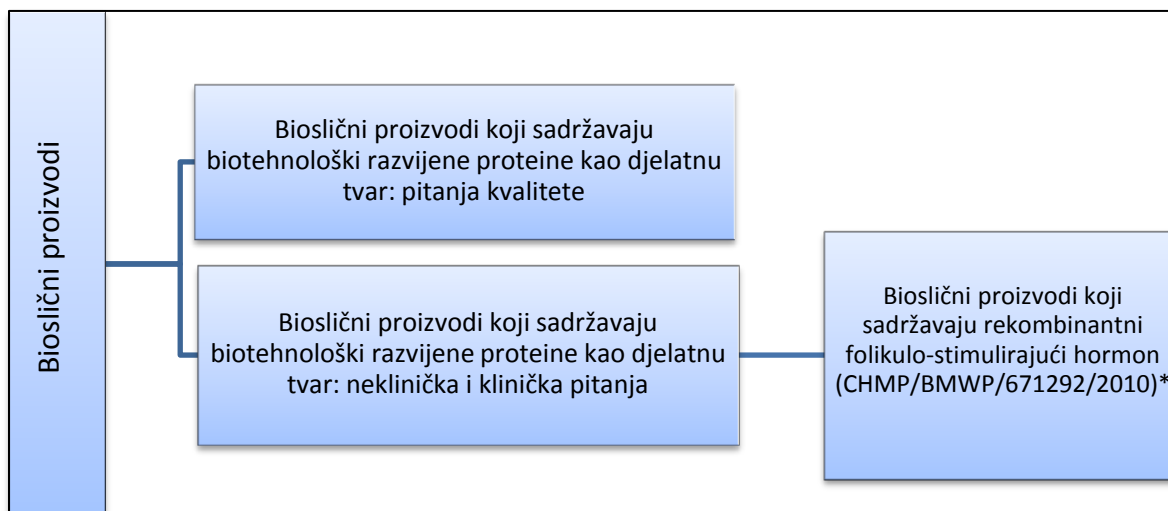
Slika 1 **Razlikovanje regulatornih zahtjeva za razvoj biosimilara, bioloških i generičkih lijekova.** Procjena usporedivosti fizikalno-kemijske i biološke aktivnosti (modul kvalitete, široki tamnocrveni donji sloj). Glavni pokazatelj poželjne ravnoteže rizika prema koristi originatora prikazuje se u kasnim kliničkim ispitivanjima u bolesnika (tamnoplavi gornji sloj). S obzirom da se API generika može identično replicirati, razvoj generika je znatno skraćen (uski zeleni slojevi). Potrebno je uspostaviti aktivni program farmakovigilancije za odobrenje biosimilara kao i za svaki novi biološki ili kemijski spoj. (PK = farmakokinetički. Preuzeto i modificirano prema [10.]

2.2. Smjernice za razvoj biosimilara

S utemeljenjem zakonske osnove za bioslične lijekove 2004. godine, EMA sa sestrinskim regulatorno-znanstvenim radnim skupinama, industrijom, liječnicima i skupinama bolesnika objavljuje specifične smjernice (engl. *guidelines*) koje obuhvaćaju područje razvoja, proizvodnje, ispitivanja i odobravanja bioloških/biotehnoških i biosličnih lijekova (11).

Krovna smjernica (engl. *Overarching guideline*) navodi opće informacije o zakonskoj osnovi za davanje odobrenja za bioslični lijek i pojašnjava princip usporedivosti za dokaz biosličnosti, opće smjernice (engl. *General guidelines*) zasebno navode podatke potrebne za usporedna ispitivanja kakvoće te neklinička i klinička usporedna ispitivanja. Svaka skupina bioloških lijekova razlikuje se u mehanizmima djelovanja, farmakološkim i sigurnosnim profilima koji zajedno utječu na omjer koristi i rizika biološkog lijeka. Stoga je EMA razvila specifične smjernice (engl. *Product specific guidelines*) izdane zasebno po skupinama biosličnih lijekova i navode detaljnije zahtjeve za neklinička i klinička usporedna ispitivanja ovisno o specifičnostima pojedinih skupina terapijskih protein, a objavljene su kao dodaci (engl. *Annex*) općoj smjernici o nekliničkim i kliničkim

ispitivanjima (Slika 2). Specifična smjernica koja govori o ispitivanjima proizvoda koji sadrže r-hFSH opisana je u poglavlju o razvoju biosimilara (7).



Slika 2 Shematski prikaz triju razina smjernica EMA-e za bioslične lijekove. (*Navedena je isključivo specifična smjernica vezana uz temu ovog rada).

U općoj smjernici o kvaliteti biosimilara navodi se pojam profila kvalitete ciljanog proizvoda (engl. *quality target product profile*, QTPP), odnosno biosličnog lijeka koji se temelji na prikupljenim podacima o referentnom lijeku, uključujući javno dostupne informacije i podake o detaljnoj karakterizaciji koju je proveo proizvođač biosličnog lijeka. QTPP predstavlja temelj razvoja biosličnog lijeka i njegova proizvodnog postupka. Smjernica detaljno propisuje zahtjeve vezane uz kakvoću biosličnog lijeka, što obuhvaća proizvodni postupak, usporedna ispitivanja kakvoće uzevši u obzir odabir referentnog lijeka, analitičke metode, fizikalno-kemijsku karakterizaciju, biološku aktivnost i čistoću te parametre za zahtjev kakvoće biosličnog lijeka. Smjernica određuje kako za svaki biosimilar farmaceutska kompanija mora dostaviti potpuni dosije kvalitete, kojim pokazuje fizikalno-kemijske i biološku sličnost s referentnim originatorom (12).

U općoj smjernici o nekliničkim i kliničkim ispitivanjima poglavlje o nekliničkim ispitivanjima navodi zahtjeve za farmako-toksikološka ispitivanja odnosno parametre za odabir opsega nekliničkih *in vivo* farmakodinamičkih i/ili toksikoloških ispitivanja prema principu temeljenom na riziku. Poglavlje o kliničkim podacima navodi potrebne zahtjeve za farmakokinetička (PK) i farmakodinamička (PD) ispitivanja te studije djelotvornosti, naglašava potrebu za PD markerima kao dodatak PK parametrima u fazi I ispitivanja i uključivanje surogat markera u dizajn faze III. U dijelu o kliničkoj sigurnosti i farmakovigilanciji propisani su zahtjevi za ispitivanje sigurnosti (uključujući imunogeničnost) i plan upravljanja rizicima (engl. *Risk management plan*, RMP) te mogućnost ekstrapolacije podataka o sigurnosti i djelotvornosti iz jedne terapijske indikacije na drugu (13).

2.3. Razvoj biosimilara

Primarni je cilj razvoja biosličnog lijeka (biosimilara) potvrda visokog stupnja sličnosti između biosličnog i referentnog biološkog lijeka, čime se ranije utvrđene djelotvornost i sigurnost referentnog lijeka mogu pripisati biosimilaru. Uspješnost razvoja biosimilara ovisit će o sposobnosti dokazivanja slične prirode (fizikalno-kemijske, biološke, kliničke) dviju formulacija te ispravnog tumačenja uočenih razlika (6, 11).

Zaštita vlasničkih podataka (patentne zaštite; eng. data exclusivity) o proizvodnom procesu te kompleksnost proteinske strukture biološkog lijeka jesu izazovi razvoja biosimilara. Posljedično tome, proizvođači biosimilara zbog nepoznavanja stanične linije za proizvodnju referentnog lijeka moraju sami klonirati i proizvesti vlastite, čime je varijabilnost biološkog sustava jedan od početnih uzroka nemogućnosti proizvodnje biosimilara identičnog referentnu. Međutim, ako se njegova svojstva nalaze unutar utvrđenih prihvatljivih granica varijabilnosti referentnog lijeka, bioslični lijek smatran je vrlo sličnim. Razvoj biosličnog lijeka može se podijeliti u 3 osnovne faze: karakterizacija referentnog lijeka, razvoj postupka proizvodnje biosličnog lijeka te faza usporednih ispitivanja biosličnog i referentnog lijeka (11).

Prva faza razvoja biosimilara, ujedno i najkritičnija, obuhvaća detaljnu fizikalno-kemijsku karakterizaciju strukture i sastava referentnog lijeka te provjeru kvalitete biosimilara. Ispitivanja se provode na uzorcima nekoliko serija referentnog lijeka proizvedenih u različitim vremenskim razdobljima, jer moguća varijabilnost između serija odnosno promjene parametara kvalitete (engl. quality attributes) koje se mijenjaju tijekom životnog ciklusa referentnog lijeka zbog promjena u proizvodnom postupku predstavljaju okvire (engl. target range/goal posts) unutar kojih će se razvijati biosimilar. Primjerice, promjene u profilu glikozilacije između serija navode na zaključak kako proizvođači referentnog lijeka zapravo proizvode biosimilare vlastitih bioloških lijekova kroz izmjene u postupku proizvodnje, koje trebaju primjereno objasniti. Proizvođač treba obrazložiti da promjene uočene u parametrima kvalitete lijeka neće negativno utjecati na sigurnost i djelotvornost lijeka (11, 12).

Sljedeća faza obuhvaća razvoj složenog proizvodnog postupka biosimilara s ciljem dobivanja molekule visoke sličnosti s referentnim lijekom prema svojstima unutar ranije postavljenih okvira. Najčešće obuhvaća uzgoj ekspresijskog sustava (stanica), proizvodnju u bioreaktoru, izolaciju i pročišćavanje proteina te formulaciju i pakiranje lijeka. Međutim, ukoliko se prema inicijalnim usporednim ispitivanjima s referentnim lijekom uoče značajne razlike, nastavlja se s optimiziranjem postupka. Ekspresijski sustav, odnosno proizvodni postupak treba biti pomno odabran i dizajniran jer razlike u sustavima mogu dovesti do neželjenih posljedica izvan zadanih okvira poput netipične glikozilacije (skup izoformi), veće varijabilnosti ili različitog profila onečišćenja (srodnih spojeva ili procesnih onečišćenja) u odnosu na referentni lijek. Odabir različite formulacije i/ili primarnog

spremnika u odnosu na referentni lijek potrebno je obrazložiti s obzirom na mogući utjecaj na djelotvornost i sigurnost primjene lijeka, ali i dokazati prikladnost predložene formulacije biosimilara s obzirom na stabilnost, aktivnost i jačinu djelatne tvari (12).

2.3.1. Usporedna ispitivanja biosličnog i referentnog lijeka

Nakon što se proizvedu dovoljne količine biosimilara, započinju detaljna usporedna ispitivanja biosimilara i referentnog lijeka temeljena na znanstveno-regulatornom principu usporedivosti (engl. *Comparability exercise*) s ciljem dokazivanja visokog stupnja sličnosti, a provode se stupnjevito u tri koraka: usporedna ispitivanja kvalitete, neklinička i klinička ispitivanja. Princip usporedivosti ne podrazumijeva da dva lijeka budu identična već da se dokaže kako uočene razlike u parametrima kvalitete neće negativno utjecati na djelotvornost i sigurnost lijeka. Dokazivanje biosličnosti prema navedenom principu temelj je razvoja biosličnog lijeka, davanja odobrenja za stavljanje lijeka u promet i stjecanja povjerenja zdravstvenih djelatnika (14). Prema krovnoj smjernici za bioslične lijekove, 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 (15). Nakon što se potvrdi usporedivost na razini kakvoće, utvrđuje se opseg reduciranih nekliničkih i kliničkih ispitivanja potrebnih za konačnu potvrdu biosličnosti i to najčešće na temelju znanstvenog savjeta s regulatornim tijelima. Pritom je potrebno naglasiti da cilj usporednih ispitivanja koja slijede nije ponovno dokazivanje sigurnosti i djelotvornosti *per se*, jer ih je ranije dokazao proizvođač referentnog lijeka, već potvrda sličnosti s referentnim lijekom na razini sigurnosti i djelotvornosti lijeka (7).

Usporedna ispitivanja kvalitete

Usporedna ispitivanja na razini kvalitete obuhvaćaju usporedbu fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava biosličnog i referentnog lijeka, a odgovornost je podnositelja zahtjeva dokazati da su korištene metode dovoljno osjetljive da detektiraju male razlike u svim aspektima kvalitete (npr. detekcija izoformi proteina). Svaku uočenu kvalitativnu i/ili kvantitativnu razliku parametara 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 te je posebnu pozornost potrebno obratiti na razlike koje mogu utjecati na imunogeničnost ili biološku aktivnost lijeka.

Strukturnom karakterizacijom potvrđuju se slijed i sastav aminokiselina biosličnog i referentnog lijeka uz usporedbu N- i C-terminalnog slijeda aminokiselina te peptidnog mapiranja. S obzirom na heterogenost proteina dobivenih iz živih sustava, također se ispituje prisutnost i učestalost posttranslacijskih modifikacija te, ako postoje, potrebno je detaljno usporediti ugljikohidratne

strukture (sijalična kiselina, struktura ugljikohidratnih lanaca, oligosaharidi, profil glikana, mjesto glikozilacije). Uočene modifikacije u strukturi potrebno je kvantificirati te opisati i obrazložiti uočene varijabilnosti povezane s ekspresijskim sustavom.

Biološka aktivnost određuje se biološkim testovima (engl. biological assay) koji obuhvaćaju testove sa životinjama, staničkim kulturama ili biokemijske testove. Potentnost (izražena u jedinicama aktivnosti kalibriranim s referentnim standardom) je kvantitativna mjera biološke aktivnosti temeljena na svojstvu proteina koje je povezano sa značajnim biološkim karakteristikama dok je količina (izražena kao masa) fizikalno-kemijska mjera sadržaja proteina.

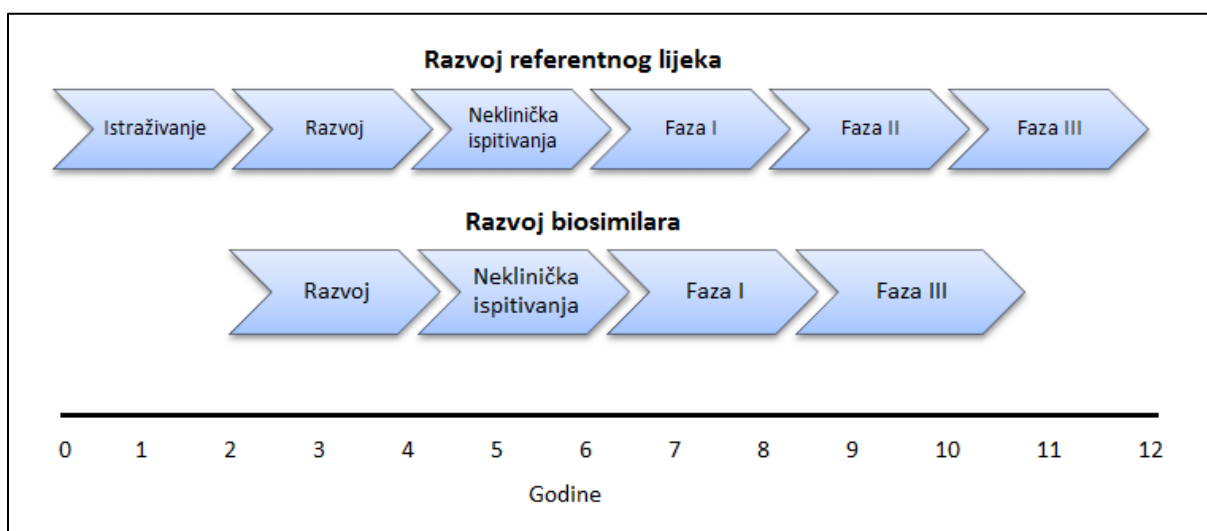
Potrebno je provesti kvantitativnu i kvalitativnu usporedbu čistoće i profila onečišćenja, uzimajući u obzir specifičnosti poput putova razgradnje djelatne tvari i mogućih posttranslacijskih modifikacija proteina. Onečišćenja koja potječu iz djelatne tvari (engl. *product-related impurities*) kao što su prekursori ili razgradni produkti (agregati, izoforme, deamidirani, oksidirani i glikozilirani oblici) molekulske su varijante djelatne tvari koje nastaju tijekom proizvodnje i/ili čuvanja i moraju biti slične referentnom lijeku. S druge strane, procesna onečišćenja (engl. *process-related impurities*) kvalitativno će se razlikovati od postupka do postupka te njihova usporeba nije značajna za dokaz biosličnosti. No preporučljivo ih je ukloniti pročišćavanjem ili ih temeljito karakterizirati i obrazložiti mogući rizik prisutnosti takvih onečišćenja na, primjerice, imunogeničnost lijeka (12, 16).

Usporedna neklinička i klinička ispitivanja

Specifična smjernica EMA-e o rekombinantnim biosimilarima FSH je CHMP/BMWP/671292/2010, koja obuhvaća nekliničke i kliničke zahtjeve. Za biosimilare provodi se skraćeni program *in vitro* i *in vivo* ispitivanja, a usporedna neklinička ispitivanja trebala bi otkriti razlike u odgovoru nakon primjene biosimilara i referentnog lijeka, a ne odgovor *per se*. Iako se jedan dio *in vitro* usporedbe biološke aktivnosti provodi još u fazi usporedivosti kvalitete, ovi testovi trebaju pokazati usporediv odnos koncentracije i aktivnosti/vezanja između referentnog i biosličnog lijeka. Kako bi se ispitale moguće razlike u PD karakteristika između dvaju lijekova, trebaju se provesti usporedni *in vitro* biotestovi afiniteta za receptor te aktivacije, čiji rezultati mogu biti priloženi u dosijeu kvalitete. Premda se ispitivanja mogu provesti u kulturi primjerice stanica jajnika kineskog hrčka (CHO) koje izražavaju humani FSH receptor, prednost pristupa s granulosa ili Sertolijevim stanicama jest ispitivanje na FSHR u fiziološkom a ne sintetiziranom stanju. Također, trebaju se rezultati mjeriti prikladnim jedinicama, primjerice mjera aktivacije receptora (proizvodnja aktivatora plazminogena) ili akumulacijom unutarstaničnog cAMP-a. Podnositelj zahtjeva treba objasniti izabran pristup studije. Ako faktori svojstveni lijeku koji utječu na PD poput glikozilacije, ne mogu biti dovoljno karakterizirani u *in vitro* uvjetima, potrebno je provoditi *in vivo* ispitivanja, odnosno proizvođač mora procijeniti hoće li se potrebna ispitivanja provoditi na životinjama ili na zdravim dobrovoljcima kao dio kliničkog ispitivanja, što će ovisiti o dostupnosti životinjskih modela. Biološka aktivnost različitih

FSH preparata mjerena je Steelman-Pohley testom, zlatnim standardom, koji mjeri porast težine ženki štakora nakon primjene spoja. Faktori koje treba uzeti u obzir kod razmatranja potrebnih *in vivo* ispitivanja obuhvaćaju prisutnost značajnih parametara kakvoće koji nisu uočeni kod referentnog lijeka (npr. nove posttranslacijske strukture), značajne kvantitativne razlike u parametrima kakvoće između referentnog i biosličnog lijeka te značajne razlike u formulaciji lijeka (korištenje pomoćnih tvari koje nisu uobičajene za biotehnoške lijekove). Stoga izdvojene studije toksičnosti r-hFSH nakon ponavljanih doza lijeka nije potrebno provoditi, osim ako u formulaciju lijeka uvode nove ili manje istražene pomoćne tvari (13, 17).

Kraći će program kliničkog ispitivanja biti prihvaćen od strane EMA-e zbog sakupljenih kliničkih podataka za referentni lijek te dokazom visoko sličnog profila dviju formulacija usporedbom kakvoće i nekliničkih parametara, čime se izbjegavaju nepotrebna ispitivanja na ljudima koja značajno povećavaju troškove razvoja lijeka (Slika 3) (18).



Slika 3 Vremenski okvir i koraci razvoja referentnog biološkog lijeka i biosimilara. (Preuzeto i modificirano iz [18]).

PK karakteristike trebaju se ustanoviti u ukriženoj studiji s primjenom jedne subkutane doze r-hFSH u skupini zdravih dobrovoljnih žena, koja se smatra prikladnom. Preporučena je supresija proizvodnje endogenog FSH agonistom GnRH-a ili kombiniranim oralnim kontraceptivom. Treba se opravdati doza r-hFSH, uzimajući u obzir kako je doza u linearnom dijelu krivulje doza-odgovor prikladna da otkrije potencijalne razlike u farmakokinetičkim profilima između ispitivanih lijekova. PK parametri koji se trebaju promatrati su AUC i C_{max} kao primarni ishodi ispitivanja čiji 90%-tni interval pouzdanosti (95% CI) omjera biosimilara/referenta treba biti između 80-125 % kao uobičajenom rasponu potvrde bioekvivalencije, a ostali parametri uključuju t_{max}, t_{1/2} i klirens. PD parametri mogu se ispitivati kao dio studije treće faze (17).

Svrha je usporednog ispitivanja djelotvornosti uočiti klinički značajne razlike između biosimilara i referentnog lijeka u randomiziranom klinikom ispitivanju u paralelnim skupinama, po mogućnosti

dvostruko slijepog dizajna korištenjem ishoda djelotvornosti (engl. efficacy endpoints). Ispitivana skupina treba biti reprezentativna za odobrenu indikaciju referentnog lijeka i dovoljno osjetljiva da otkrije potencijalne razlike ispitivanih lijekova. Također je granice za parametre djelotvornosti potrebno defitinirati i obrazložiti na statističkim i kliničkim temeljima te korištenjem podataka o referentnom lijeku (13).

Prikladan model za usporedno ispitivanje djelotvornosti biosimilara i referentnog lijeka s FSH je stimulacija multifolikularnog razvoja u pacijentica podvrgnutih superovulciji za potrebe metoda MPO, s tim da se usporedbu djelotvornosti promatra u prvom terapijskom ciklusu. Doza r-hFSH treba biti fiksna prvih 5 dana stimulacije, a može se koristiti agonistički ili antagonistički GnRH protokol za down regulaciju endogenog FSH. Preporučeni primarni ishod za dokazivanje sličnih profila djelotvorni je "broj dobivenih oocita", s tim da se u obzir uzmu moguća pretjerana ili preslaba stimulacija, što može rezultirati prekidima ciklusa i nedobivenim oocitama. Stoga analiza rezultata treba prikazati ovakva potencijalna odstupanja. Alternativni primarni ishod za prikaz ne-inferiornosti biosimilara jest "stopa tekuće trudnoće najmanje 10 tjedana od embriotransfera" (engl. on-going pregnancy rate; ET), samo što u tom slučaju treba uključiti "broj dobivenih oocita" kao ko-primarni ishod, s prikladnim rasponom ekvivalencije, ili najvažniji sekundarni ishod. Nadalje, EMA daje sekundarne krajnje točke, kao što je ukupna doza r-hFSH-a, broj dana stimulacije FSH i postotak pacijenatica s potrebom adaptacije doze (sniženja/povišenja). Doza FSH treba biti prilagođena na temelju odgovora jajnika što može otkriti skrivene razlike povezane s proizvodom, stoga se prilagodbe doza i moguće razlike između doziranja biosimilara i referentnog lijeka trebaju razmotriti. Velike razlike potrebnih doza dvaju lijekova nebi bile u skladu s konceptom biosličnosti. Parametri kojima se podupiru usporedivi PD profili dvaju lijekova trebaju se istražiti, a prikladni ishodi uključuju broj i raspodjelu veličina folikula tijekom liječenja i na indukcije ovulacije (primjene hCG-a), s tim da se kao dodatan PD parametra može promatrati broj folikula 5. dana stimulacije prije prilagodbe doze. Dodatno, trebaju se mjeriti serumske razine inhibina-B, estradiola (E2), LH i progesterona. Markeri kvalitete oocita/embrija trebaju biti istraženi, a broj jako kvalitetnih oocita/embrija dokumentirani (17).

Iako se sigurnost ispituje tijekom početnih PK/PD ispitivanja, rezultati kliničke studije djelotvornosti biti će obično dovoljni za prikaz profila štetnih događaja biosimilara. Važna je usporedba vrste, ozbiljnosti i učestalosti nuspojava između biosličnog i referentnog lijeka, posebno onih koje su navedene u Sažetku opisa svojstava referentnog lijeka. U dokumentaciji je potrebno dostaviti procjenu rizika „predviđenih“ za bioslični lijek, što obuhvaća opis mogućih sigurnosnih pitanja vezanih uz reakcije povezane s infuzijom lijeka (engl. *infusion-related reactions*) i imunogeničnosti koje mogu rezultirati iz proizvodnog postupka različitog od onog za referentni lijek. Štetni događaj od posebnog interesa u kontekstu FSH preparata jest ovarijski hiperstimulacijski sindrom (OHSS), kao moguće životno-ugrožavajuće stanje, a svi slučajevi OHSS-a trebaju se zabilježiti stupnjevanjem (blagi,

umjereni, teški) i razlikovati rani ili kasno nastali OHSS. Rizični faktori za razvoj OHSS-a su veći broj razvijenih folikula i visoke razine E2, koji se otpušta iz zrelih folikula. Imunogeničnost terapijskih proteina vjerojatnija je pri intermitentnoj nego kontinuiranoj, te je subkutani put više imunogeničan od intravenoznog puta primjene, a ovi faktori mogu se ispitati za r-hFSH s obzirom da pacijentice prolaze kroz više ciklusa MPO-e. Ispitivanje imunogeničnosti treba se nastaviti do 3 mjeseca nakon terapije r-hFSH-om koristeći ispravne testove antitijela adekvatne osjetljivosti i specifičnosti. Stoga se potencijalni utjecaj anti-FSH protutijela na djelotvornost i/ili sigurnost, kada bi se otkrili, treba procijeniti, što uključuje razmatranje potrebe daljnje karakterizacije primjerice njihovog neutralizirajućeg djelovanja. Usporedno se mjeri imuni odgovor (pojava antitijela i titar antitijela) na lijek kojeg je primio bolesnik. Veća imunogeničnost u usporedbi s referentnim lijekom stavlja u pitanje omjer koristi i rizik te biosličnost dok manja imunogeničnost neće spriječiti odobravanje biosličnog lijeka (13, 17).

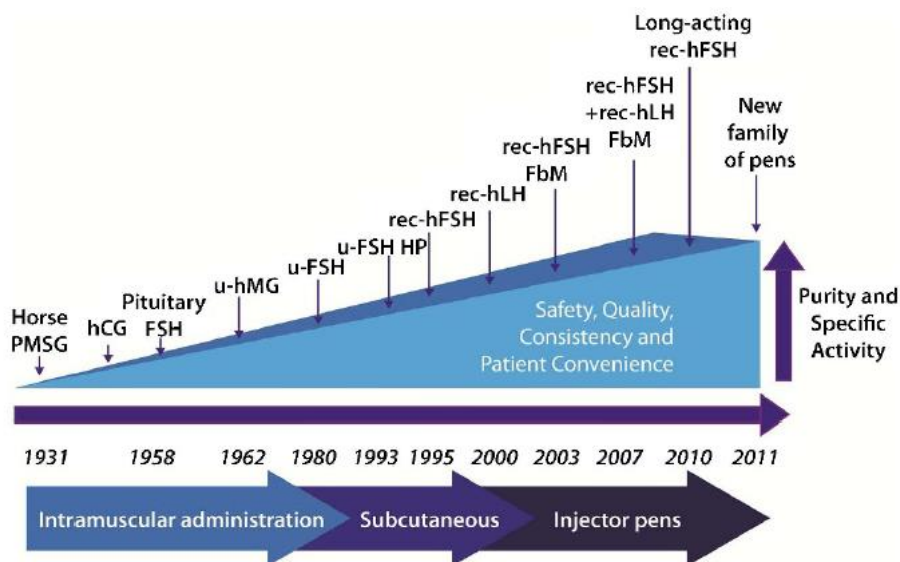
Ako se u usporednim kliničkim ispitivanjima dokaže biosličnost na jednoj indikaciji, moguća je ekstrapolacija kliničkih podataka o sigurnosti i djelotvornosti na druge odobrene indikacije referentnog lijeka, uz znanstveno obrazloženje i prethodni dokaz biosličnosti na razini fizikalno-kemijske i strukturne analize te *in vitro* testova dopunjenih kliničkim podacima za jednu terapijsku indikaciju (13). Jedan od razloga otpora mnogih liječnika propisivanju biosličnih lijekova upravo je mogućnost ekstrapolacije indikacija bez provođenja kliničkih ispitivanja. Prema regulativi, oba ova biosimilarna folitropina alfa, Ovaleap i Bemfola, iako su testirani za kliničku učinkovitost u specifičnoj, ograničenoj populaciji pacijentica (engl. single-patient population) sa specifičnim stimulacijskim protokolom, može dobiti odobrenje ekstrapolacijom za sve terapijske indikacije kako referentni lijek kod muške i ženske neplodnosti (7).

3. PREPARATI EGZOGENOG FSH

Učinak gonadotropina otkriven je prije gotovo jednog stoljeća, a posljednjih je 30 godina terapija gonadotropinima iznjedrila veliki napredak (Slika 4) (19). FSH je ključan hormon za normalan rast i sazrijevanje spolnih stanica te za poticanje stvaranja gonadalnih steroida. Osim endogenog značaja FSH, egzogeno primjenjeni preparati folitropina ključni su u protokolima kontrolirane ovarijske hiperstimulacije (stimulacije ovulacije) u sklopu MPO-e, nakon down regulacije osi hipotalamus-hipofiza-ovariji, jer potiču razvoj i sazrijevanje većeg broja oocita u jednom stimuliranom ciklusu. Naime, nedostatna endogena proizvodnja FSH jedan je od poznatih uzroka neplodnosti te se primjena egzogenih gonadotropina koristi u liječenju ovog poremaćaja, kao i za indukciju ovulacije oligoanovulatornih pacijentica (5).

Prvi gonadotropini, dobiveni iz ekstrakta postmortalnih ljudskih hipofiza (hPG), bili su mješavina podjednake količine FSH i LH. Osim otkrića da induciraju razvoj neutralizirajućih protutijela, koja smanjuju odgovor jajnika na ponavljajuću stimulaciju, tek su zbog slučajeva demencija i smrti zbog ijetrogene Creutzfeldt-Jacobsonove bolesti (CJD) povezanih s njima uklonjeni s tržišta. Nedostaci i ozbiljni sigurnosni problemi povezani s ekstraktima hipofize potaknuli su potrebu pronalaženja alternativnih izvora FSH. (4, 20)

Dostupni FSH preparati uključuju urinarne humane menopauzalne gonadotropine, pročišćeni i visoko pročišćeni urinarni FSH te rekombinantni humani FSH, koji se sintetizira iz kulture CHO stanica ili humanih staničnih linija.



Slika 4 Prekretnice u razvoju proizvoda koji sadržavaju FSH (Preuzeto iz [19]).

3.1. Urinarni FSH

Razvojem tehnike ekstrakcije i pročišćavanja gonadotropina iz ljudskih uzoraka odnosno urina postmenopauzalnih žena u započelo je novo razdoblje u reprodukcijskoj endokrinologiji. Prvi urinarni gonadotropin, menotropin ili humani menopauzalni gonadotropin (hMG; Humegon) sadržavao je FSH i LH u omjeru 1:1, s manje od 5% aktivne supstance. Iako je postao zlatni standard u indukciji ovulacije, zbog vrlo niske pročišćenosti preparata, kontaminacije urinarnim proteinima s nepoznatim učinkom na folikulogenezu (95 %) i visokog sadržaja LH, hMG je pokazao dosta nedostataka.

Druga generacija preparata urinarnih proteina razvijena je zbog tehnika uklanjanja LH pomoću poliklonalnih protutijela. Nastao je urofolitropin (huFSH, Metrodin) s omjerom FSH:LH od 75:1. Međutim, daljnjim napretkom tehnike te korištenjem specifičnih monoklonalnih protutijela nastao je visoko pročišćeni urofolitropin (HP-huFSH, HP-Metrodin) s < 5 % urinarnih bjelančevina, što je omogućilo subkutanu primjenu. Međutim, proizvodnja FSH iz urina imala je nedostatke, bile su potrebne velike količine urina, te je inherentna varijabilnost početnog materijala vodila visokoj varijabilnosti između serija finalnog proizvoda (5, 19, 21).

3.2. Rekombinantni FSH

Napredak u tehnologiji DNA omogućio je sintezu visoko pročišćenih preparata r-hFSH, specifične aktivnosti FSH > 10.000 IU/mg proteina, bez LH aktivnosti, s visokom konzistentnošću između serija i profilom izoformi. Prvi je registriran folitropin alfa (Gonal-f) 1995. godine, koji sadrži 37.5-150 IU r-hFSH po ampuli, a iduće je godine izašao i folitropin beta (Puregon) koji sadrži 50-299 IU r-hFSH po ampuli. Oba produkta nastala su rekombinantnom tehnikom putem CHO staničnih linija, ali se razlikuju u metodama proizvodnje i pročišćavanja (19, 22, 23). Iako je proizvodnja manjih proteina rekombinantnom tehnologijom relativno jednostavna, proizvodnja r-hFSH, zbog korištenja sustava genetički modificiranih stanica sisavaca, predstavlja izazov zbog posttranslacijske glikozilacije. Osim tih rekombinantnih pripravaka, danas na europskom tržištu postoji i dugodjelujući kofolitropin alfa (Elonva) kao modificirani folitropin. Međutim, Gonal-f je originalni FSH proizvod, zlatni standard u postupcima stimulacije ovulacije, s kojim se uspoređuju svi biosimilari.

Fizikalno-kemijske i biološke usporedbe folitropina alfa i beta pokazale su neke značajne razlike unatoč sličim fizikalnim karakteristikama i biološkim svojstima (21). Folitropin beta sadržava više razlinu oksidacijskih spojeva dok folitropin alfa ima veći sadržaj slobodnih poedinica. Specifična aktivnost folitropina alfa bila je veća (12 900-14 400 IU/mg vs 7200-9800 IU/mg) te je raspon FSH izoformi bio manje heterogen i više kisel nego kod folitropina beta. Preporučeno je kako bi ove razlike mogle biti povezane s razlikama u procesima proizvodnje, prvenstveno staničnom podrijetlu, ali one u biti dovode do istog terapijskog ishoda (21). Studije koje su uspoređivale učinkovitost ovih dvaju

preparata nisu pokazale značajnu razlike u pogledu broja folikula, aspiriranih oocita i oplodjenih oocita nakon nekoliko ciklusa MPO (24, 25).

Primarne strukture ovih rekombinantnih glikoproteina odgovara njihovim prirodnim srodnicima, s tim da se r-hFSH blago razlikuje od hipofiznog i urinarnog (26, 27, 28). Urinarni pokazuje veću heterogenost, razine glikozilacije i sijalizacije od rekombinantnog, a rekombinantni FSH je generalno manje kisel od urinarnog te pokazuju višu in vitro bioaktivnost i stope klirensa plazme u štakora (28, 29). Unatoč još većim fizikalno-kemijskim razlikama između urinarnog i rFSH, oba pripravka dijele sličan profil koncentracije u krvi. Stoga se primjenjuju ekvivalentni protokoli i režimi liječenja. Štoviše, sustavni pregled kliničkog ishoda koji proizlazi iz upotrebe bilo koje formulacije nije otkrio nikakve značajne razlike u stopi živog rođenja (30).

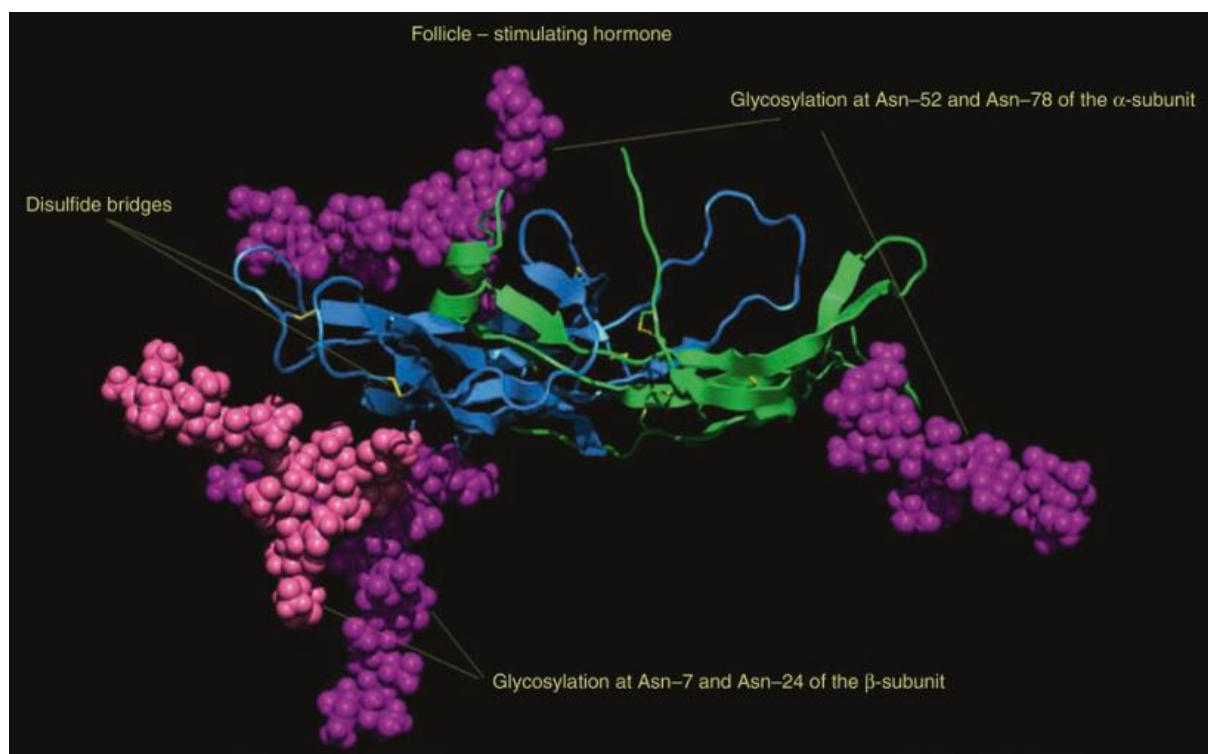
Ovi su rekombinantni proteini gotovo potpuno zamijenili ekstraktne proteine zbog sigurnosnih razloga i zahvaljujući razvoju novih tehnologija. Naime, prednost rekombinantnih proteina je mogućnost neograničene proizvodnje, neovisno o prikupljanju urina i relativno jednostavne metode pročišćavanja. Nadalje, rizik transmisije mikroorganizama postao je nebitan jer se proteini ne ekstrahiraju, poput preparata humanog ili životinjskog podrijetla. Čistoća i konzistencija folitropina alfa kontrolirana je raznim fizikalnom-kemijskim tehnikama, poput tekuće kromatografije (engl. size exclusion high-performance liquid chromatography, SE-HPLC), izoelektričnog fokusiranja ili mapiranja glikana. Zbog stalnog profila glikozilacije između serije, što je karakteristika rekombinante tehnologije, potvrđuje se visoka konzistentnost proizvoda što osigurava vezu mase FSH (mikrogrami) i biološke aktivnosti (IU), čime je omogućen je razvoj prvog rekombinantnog FSH proizvoda punjenog po masi (engl. filled-by-mass, FbM) 2004. godine, folitropina alfa FbM. Ono liječnicima jamči isporuku točne doze FSH te predstavlja sljedeći korak u evoluciji gonadotropinskih proizvoda u pogledu konzistencije i kliničke učinkovitosti, zbog čega su razvijene nove brizgalice za primjenu preciznih doza rekombinantnog FSH (19). Također se treba uzeti u obzir kako individualizirano, optimalno vođenje ciklusa temeljeno na lijekovima poznatima liječniku može rezultirati ukupnim smanjenjem troškova, proizašlo iz manjeg broja stimuliranih ciklusa potrebnih za postizanje cilja što je trudnoća ili živo rođenje (7).

Osim navedenih vrsta folitropina, razvijeni su novi rekombinantni oblici folitropin delta (Rekovel) i epsilon. ESTHER-2 randomizirana, međunarodna studija procjenjivala je imunogeničnost folitropina delta u pacijentica ESTHER-1 studije, podvrgnutim ponovljenim ciklusima stimulacije, te je osim prikaza niskog potencijal imunogeničnosti, potvrdila prikladnost režima doziranja folitropina delta u ponovljenim ciklusima uz dokumentiranu učinkovitost i sigurnost (31). Folitropin epsilon (FSH-GEX) proizveden je kao potpuno humana molekula s optimiziranim obrascem humane glikozilacije pomoću GlycoExpress sustava (GEX), kao alternativa proizvodima na tržištu. Abd-Elaziz i sur. proveli su studiju prve faze u kojoj su pokazali da folitropin epsilon pokazuje usporediv farmakokinetički profil

pri jednokratnoj i višestrukoj primjeni u usporedbi s r-hFSH izvedenim iz CHO, kao i urinarnim FSH, dok se svojstva PD razlikuju između proizvoda (32).

4. BIOLOŠKI ASPEKTI FSH

Folikulo-stimulirajući hormon je glikoproteinski hormon približne molekularne mase od 31 kDa, koji se sintetizira se i luči iz prednjeg režnja hipofize (adenohipofize). Kao heterodimerni glikoprotein, sastoji se od dvije ne-kovalentno vezane podjedinice s alfa podjedinicom od 92 aminokiseline i 10 cisteinskih ostataka, rezultirajući s 5 disulfidnih mostova, identičnom za sve glikopeptide (FSH, LH, TSH, i hCG) te beta podjedinicom od 111 aminokiselina koja s 12 cisteinskih rezidua rezultira s 6 disulfidnih mostova, specifičnom za r-hFSH u pogledu biološke aktivnosti te vezanja za FSH receptor (Slika 5). Svaka podjedinica može posjedovati 2 asparaginom (Asn) vezana ugljikohidratna postranična lanca. Ovi oligosahardini lanci predstavljaju centralnu pentasaharidnu jezgru (2 N-acetilglukozaminil-, 3 manozil-ostatak), vezanu za asparaginski ostatak aminokiselinskog lanca, i terminalni nastavak više ili manje produžen u dužinu i bogat šećernim skupinama. Obje podjedinice imaju po 2 N-terminalna glikozilacijska mjesta, na alfa lancu Asn 52 and Asn 78 i sadrži 3 metioninska ostatka, te na beta lancu Asn 7 and Asn 24 i sadrži jedan metioninski ostatak. Hormon ne sadrži O-terminalna glikozilacijska mjesta (33). N-glikozilacija beta podjedinice može zahvatiti obje glikozilacijske strane, stvarajući potpuno glikozilirani FSH, posjedujući sva 4 N-glikana, ali i hipoglikoziliranu formu, kojoj nedostaje bilo koji ili oba N-glikana na beta podjedinici (34, 35).



Slika 5 **Struktura FSH.** (Preuzeto iz [36.])

Endogeni FSH je kao heterodimerni glikoprotein definiran primarnim aminokiselinskim slijedom, premda je fiziološki u cirkulaciji izražen kao populacija glikoizoforni, posljedično ekspresiji oligosaharida odnosno sadržajem sijalične kiseline, s različitom zauzetošću specifičnim mjestima β -

podjedinice (prisutnost ili odsutnost oligosaharida) i različitom antenarnosti glikana (grananja oligosaharida). Naime, FSH nije jednostavan polipeptid poput primjerice inzulina nego složen protein koji zbog opsežne posttranslacijske glikozilacije, endogeno u organizmu ili tijekom egzogene proizvodnje u biološkim sustavima postoji kao smjesa različitih glikozilirajućih izoformi s posljedično različitom težinom, poluvremenom života i bioraspoloživosti (37).

Profil glikozilacije svake podjedinice igra ključnu ulogu u aktivnosti i klirensu FSH (37). Glikozilacija α lanca na Asn52 igra važnu ulogu u formiranju funkcionalnog FSH heterodimera i njegovoj posljedičnoj stabilnosti, a također je pokazano da ima ključnu ulogu u aktiviranju/signalizaciji FSHR-a (38, 39, 40). Stoga se smatra da je glikozilacija na ovom mjestu bitna za bioaktivnost. Dodatno, uzorak glikozilacije na obje podjedinice pridoprinosi neto in vivo potentnosti molekule, pri čemu ukupna glikozilacija utječe na metabolički klirens (38, 41). Stupanj terminalne sijalilacije, sulfacije (sulfuracije), antenarnosti (grananja) i fukozilacija jezgre oligosaharidnog lanca razlikuje se i za α i za β podjedinice. Sve ove varijacije mogu utjecati na in vivo biološku aktivnost hormona (42). Postoje četiri prirodno prisutne glikoforme hFSH, koje se razlikuju u sadržaju glikozilacije (zauzetošću oligosaharidima) i antenarnosti (grananju) β podjedinice. To su tetra-glikozilirani hFSH24, tri glikozilirani hFSH21 i hFSH18, te di-glikozilirani hFSH15, a različite se glikoforme mogu identificirati prema njihovom svojstvu migracije pomoću SDS-PAGE Western blot-a (43).

Poznato je da se tijekom faza menstrualnog ciklusa mijenjaju ne samo serumske razine FSH, već i sadržaj različitih FSH izoformi. Proteinska struktura hormona identična je neovisno o podrijetlu hormona. Glikoformni sastav hFSH u cirkulaciji fluktuiraju na karakterističan način tijekom folikularne faze. Tijekom rane folikularne faze prevladavaju kiseline hFSH glikoforme, s većim sadržajem sialične kiseline (N-acetil neuraminska kiselina, Neu5Ac, NANA), s pomakom na manje kisele glikoforme sredinom ciklusa tj. tijekom periovulacijske faze (44, 45). Padmanbhan i sur. pokazali su kako je udio kiselih izoformi u serumu najniži tijekom preovulatorne i ovulatorne faze, a Ulloa-Aguirre i sur. kako se bazične izoforme otpuštaju prije ovulacije. Zambrano i sur. pokazali su kako je udio kiselih izoformi viši tijekom rane do srednje folikularne faze u usporedbi s preovulatornom fazom. Nadalje, diglikozilirani hFSH je više zastupljen kod mlađih žena, dok su tetra-glikozilirani i visoko sialilirani oblici prevladavaju u peri/postmenopauzalnih žena (43, 45, 46). To ukazuje da je glikoformni sastav cirkulirajućeg hFSH funkcionalno relevantan kod žena u reproduktivnoj dobi („cycling women“), što odražava njihov endokrini status.

Kada se FSH preparati podijele na dva uzorka, oni preparati s većim udjelom kisele komponente, imaju duži poluživot i veću biološku in vivo aktivnost u usporedbi s bazičnim preparatima koji imaju manji dio kisele komponente, s kraćim poluživotom in vivo. S obzirom na ovu heterogenost, jasno je kako je FSH mješavina različitih izohormona, koja mijenja sastav tijekom različitih životnih faza te faza menstrualnog ciklusa u žena. Kiseline izoforme stimuliraju folikularno sazrijevanje/maturaciju

dužim, ali manje intenzivnim putem. Suprotno, manje kisele izoforme čini se da pružaju kratak, ali potentan stimulus potreban za indukciju puberteta i ovulacije (33, 47, 48).

U meta-analizi koja je procjenjivala dva čista FSH preparata, Metrodin i Gonalf, koji su se razlikovali svojim profilima glikoformi (Metrodin-HP, visoko kiseli; GONAL-f, manje kisele), utvrđeno je da su pacijentice liječene GONAL-f-om ostvarile bolje rezultate od onih liječenih Metrodinom-HP-om, posebno u pogledu broja folikula, broja dobivenih oocita i trajanja liječenja gonadotropinom. Ove studije ističu važnost profila glikozilacije FSH u njegovim biološkim funkcijama (49).

Kada je GONAL-f uspoređen s potencijalnim biosimilarom, Grass i sur pokazali su kako dva r-hFSH preparata imaju identične polipeptidne lance, ali s pomalo različitim obrascem glikolizacije. Ta strukturna razlika dovodi do različitog efekta i biospecifične aktivnosti rekombinantnog FSH s posljedičnim utjecajem na biološku aktivnost. U usporedbi s Gonalom, N-terminalno glikolizacijsko mjesto B-lanca sadržavalo je viši postotak tri- i tetra-antenarnih glikana i ponavljajućih N-acetilaktozaminskih jedinica (50). Značajna različitost proizlazi zbog sijalizacije i povećanog broja postraničnih skupina, što ima suprotan učinak na biospecifičnu aktivnost r-hFSH, s posljedičnom važnošću za njegovu biološku aktivnost (51).

Ono što bitno naglasiti jest potencijalni utjecaj sadržaja sijalinske kiseline, N-glikolil neuraminske kiseline (Neu5Gc). Naime, ovu kiselinu ljudski organizam ne može sintetizirati, iako se otkriju količine u tragovima konzumacijom životinjskih proizvoda. Studije su izvjestile o prisutnosti anti-Neu5Gc protutijela u svim ljudi, s razinom do 0.1-0.2 % IgG razreda u cirkulaciji. Ghaderi i sur. nagađaju kako cirkulirajuća anti-Neu5Gc protutijela u ljudi mogu potencijalno izazivati reakcije preosjetljivosti i/ili utjecati na poluživot, s posljedicom na brzinu klirensa te smanjene djelotvornosti lijeka. Nadalje, autori ukazuju da već postojeća protutijela protiv glikana u strukturi glikoproteina mogu sekundarno pojačati reaktivnost protutijela usmjerena na temeljnu proteinsku sekvencu (52).

Prethodno spomenuti različiti sastav izoformi proizvođaču biološkog proizvoda nalaže provođenje složenih i usporedivih/komparativnih studija, s ciljem da se pokaže kako te promjene ne utječu štetno na čistoću, potentnost ili identitet proizvoda. Nakon tih studija biosimilari se mogu uvesti u kliničku praksu, a najvažnije je pitanje je jesu li identični ili su novi proizvod, što će dovest do toga da budu ili ne budu međusobno zamjenjivi s referentnim lijekom (3).

5. BIOSIMILARI FSH

U ovom poglavlju prikazani su dokazi usporednih ispitivanja kvalitete, učinkovitosti i sigurnosti odobrenih biosimilara FSH u odnosu na referentni folitropin alfa (Gonal-f), potvrđeni pretkliničkim i kliničkim farmakološkim ispitivanjima, kao i u trećoj fazi randomiziranih kliničkih studija o njihovoj kliničkoj učinkovitosti i sigurnosti, na temelju čega su podnositelji zahtjeva za lijekove Bemfola i Ovaleap stekli odobrenje za stavljanje ovih biosimilara na tržište.

Bemfola i Ovaleap odobreni su za korištenje u svim indikacijama referentnog lijeka Gonal-f u slučajevima ženske i muške neplodnosti. Osim pri anovulaciji (uključujući sindrom policističnih jajnika, PCOS) odraslih žena koje ne reagiraju na terapiju klomifen citratom, koriste se u postupku stimulacije multifolikularnog razvoja, odnosno kontrolirane ovarijske hiperstimulacije (KOH) za metode medicinski potpomognute oplodnje (MPO, engl. assisted reproductive technology, ART), poput in vitro oplodnje (engl. in vitro fertilisation, IVF), transfer gamete u jajovod (engl. gamete intra-fallopian transfer, GIFT) i transfer zigote u jajovod (engl. zygote intra-fallopian transfer, ZIFT). Također se u kombinaciji s pripravkom LH preporučuju za stimulaciju razvoja folikula u žena s teškim nedostatkom LH-a i FSH-a, što je u kliničkim ispitivanjima definirano razinom endogenog LH-a u serumu $< 1,2$ IU/l. Kod muškaraca su preparati folitropina alfa indicirani za stimulaciju spermatogeneze u muškaraca s kongenitalnim ili stečenim hipogonadotropnim hipogonadizmom uz istodobnu terapiju hCG-om (53, 54).

Gotovi proizvod Bemfola je otopina aktivne tvari folitropina alfa, a isporučuje se u obliku 5 različitih volumena otopine u ulošku jednokratne brizgalice za potkožnu primjenu, od 75 IU (0.125 ml) do 450 IU (0.75 ml) od 600 IU FSH/mL, pri čemu je koncentracija aktivne tvari jednaka u svim volumenima otopine (44 mikrograma). Budući da je brizgalica Bemfola namijenjena za jednokratnu primjenu odnosno primjenu pojedinačnih doza r-hFSH, za razliku od otopine Gonala-f u brizgalici namijenjenoj za višestruku uporabu, ne sadrži m-krezol kao konzervans u formulaciji. Osim usporedivosti s formulacijom gotovog lijeka Gonal-f, u sklopu usporednog ispitivanja kvalitete također je dokazana usporedivost formulacije gotovog proizvoda Bemfola s/ bez m-krezola. Sigurnosna ispitivanja pokazala su zadovoljavajuću kvalitetu formulacije u pogledu prisutnosti izvanrednih tvari (npr. virusne kontaminacije) tijekom procesa proizvodnje lijeka te stabilnosti formulacije, ovisno o temperaturnim uvjetima skladištenja te sklonosti degradacijskim procesima (deamidizacija, oksidacija folitropina), usporednu s Gonalom-f. Ove kontrole jamče da je proizvod Bemfola siguran u kliničkoj upotrebi. Proizvođač je naveo kako brizgalica Bemfola pruža mogućnost fine prilagodbe doze s prirastom od 12.5 IU te dodatnim prednostima poput mehanizma kontrole volumena i isporuke (stop-mehanizam koji sprječava ponovnu uporabu) koje poboljšavaju suradljivost te sigurnost pacijentica (53).

Ovaleap dolazi u obliku uložaka bezbojne, bistre otopine u dozama od 300 IU (0.5 ml), 450 IU (0.75 ml) te 900 IU (1.5 ml) folitropina alfa, punjenih po masi, za brizgalicu namijenjenu potkožnoj

primjeni. Kao i u slučaju Bemfole, koncentracija folitropina alfa jednaka je u svim oblicima te 1 mililitar otopine sadrži 600 IU, što odgovara količini od 44 mikrograma folitropina alfa, ali za razliku od lijeka Bemfola, uložak lijeka Ovaleap namijenjen je višestrukoj primjeni, stoga pacijenticama treba dati jasne upute kako da izbjegnu pogrešnu uporabu višedoznog oblika lijeka. Ovaleap krije razlike u obrascu glikozilacije i sastavu formulacije u usporedbi s lijekom Gonal-f (54).

5.1. Pretklinička ispitivanja

Folitropin alfa (Bemfola) te folitropin alfa (Ovaleap, XM17) su djelatne tvari dvaju biosimilarnih preparata r-hFSH, proizvedene rekombinantnom DNK tehnologijom u liniji CHO stanica. Promatrajući folitropin alfa (Bemfola), potvrđena je usporediva primarna struktura prema referentnom folitropinu alfa (Gonal-f). Uočeno je N-terminalno skraćanje za prve dvije aminokiseline lanaca serija aktivne tvari obaju preparata r-hFSH, sa sličnim razinama modifikacije β lanca. Međutim, opažena razlika u razini N-terminalnog skraćanja α lanca među serijama Bemfole, ovisno o različitom mjestu proizvodnje aktivne tvari, od 4-22 %, prema podnosiocu zahtjeva malo je vjerojatno ima bilo kakav utjecaj na učinkovitost i/ili sigurnost (53). Promatrajući folitropin alfa (Ovaleap), nedavna analiza pokazala je kako mu je proces proizvodnje složen, bez znatnih razlika u primarnoj ili sekundarnoj strukturi, distribuciji izoformi, molekularnoj masi, potentnosti ili nečistoćama povezanim s proizvodom prema referentnim folitropinu alfa (Gonal-f). Evaluacija procesa proizvodnje smatrana je zadovoljavajućom, s obzirom na promjene procesa fermentacije i purifikacije aktivne tvari. Usporedna analiza karakterizacije XM17 i folitropina alfa (Gonala-f) i potvrdila je da su struktura, konformacija, profil nečistoća i potentnost dvaju preparata usporedivi (54, 59).

Molekularna masa folitropina alfa (Bemfola), heterodimerne i glikozilirane molekule, je u rasponu između 30-34 kDa, s 25-30 % udjela ugljikohidrata. Iako su razine oksidiranih i deamidiranih vrsta FSH bile usporedive među serijama dvaju preparata te nisu otkrivene nečistoće poput agregata ili fragmenata, serije folitropina alfa (Bemfola) pojavljuju se s neznatno višom molekularnom masom, što je posljedica manjih razlika u profilu glikana odnosno uočene varijabilnosti profila glikoformi FSH između serija Bemfole i Gonala-f (53).

Iako su slične strukture otkrivene na β lancu, uočena je veća razina grananja (antenaritet) glikana kod folitropina alfa (Bemfola), a analiza oligosaharida pokazuje veći udio složenijih tetra-sijaliziranih struktura, nad manjim di-sijaliziranim, u serijama folitropina alfa (Bemfola) u odnosu na folitropin alfa (Gonal-f). Međutim, uzimajući u obzir varijabilnost između serija, te se razlike mogu smatrati malim. Razlike grananja između dva proizvoda vide se na glikozilacijskom mjestu Asn78 na α lancu i Asn7 na β lancu, dok potonje najsloženije mjesto glikozilacije pokazuje najveće varijacije između serija unutar obje skupine preparata (53). U studiji Mastrangelija i sur. uočene su značajne razlike u glikozilaciji između folitropina alfa Bemfola i Gonal-f prema prikazu folitropina alfa (Bemfola) s

većim sadržajem sijalične kiseline te složenijim glikanskim strukturama na svim specifičnim glikozilacijskim mjestima (37, 53). Nisu uočene razlike u navedenoj biološkoj aktivnosti od 600 IU/ml (526-648 IU/ml za gotov proizvod Bemfole te 555-595 IU/ml za Gonal-f), što ukazuje na identičnu specifičnu biološku aktivnost (37).

Analize su pokazale da XM17 i folitropin alfa (Gonal-f) imaju sličan profil izoformi i antenaritet. Indeksi sijalizacije i antenarnosti na četiri mjesta glikozilacije (Asn52, 78, 7, 24) bili su konzistentni kroz serije aktivne tvari istog proizvoda (Ovaleap ili Gonal-f). Ove razlike su uglavnom zbog povećanog sadržaja sialične kiseline opažene na mjestima glikozilacije na beta podjedinici folitropina alfa (Ovaleap) (Asn 7 i Asn 24), ali ne i beta podjedinice folitropina alfa (Gonal-f). Male razlike primijećene su u uzorcima sializacije. Glikani s Neu5Gc otkriveni su u XM17 na dvama glikozilacijskim mjestima na obje podjedinice, čime je ukupni sadržaj sialične kiseline veći od vrijednosti izmjerenih u folitropinu alfa (Gonal-f) te folitropinu beta (Puregon). Viđen je mali pomak u sializaciji u usporedbi s folitropinom alfa (Gonal-f), odnosno većina je glikana XM17 sializirana, s relativno visokim količinama di-, tri- i tetra-sialiliranih glikana, a manjim sadržajem monosialiliranih glikana (54, 59).

U studiji Lispi i sur. potvrđeno je kako folitropin alfa (Ovaleap) i r-hFSH (Gonal-f) pokazuju razlike u glikozilacijskim profilima. Folitropin alfa (Ovaleap) pokazuje viši stupanj sijalinizacije na mjestima N-glikozilacije na beta podjedinici i ukupnom sadržaju Neu5Gc nego r-hFSH (Gonal-f), kao što je objavljeno u Ovaleap EPAR-u. Viša razina Neu5Gc opažena u folitropinu alfa (Ovaleap) može dovesti do razvoja anti-Neu5Gc protutijela, s mogućim učincima na implantaciju i ishode trudnoće (60).

Pomoćne tvari formulacije gotovog preparata folitropina alfa (Ovaleap) su standardne za biološke preparate, te je formulacija temeljena na formulaciji referentnog r-hFSH (Gonal-f) te folitropina beta (Puregon). Benzilklorid je pokazan kao prikladan konzervans (bez raspada aktivne tvari), te je kombinacija s benzalkonijem jednako učinkovita kao i samostalno visoki sadržaj benzilklorida, ali kombinacija je smatrana kako ima bolji sigurnosni profil. Ovi su argumenti smatrani prihvatljivima. Proizvođač je odabrao proizvod "puniti prema masi", što se preferira jer je preciznija metoda zbog visoke čistoće aktivne tvari (54).

Folitropin alfa (Bemfola) je biosličan proizvod folitropina alfa (Gonal-f) tijekom cijelog razvojnog programa. Tvrdi se da folitropin alfa (Bemfola) nije u potpunosti identičan r-hFSH (Gonal-f), što se može očekivati za složene molekule proizvedene dvama biotehnološkim procesima. Naime, uočene manje razlike u profilima glikozilacije dvaju r-hFSH te u otkrivenom rasponu postotka skraćivanja α lanca između serija folitropina alfa (Bemfola), dobre su dokumentirane i prihvatljive u skladu s konceptom biosličnosti, a ne očekuje se njihov veći učinak na profile učinkovitosti i sigurnosti. Zaključno, u prijavljenim analitičkim usporedbama nisu primijećene kvalitativne razlike r-hFSH Bemfola i Gonal-f te su dobiveni dokazi visoko sličnih profila fizikalno-kemijske i biološke kvalitete

folitropina alfa (Bemfol) prema r-hFSH (Gonal-f) (53). Prema smjernici EMEA/CHMP/BWP/49348/2005, priustnost većeg udjela Neu5Gc u XM17 trebala je biti opravdana prikladnim nekliničkim i kliničkim podacima, a biosličnost se trebala potvrditi kvalitetom, pretkliničkim i kliničkim podacima. Prema aspektu kvalitete, ova se razlika smatra prihvatljivom te je dovoljno opravdana nekliničkim i kliničkim podacima +. Smatra se kako je profil kvalitete gotovog lijeka folitropina alfa (Ovaleap) u skladu s kvalitetom odobrenih rekombinantnih proteina. Razlike u Neu5Gc i mali pomak u sialilaciji u usporedbi s r-hFSH (Gonal-f) adekvatno su opisani i opravdani te se smatraju se prihvatljivima. Stoga se prema prikazanim podacima smatra da je XM17 vrlo sličan referentnom folitropinu alfa (Gonal-f), čime je potvrđena biosličnost dvaju preparata na razini profila kvalitete. (54).

Nekliničko testiranje trebalo je, dokazom usporedivosti kvalitete folitropina alfa (Bemfol) prema r-hFSH (Gonal-f), prikazati slične profile PD, PK i toksikologije. Provedeno je in vitro ispitivanje afiniteta za receptor u liniji HEK293 stanica koje izražavaju hFSHR, u kojoj je prikazan usporediv afinitet između serija r-hFSH (Bemfol) (Kd 0.808 - 0.862) i serija r-hFSH (Gonal-f) (Kd 0.687-0.961 nM). Zatim je provedeno in vitro ispitivanje za usporedbu farmakološke aktivnosti, u kojoj se mjerila produkcija cAMP-a u CHO stanicama koje izražavaju rhFSHR. Srednje vrijednosti maksimalne koncentracije cAMP-a bile su 1189 fmol za r-hFSH (Bemfol) te 1130 fmol za r-hFSH (Gonal-f). Srednje vrijednosti ED50 bile su 94.4 mIU/ml za r-hFSH (Bemfol) te 73.7 mIU/ml za r-hFSH (Gonal-f), ukazujući na slično vezanje za receptor te aktivaciju kaskade drugog glasnika. Prema Steelman-Polhey iv vivo testu, koja mjeri povećanje težine jajnika kod ženki štakora, pokazana je usporedna potentnost dvaju folitropina alfa. Određivanje koncentracija folitropina alfa (Bemfol) i r-hFSH (Gonal-f) u uzorcima seruma štakora provedeno je FSH-specifičnim imunoenzimskim testom (ELISA), što se smatra prikladnom metodom. U PK ispitivanju uspoređena je apsorpcija r-hFSH (Bemfol) s r-hFSH (Gonal-f) nakon jednokratne subkutane primjene u štakora, te posljedično izlučivanje mjereno vremenom poluraspada. Cmax je postignut nakon 6 sati za oba proizvoda i iznosio je 72,29 mIU/ml za r-hFSH (Bemfol) i 65,81 mIU/ml za r-hFSH (Gonal-f). Apsolutna bioraspoloživost r-hFSH (Bemfol) i r-hFSH (Gonal-f) bile su 73,2 odnosno 61,9 %. Nisu zabilježene značajne razlike u apsorpciji ova dva proizvoda. Jednokratna primjena doze od 600 IU/kg bilo kojeg FSH proizvoda nije uzrokovala nikakvu toksičnost kod štakora te u ispitivanju toksičnosti pri ponovljenim dozama kod muških i ženskih štakora nisu zabilježeni lokalni ili sistemski štetni učinci nakon primjene bilo kojeg FSH do 300 IU/kg/dan tijekom 28 dana. Serumske razine FSH povećane su ovisno o dozi prvog dana doziranja i nisu uočene razlike između dvaju folitropina alfa. Na kraju ispitivanja razine FSH su općenito bile vrlo niske, pojavom antigeničnosti u štakora koja se ne smatra prediktivnom za ljude. Neklinički podaci, prikazom sličnih rezultata in vitro i in vivo farmakoloških ispitivanja, bez značajnih razlika u PK profilima nakon sc. i iv. primjene jedne doze r-hFSH, potvrđuju

mišljenje da je folitropin alfa (Bemfola) isti ili vrlo sličan r-hFSH (Gonal-f) te se s nekliničkog stajališta folitropin alfa (Bemfola) smatra biosličnim preparatom r-hFSH (Gonal-f) (53).

Nekliničke studije provedene su sa svrhom karakterizacije profila farmakokinetike XM17 u životinja usporedno s r-hFSH (Gonal-f). Farmakokinetika dvaju folitropina alfa uspoređena je u ispitivanju u štakora koji su primali sc. doze od 10, 70 ili 500 IU/kg/dan kroz 7 dana. PK profil obaju proizvoda, izražen parametrima C_{max}, AUC, t_{1/2}, Cl i V_z, bio je vrlo sličan. Dodatni toksikokinetički podaci, dobiveni su u toksikološkoj studiji ponavljanih doza kroz 28 dana u štakora, općenito su podržali usporedivost PK profila dvaju preparata. Međutim, primjećene su niže serumske koncentracije FSH na kraju studije skupini životinja izloženih visokim dozama XM17 za razliku od skupine životinja koje su primale r-hFSH (Gonal-f), što je moguće povezano s višim titrom anti-FSH protutijela u skupini XM17. PD studije provedene su s ciljem usporednog ispitivanja biološke aktivnosti serija XM17 i Gonal-f u in vitro testu vezanja za hFSHR eksprimiran na CHO stanicama, te in vivo Steelman-Pohley biotestu u štakora. Rezultati su pokazali da je biološka aktivnost XM17 i r-hFSH (Gonal-f) slična u in vitro testu vezanja za stanični receptor te usporediva u in vivo Steelman-Pohley biotestu. Studije afiniteta receptora pokazale su usporedivo vezanje Gonal-f i Ovaleap na hFSHR. Vrijednosti K_d bile su 0,334 nM za XM17 te 0,344 nM za r-hFSH (Gonal-f). U ispitivanju na CHO stanicama koje eksprimiraju hFSHR, oba su proizvoda pokazala usporedivu biološku aktivnost. Folitropin alfa (Ovaleap) je potvrđen kao biosimilar r-hFSH (Gonal-f) prema nekliničkim aspektima (54).

5.2. Klinička ispitivanja

Razvojni klinički program Bemfole sastojao se od studija prve faze (FIN1001, Wolzt i sur.) u zdravih ispitanica te treće faze (FIN3001, Rettenbacher i sur.) u neplodnih žena podvrgnutih metoda MPO-e (Tablica 2).

Tablica 2 **Prikaz ustroja kliničkih studija folitropina alfa (Bemfola).**

Studija	Pacijentice	Bemfola/Gonal-f	Trajanje terapije	Broj pacijentica
FIN1001	Zdrave žene dobrovoljke	225 IU	2 doze	24 (18-38 godina)
FIN3001, Glavna studija	Neplodne žene s ovulacijom	Fiksna doza 6 dana, 150 IU/dan > Smanjenje doze isključivo pri riziku „bliskog“ OHSS-a	Do 16 dana	333
FIN3001, Dodatak	Neplodne žene koje nisu zatrudnile u glavnoj studiji			123

Prema nalogu EMA-e (CPMP/EWP/QWP/1401/98), randomizirana studija FIN1001 bila je ukriženog dizajna, provedena je s ciljem ispitivanja ekvivalentnosti PK profila Bemfole prema Gonalu-f, ali su također uspoređeni profili sigurnosti dvaju lijekova. Deset dana nakon *down* regulacije razina endogenog FSH pomoću depo injekcije leuprolid acetata između 15. i 21. dana

menstrualnog ciklusa, te potvrde kriterija uključenja, ispitanice su idućeg, drugog dana ispitivanja primile jednu sc. dozu randomiziranog lijeka. Nakon ponovne analize razina E2 i FSH, ispitanice su 16. dana ispitivanja primile jednu dozu suprotnog lijeka. Za procjenu PK parametara (C_{max} , T_{max} , AUC₀₋₁₉₂, $t_{1/2}$ i K_e) prikupljani su uzorci venske krvi u određenim intervalima nakon svake injekcije r-hFSH, dok su uzorci venske krvi za ispitivanje imunogeničnosti prikupljeni su 1., 15. i 24. dana studije. Za procjenu sigurnosti prijavljivani su svi štetni događaji (eng. adverse events, AE) (55).

Zaslijepljena, randomizirana, multicentrična studija FIN3001 s paralelnim skupinama provedena je s primarnim ciljem ispitivanja usporedive učinkovitosti Bemfole prema Gonalu-f u stimulaciji ovulacije za metode MPO-e (IVF/ICSI). Primarni ishod studije bio je broj dobivenih oocita, dok su sekundarni ishodi uključivali kvalitetu dobivenih oocita, stopu oplodnje oocita, kvalitetu embrija, te broj krioprezerviranih stadija pronukleusa, embrija ili blastocista, ukupnu dozu r-hFSH te broj dana stimulacije, broj pacijentica s prekidom ciklusa zbog pretjeranog odgovora i lošeg odgovora jajnika. Štetni događaji su se pratili kao sekundarna krajnja točna sigurnosti. Također su se kao sekundarne točke ocjenjeni broj i veličina folikula 12 mm ili iznad 8. dana stimulacije, kao i na dan primjene hCG-a. Ostali parametri bili su stope implantacije i kliničke trudnoće, stopa trudnoće u tijeku te stopa živorođene djece (LBR). Pacijentice koje nisu zatrudnile nakon provedenog prvog ciklusa stimulacije r-hFSH-om i postupcima MPO-e, mogle su nastaviti sa drugim terapijskim ciklusom u svrhu ispitivanja imunogeničnosti. Sve uključene pacijentice podvrgnute su *down* regulaciji GnRH agonistom. Postupno nalazima razina estradiola nižim od 50 pg/mL, debljinom endometrija nižom od 5 mm bez nalaza cista jajnika, pacijentice su randomizirane te počele primati, ovisno o skupini, fiksnu dozu od 150 IU/dan FSH preparata. Poslije 6 dana primjene doza se mogla modificirati odnosno povisiti, a ukoliko se pojavio rizik OHSS-a, primjeniti „coasting“ ili prekid terapije (56).

Klinički razvojni program Ovaleapa sastojao se od dvije studije prve faze u zdravih žena i od studije treće faze u skupini neplodnih pacijentica podvrgnutih postupku MPO-e (Tablica 3).

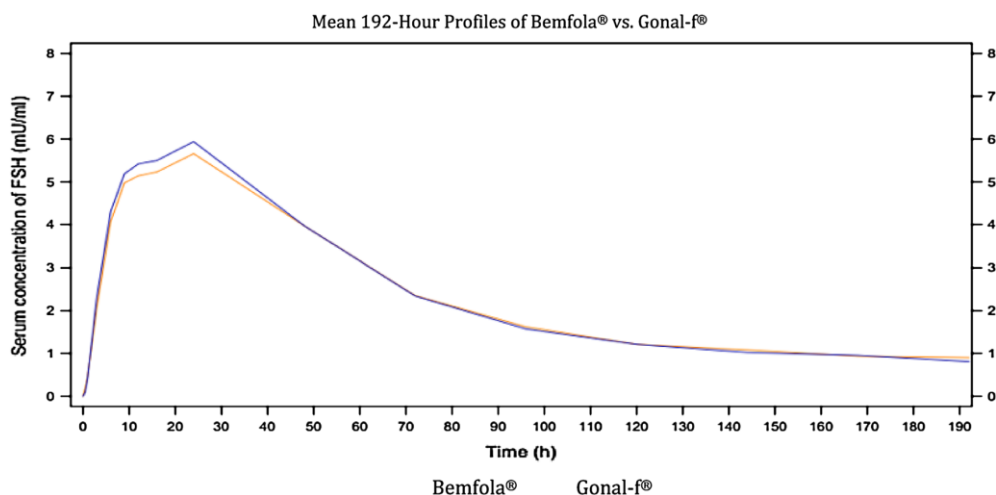
Tablica 3 **Prikaz ustroja kliničkih studija folitropina alfa (Ovaleap).**

Studija	Klinička faza	Sudionice	XM17 (Ovaleap)	Gonal-f	Trajanje terapije	Broj liječenih pacijentica
XM17-01	I	Zdrave žene	37.5; 75, 150, 300 IU	-	Jedna doza	40
XM17-02			300 IU	300 IU	Jedna doza	36
XM17-05 Glavna studija	III	Neplodne, ovulatorne pacijentice podvrgnute MPO-i	Faza fiksne doze: 150 IU	Faza fiksne doze: 150 IU	Faza fiksne doze: 5 dana	299
			Faza prilagodbe doze: s prirastima od 37.5 IU (maksimum 450 IU/dan)	Faza prilagodbe doze: s prirastima od 37.5 IU (maksimum 450 IU/dan)	Faza prilagodbe doze: do 15 dana	
XM17-05 Follow-up studija; B-dio		Pacijentice koje nisu zanijele u Glavnoj studiji	Individualna početna doza (prema ispitivaču)	-	Do 2 terapijska ciklusa, do 20 dana po ciklusu	155
			Prilagodba doze: s prirastima od 37.5 IU (maksimum 450 IU/dan)			

5.2.1. Klinička farmakologija

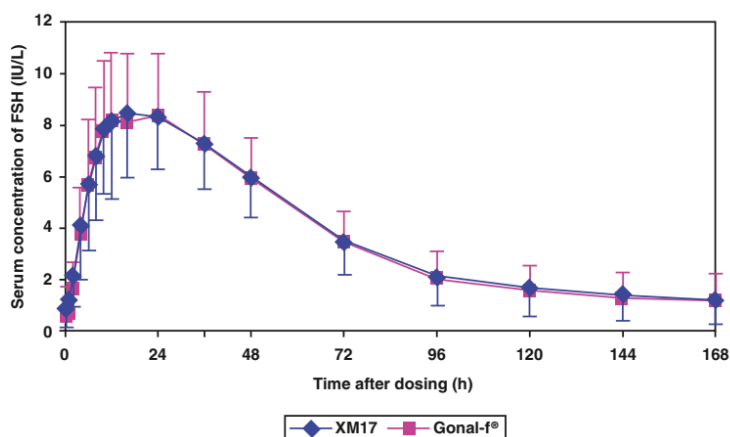
Klinička farmakokinetika

Srednje vrijednosti AUC₀₋₁₉₂ iznosila je 424,90 za folitropin alfa (Bemfola) te 432,75 IU h/L za folitropin alfa (Gonal-f), s 95 %-tnim CI u rasponu od 0,85 do 1,14, što je unutar kriterija za potvrdu bioekvivalencije (0,80-1,25), bez efekta razdoblja studije (eng. period effect) na AUC₀₋₁₉₂ (p = 0,252) (Slika 6). Nije bilo značajne razlike u sekundarnim parametrima. Srednja vrijednost C_{max} za folitropin alfa (Bemfola) opažena je pri 5,69 IU/L, a za folitropin alfa (Gonal-f) pri 6,01 IU/L (94.7 % CI=0,89-1,01), bez efekta razdoblja (p = 0.876), s identičnim medijanom T_{max} od 24 h. Osim toga, srednje vrijednosti t_{1/2} bile su usporedive između folitropin alfa (Bemfola) (43,58 h, SD=14,17) i folitropin alfa (Gonal-f) (42,58 h, SD=16,47), kao i za K_e, s izračunatim 0,0075 1/h za folitropin alfa (Bemfola) i 0,0077 1/h za folitropin alfa (Gonal-f).



Slika 6 Prikaz profila serumskih koncentracija Bemfole i Gonala-f kroz 192 sata u zdravih žena. (Preuzeto iz [55].)

Proporcionalnost doze folitropina alfa (Ovaleap) procijenjena je u studiji XM17-01 primjenom pojedinačnih sc. doza od 37,5 IU, 75 IU, 150 IU i 300 IU XM17. Prosječne vrijednosti primarnih PK parametara FSH, Cmax i AUC0-168, povećali su se s primjenom dozom. Najniža doza od 37,5 IU primijenjena je u 4 ispitanice, dok su 3 veće doze primijenjene su u skupinama po 12 ispitanica. Prosječni profili koncentracije-vrijeme XM17 bili su proporcionalni dozi pri dozama od 75,150 i 300 IU. Apsorpcija XM17 bila je spora, što pokazuju vrijednosti tmax u rasponu od 10 do 168 sati s medijanom od 24 sata u skupinama s višim dozama. Nakon ovog maksimuma koncentracije slijedio je pad koncentracija do 120 sati nakon doziranja. Profil koncentracije-vrijeme pri najnižoj dozi počeo je rasti približno 36 sati nakon doziranja te kod 3/4 ispitanice nije pokazao terminalne faze eliminacije. Prikazana je proporcionalnost Cmax i AUC0-168 prema dozi. Bioekvivalencija PK XM17 prema r-hFSH (Gonal-f) je ispitivana u ukriženoj studiji (XM17-02) nakon primjene 300 IU lijekova Ovaleap i Gonal-f (Slika 7). Studija je pokazala kako nema statistički ili klinički značajnih razlika između korigiranih prosječnih profila koncentracija-vrijeme FSH nakon jedne sc. injekcije 300 IU XM17 ili Gonal-f.



Slika 7 Prikaz profila serumskih koncentracija FSH nakon primjene folitropina alfa (Ovaleap) i folitropina alfa (Gonal-f) u zdravih žena. (Preuzeto iz [62].)

Razlike između lijekova smatrane su klinički neznčajnima ukoliko je 90% CI omjera parametra ispitivanog i referentnog lijeka sadržan unutar intervala prihvatanja između 0.8-1.25, što je uobičajen dogovoren raspon za ispitivanje bioekvivalencije. S obzirom na veličinu uzorka od 18 ispitanica po ispitivanoj skupini (n=36), ovaj ukriženi dizajn studije imao je 90 % snage za odbacivanje obje nul hipoteze prema kako je omjer geometrijskih prosjeka PK parametara za ispitivani i referentni lijek <0.8 ili >1.25, odnosno da dva lijeka nisu ekvivalentni. Profili krivulja koncentracija-vrijeme nakon primjene jedne sc. doze od 300 IU Ovalepa ili Gonal-f bili su gotovo identični. Omjeri primarnih PK parametara (XM17:r-hFSH (Gonal-f)) iznosili su 1.028 (90% CI: 0.931, 1.134) za AUC_{0-t} te 1.017 (90 % CI: 0.958, 1.080) za C_{max} te su potpuno sadržani unutar dogovorenog raspona. Omjeri sekundarnih PK parametara (AUC₀₋₁₆₈ i AUC_{0-∞}) također su bili oko 1 s 90 % CI unutar intervala, što je očekivani iznos omjera (1.05) za ove parametre. Nije bilo razlike u vrijednostima t_{max} između lijekova, s prosječnim vrijednostima 19.78 h i 19.72 h te medijanom t_{max} od 16 h za oba lijeka. Nisu opaženi značajni efekti koji bi utjecali na parametre, s P vrijednosti > 0.1 za sve parametre, prema čemu također ne možemo odbaciti nul hipotezu jer nije statistički značajna, odnosno nema razlika u PK parametrima (62).

Klinička farmakodinamika

Kao dodatni cilj studije FIN1001, analiziran je očekivani porast razine E2 u serumu (AUC₀₋₁₂₀) čak i nakon primjene jedne doze r-hFSH u *down* reguliranih ispitanica, što se smatra markerom farmakodinamičke aktivnosti. Zabilježen je nizak, ali prepoznatljiv porast te plato srednje koncentracije E2 u serumu nakon 24-48 h. Međutim, primjena folitropina alfa (Bemfola) izazvala je jače povećanje (3304 IU h/L) srednjih razina E2 u odnosu na r-hFSH (Gonal-f) (2624 IU h/L) s prosječnim vrijednostima C_{max} od 37,72 nasuprot 30,90 pg/mL. Uočene razlike nisu bile značajne (AUC, p = 0,21; C_{max}, p = 0,82). U FIN3001 studiji, prijavljene su koncentracije FSH bile neznatno više u skupini folitropina alfa (Bemfola) (medijan, 11.9 i 11 IU/L) u usporedbi s skupinom r-hFSH (Gonal-f) 8. dan stimulacije i na dan primjene hCG (medijani, 10.8 i 10.3 IU/L). Medijani koncentracija E2 8. dana stimulacije bili su usporedivi između skupina (2817 za folitropin alfa (Bemfola) te 2869 pmol/L za folitropin alfa (Gonal-f)), dok je na dan primjene hCG-a medijan koncentracije u skupini folitropina alfa (Bemfola) bio neznatno viši (7179 nasuprot 6584 pmol/L u skupini r-hFSH (Gonal-f)) (55, 56).

PD parametri uzeti su također u obzir u ispitivanju faze III (XM17-05) uspoređujući XM17 s r-hFSH (Gonal-f) kod pacijenata podvrgnutih KOH. Izmjerene razine u serumu bile su: FSH, E2, LH i progesteron. U literaturi je prijavljeno kako primjena FSH povećava koncentraciju FSH, estradiola i inhibina-B u plazmi, ali bez značajnih promjena koncentracije LH u plazmi. U studiji je uočeno da i E2 i inhibin-B koreliraju s brojem folikula monitoriran ultrazvukom jajnika. Pored toga, ostali PD

parametri uzeti u obzir bili su "ukupna doza r-hFSH", "broj dana stimulacije r-hFSH" i "broj i veličina folikula" koji su usko povezani s primarnim ishodom ispitivanja faze III „broj dobivenih oocita“. Koncentracije progesterona su se neznatno razlikovale na dan primjene hCG-a s nešto višom koncentracijom u skupini XM17 (1.015 ng/mL naspram 0.920 ng/mL). Također je uočena mala razlika u koncentraciji E2 6. dana stimulacije, tj. nakon završetka terapije fiksnom dozom od pet dana.

Zaključak o kliničkoj farmakologiji

Prema rezultatima studije FIN1001 može se zaključiti PK bioekvivalentnost. Premda se na temelju prikaza koncentracija E2 i FSH u studijama folitropin alfa (Bemfola) može smatrati potentnijim od folitropina alfa (Gonal-f), te se razlike smatraju malima kada se pogleda raspon medijana koncentracije E2 u skupini folitropina alfa (Bemfola) na dan primjene hCG-a koji varira od 107.9 pmol/L do 39669.0 pmol/L, a razlike su u skladu s konceptom biosličnosti (53).

U studiji XM17-01 pokazano je kako je XM17 siguran i dobro se podnosi u zdravih žena te da su njegovi PK parametri proporcionalni dozi. Prosječne maksimalne serumske razine i AUC lijeka Ovaleap proporcionalne su dozi. Srednji profili koncentracija-vrijeme nakon doza XM17 i Gonal-f bili su gotovo identični. Na temelju izmjerenih primarnih PK parametara, pojedinačne se sc. doze od 300 IU XM17 i r-hFSH (Gonal-f) primjenjeni u zdravih mladih žena mogu se smatrati bioekvivalentnima (54, 61, 62).

Ispitivanje parametara PD u sklopu ispitivanja faze III u skladu je s „Nacrtom smjernice o nekliničkom i kliničkom razvoju sličnih bioloških lijekova koji sadrže rekombinantni hormon koji stimulira folikule (r-FSH; EMA / CHMP / BMWP / 671292 / 2010)“. Mjerenje serumskih razina FSH, E2, LH i progesterona smatra se odgovarajućim za podupiranje usporedivih farmakodinamičkih svojstava lijekova XM17 i r-hFSH (Gonal-f). U nacrtu smjernice EMA/CHMP/ BMWP/671292/2010 također se inhibin-B navodi kao jedan od farmakodinamičkih parametara koji bi se trebali uzeti u obzir. Inhibin-B, kao i E2, korelira s brojem folikula uočenih na ultrazvuku jajnika. Kako su izmjereni drugi farmakodinamički parametri dovoljni (razine E2 i FSH, broj i veličina folikula), nedostatak inhibin-B razine nije se smatrao problemom. Na temelju koncentracija E2, XM17 se smatra nešto potentnijim od Gonal-f, kao što je prikazano u početnom razdoblju fiksne doze od 6 dana. Međutim, razlika se smatrala malom, a na kraju razdoblja liječenja na dan primjene hCG-a ta je razlika bila manje očita (54, 63).

5.2.2. Klinička djelotvornost

Folitropin alfa (Bemfola)

Studija FIN3001 Rettenbachera i sur. je dizajnirana da ispita stupanj biosličnosti dvaju preparata prema primarnom praćenom ishodu, broju dobivenih oocita, sa snagom od 90 % (alfa pogreška 2.5 %)

te predodređenim rasponom kliničke ekvivalentnosti od ± 2.9 oocita za razliku ishoda unutar „po protokolu“ populacije pacijentica (engl. Per protocol population, PP). Stoga se razlika broja dobivenih oocita između dvaju preparata manja od 3 oocite te SD od ± 7.06 smatra klinički neznajnom. Izračunat uzorak od 351 pacijentica s omjerom randomizacije 2:1 (234/117) bio je snažan da odbaci nul hipotezu prema kojoj razlika primarnih ishoda dviju skupina izlazi van određenog raspona kliničke ekvivalentnosti Bemfole i Gonal-f ($H_0: \Delta < -2.9$ ili > 2.9 ; $H_1: -2.9 \leq \Delta \leq 2.9$). Rezultati primarnih i sekundarnih ishoda prikazani su u tablici 3.

Pacijentice uključene u studiju svojim početnim karakteristikama, s prosječnom dobi (oko 32 godine), udjelom pacijentica iznad 35 godina te prosječnim ITM-e (oko 23) predstavljale su reprezentativan uzorak populacije pacijentica liječenih metodama MPO-e dokumentiranih u starijoj literaturi. Nisu otkrivene karakteristike koje su varirale između skupina (56).

Analiza primarnog ishoda

Rezultati studije FIN3001 Rettenbachera i sur. pokazali su kako je Bemfola, primjenjena subkutano u dozi od 150 IU, statistički ekvivalentna Gonal-f, unutar definiranih granica razlike broja dobivenih oocita između dviju ispitivanih skupina, u pogledu primarne fiziološke funkcije FSH odnosno stimulacije razvoja folikula jajnika. Prema ZIP regresijskoj analizi, razlika terapijskih skupina bila je 0.27 oocita (95 % CI: -1.34, 1.32) s P-vrijednosti, $P = 0.0003$. Za primarni ishod stoga se utvrđuje ekvivalencija dvaju preparata, s 95% CI koji spada u prethodno navedenu granicu ekvivalencije [-2,9, +2,9]. Rezultati analize ITT populacije (engl. intention-to-treat; sve pacijentice koje su primile lijek s kršenjem protokola) bili su slični rezultatima analize PP populacije, s razlikom broja dobivenih oocita od 0.29 (95 % CI: -1.29, 1.34; $P = 0.0003$), što je potvrdilo opaženu ekvivalentnost. Premda nije bio statistički dizajniran da ispita primarni ishod, također je dobiven sličan broj oocita u pacijentica koje su podvrgnute dodatnom ciklusu stimulacije. Ovi rezultati slični su onima ranijih studija djelotvornosti rekombinantnog FSH u postupcima MPO-e (vidi literaturu u radu). Nije prikazan učinak liječenja na primarni ishod analiziran u PP populaciji s prilagođavanjem dobi u godinama pri randomizaciji i početnoj koncentraciji FSH-a.

Analiza sekundarnih ishoda

Opaženi su između skupina slični rezultati sekundarnih ishoda studije u pogledu razine estradiola, broja i veličine folikula te ishoda trudnoća. Iako studija nije bila dizajnirana da otkrije razlike između preparata u pogledu sekundarnih ishoda, rezultati su u skladu s onima ranijih studija. Premda se pokazatelji kliničke trudnoće nisu razlikovali između skupina u oba ciklusa, opažena razlika od 8 % u korist Gonal-f u prvom ciklusu te 10.7 % u korist Bemfole u drugom ciklusu. Iako studija nije mogla procijeniti signifikantnost ovih razlika stopa kliničke trudnoće, moguće je kako je ovim neznajnim razlikama kliničke trudnoće te stope živorođene djece pridonio veći broj transfera blastocista 5. dana u

prvom ciklusu u skupini Gonal-f u odnosu na skupinu Bemfole (37.4 prema 30.5 %). Stoga su potrebna dodatna klinička ispitivanja za procjenu ovih ishoda.

Prosjek (te medijan) ukupne doze r-hFSH bili su 1555.7 (1512.5) IU u skupini Bemfole te 1569.2 (1500) IU u skupini Gonal-f. Prosječan broj dana stimulacije r-hFSH-om bio je 10.6 dana u skupini Bemfole te 10.7 dana u skupini Gonal-f, s tim da je najmanje 70 % pacijentica u obe skupine stimulirano 10 dana. Udio pacijentica koje su trebale sniženje doze bio je veći u skupini Bemfole (10.6%) nego Gonal-f (7.3 %), a tim da je raspon trajanja sniženja doze zbog OHSS-a u skupini Bemfole bio 7.0-16.0 dana, a u skupini Gonal-f 8.0-12.0 dana.

Prosjek (SD) broja folikula ≥ 12 mm 8. dana stimulacije bio je blaže povećan u skupini Bemfole 7.1 (5.11) u usporedbi s 6.5 (4.65) u skupini Gonal-f. Prosjek (SD) broja folikula na dan primjene hCG-a u sve tri kategorije veličine (≥ 12 , 15, 17 mm) bio je blago veći u skupini Bemfole prema skupini Gonal-f. Medijan razine estradiola 8. dana stimulacije bio je u skupini Bemfole 2818 pmol/L prema 2870 pmol/L u skupini Gonal-f, a na dan primjene hCG-a povećan je na slične razine, 7090 pmol/L prema 6606 pmol/L.

Pacijentica s prekidom ciklusa bilo je u skupini Bemfole 13 (5.3 %) te 5 pacijentica (4.1%) u skupini Gonal-f, a uglavnom je uzrok prekida bio OHSS. Udio pacijentica s dobrim odgovorom jajnika bio je 91.4 % u skupini Bemfole te 89.4 % u skupini Gonal-f, dok je udio pacijentica sa slabim odgovorom (definiran s < 5 izvađenih oocita) bio je 8.6 % te 10.6 %. Uočeno je kako je u skupini Bemfole više zastupljena ICSI metoda (59.3 % naspram 55.31%), a u skupini Bemfole IVF metoda (44.7 % naspram 40.7 %).

Profili zrelosti cumulusa oophorusa bili su slični za sve tri klasifikacijske kategorije (vrlo zrel, zrel, nezrel), kao i zrelost jezgre oocita u trima kategorijama (G, M1, M2) između dvije skupine. Uočen je najveći udio razvijenih oocita u metafazi II (M2) koje se preferiraju za daljni postupak: 83.4 % u skupini Bemfole te 83.2 % u skupini Gonal-f. Međutim, drugog i trećeg dana uočene su manje razlike kvalitete embrija u pogledu "stupnja uniformnosti blastomera" i "stupnja fragmentacije" između skupina. Prema "uniformnosti blastomera" viđen je veći udio jednako velikih blastomera u skupini Gonal-f: drugog dana bilo ih je 59.8 % u skupini Bemfole naspram 65.6 % u skupini Gonal-f, a na dan 53.2 naspram 64.8 %. Staeseen i sur. izvjestili su o pragu od 20 % fragmentacije kako bi se pokazala razlika u stopi implantacije. Mala razlika uočena je u udjelu embrija s "0-20 % fragmentacije": drugi dan 83.0 % u skupini Bemfole i 88.3 % u skupini Gonal, a trećeg dana 73.3 % te 87.4 %. Međutim, stope implantacije bile su usporedive između skupina: 110/346 (31.8%) u skupini Bemfole i 66/180 (36.7%) u skupini Gonal-f. Petog dana blastociste su procijenjene u obje skupine prema šupljini blastocela, unutarnjoj staničnoj masi (ICM) i trofoektodermu. Jedino je uočena mala razlika u unutarnjoj staničnoj masi koja je išla u prilog Bemfoli jer je više blastocista stupnjevano B u odnosu

na Gonal-f. Gardner i sur. pokazali su da ekspanzirana blastocista s čvrsto zbijenim visoko staničnim ICM ima veću stopu implantacije u usporedbi s blastocistom s oskudnim ICM s vrlo malo stanica.

Stope oplodnje oocita po pacijentici bila je slična između skupina (66.0 % za Bemfolu naspram 66.79 % za Gonal-f). Prosječan broj transferiranih embrija bio je usporedan (1.5 naspram 1.6), kao i udio pacijentica s 1, 2 ili 3 transferirana embrija. Stopa implantacije bila je slična između skupina prvog (31.8 % prema 36.7 %), drugog (28.3 % prema 26.7 %), trećeg (33.7 % prema 38.3 %) te petog dana (36.4 % prema 48.4 %) (56).

Razlike prvog i drugog ciklusa ispitivanja

Rezultati drugog ciklusa analizirani su samo deskriptivno, što je i prihvatljivo jer je primarni cilj drugog ciklusa bio procijeniti imunogeničnost i sigurnost Bemfole prema Gonal-f, s malim brojem uključenih pacijentica (n = 110) (Tablica 4).

Uočeno je kako je ukupna primjenjena doza r-hFSH bila slična između skupina u drugom ciklusu, ali veća nego u prvom ciklusu studije (1612 IU u skupini Bemfole te 1604 IU u skupini Gonal-f).

Nisu primijećene razlike sekundarnih ishoda između skupina, osim stope kliničke trudnoće po započetom ciklusu IVF-a, koja je bila veća u skupini Bemfole (34,7%) u usporedbi sa skupinom Gonal-f (26,3%). No treba napomenuti da je broj bolesnika u drugom ciklusu liječenja bio vrlo mali (72 u Bemfoli nasuprot 38 u Gonal-f) u usporedbi s prvim ciklusom liječenja, i ta bi razlika mogla biti rezultat slučajnosti. Rezultati drugog ciklusa liječenja podupiru biosličnost ispitivanih lijekova.

Za razliku od sličnih udjela oocita u M2 između skupina u prvom ciklusu, u drugom je opažen manji udio oocita u skupini Bemfole (81.3 % naspram 85.4 % u skupini Gonal-f), što bi moglo biti posljedica češće primjene ICSI metode u skupini Gonal-f-a koja je mogla izazvati nerazvnotežu razvoja oplođenih oocita.

Incidencija OHSS bila je usporediva između skupina u drugom ciklusu, za razliku od prvog ciklusa u koje je bila veća u skupini Bemfole. Te razlike mogu biti posljedica činjenice da pacijentice koji su iskusile OHSS u prvom ciklusu nisu završile prvi ciklus liječenja ili nisu uključene u drugi ciklus. Stoga je populacija pacijentica drugog ciklusa vjerojatno manje osjetljiva na FSH u usporedbi s populacijom prvog ciklusa. To je također vidljivo kod većeg udjela pacijenatica koje su trebale redukciju doze u prvom ciklusu (10,6% u skupini Bemfole u usporedbi s 7,3% skupine Gonal-f), što je veći postotak nego u drugom ciklusu (4,2% te 5,3%) (53).

Tablica 4 **Rezultati ishoda kliničke studije FIN3001 za ispitivanje kliničke usporedivosti i dokaza folitropina alfa (Bemfola) kao biosimilara referentnog folitropina alfa (Gonal-f).**

	Ciklus 1		Ciklus 2	
	Bemfola	Gonal-f	Bemfola	Gonal-f
<i>Intention to treat (Per protocol) populacija</i>	N = 249 (220)	N = 123 (113)	N = 72	N = 38
Faza stimulacije				
Broj dobivenih oocita, mean ± SD				
PP populacija	10.85 ± 5.11	10.58 ± 6.06	10.4 ± 4.2	10.1 ± 5.3
ITT populacija	10.7 ± 5.62	10.4 ± 6.14		
Pacijentice s dobrim odgovorom, n (%)	225 (90.4)	112 (91.0)		
(s ≥ 4 dobivene oocite)				
Prekidi ciklusa, n (%)	13 (5.2)	5 (4.1)	0	1 (2.6)
Ukupna doza [IU]				
mean ± SD	1555.7 ± 293.00	1569.2 ± 259.20	1612.3 ± 217.67	1604.9 ± 216.61
medijan, raspon	1512.5 (900-2400)	1500 (1050-2400)		
Trajanje stimulacije [dan], ± SD	10.6 ± 1.91	10.7 ± 1.72	10.9 ± 1.33	10.9 ± 1.31
Redukcija doze zbog neposrednog OHSS-a, %	10.6	7.3	4.2	5.3
Broj folikula, n				
- Dan 8 stimulacije				
≥ 12 mm	7.1	6.5	5.8	5.9
- Dan primjene hCG, ± SD				
≥ 12 mm	11.8 ± 4.73	11.1 ± 4.23	11.4 ± 3.96	11.3 ± 4.11
≥ 15 mm	8.3 ± 3.81	7.7 ± 3.60	8.0 ± 3.20	7.7 ± 3.52
≥ 17 mm	4.9 ± 3.29	4.5 ± 2.71	4.5 ± 2.97	4.2 ± 3.41
Serumske koncentracije E2, pmol/L				
Dan 8	3958.9 ± 3699.4	3234.0 ± 2428.1	2824.8 (307.5-19120.7)	2632.5 (182.8-18159.2)
Dan primjene hCG	8982.3 ± 6535.3	7704.2 ± 5345.8	7195.1 (1308.4-23260.5)	6396.8 (2483.9-32413.4)
Kvaliteta oocita, embrija i stope trudnoća				
M2 zrele oocite, %	83.4	83.3		
Blastomere na dan 3				
mean ± SD	6.6 ± 2.41	6.4 ± 2.49		
jednako velike (%)	53.2	64.8		
Broj transferiranih embrija/blastocista (mean ± SD)	1.5 ± 0.52	1.6 ± 0.53		
Udio pacijentica s transferiranim blastocistama 5. dana, %	30.5	37.4		
Stopa implantacije (žumanjčana vreća po ET), n/N (%)	110/346 (31.8)	66/180 (36.7)		
Biokemijska trudnoća				
Po ET, n (%)	116 (51.8)	60 (52.6)	30 (46.2)	18 (50.0)
Po randomiziranoj pacijentici, n/N (%)	116/246 (47.2)	60/246 (48.8)		
Klinička trudnoća				
Po ET, n (%)	90 (40.2)	55 (48.2)	25 (38.5)	10 (27.8)
Po randomiziranoj pacijentici, n/N (%)	90/246 (36.6)	55/123 (44.7)		
Ongoing trudnoća				
Po ET, n (%)	84 (37.5)	51 (44.7)	22 (33.8)	9 (25.0)
Po randomiziranoj pacijentici, n/N (%)	84/246 (34.1)	51/123 (41.4)		
Take-home baby rate po ET, n/N (%)	80/246 (32.5)	50/123 (40.7)		
Broj pacijentica s živorođenom djecom, n (%)	80 (35.7)	50 (43.9)	22 (33.8)	9 (25)

Zaključak o kliničkoj djelotvornosti folitropina alfa (Bemfola)

Dizajn studije imao je nekoliko nedostataka, primjerice prilagodba doze bila je moguća samo u slučaju rizika neposrednog OHSS-a (pri čemu je OHSS nije bio dalje naveden u protokolu studije), a fiksni protokol nije dopuštao prilagodbu doze u slučaju slabog odgovora. U skladu s ovim, cilj studije ne odgovara u potpunosti s uobičajenim ciljevima kliničke prakse. Veličina uzorka definirana je prema primarnom ishodu, ali kao takva je bila nedostatna da otkrije značajnu razliku između sekundarnih ishoda, poput trudnoće, stoga su potrebne dodatne studije za ispitivanje ovih ishoda kao primarnih.

Rezultati ključna studija treće faze FIN3001 prikazali su terapijsku ekvivalentnost Bemfole prema referentnom lijeku Gonal-f u stimulaciji multifolikularnog razvoja među 410 pacijentica podvrgnutih ovarijskoj superovulaciji u sklopu MPO-e. Nadalje, dizajn studije kao primarni ishod "broj dobivenih oocita", uvjetovan učinkom FSH na ovarije te smatran adekvatnim za ispitivanje ekvivalentnosti, u skladu su sa smjernicom EMA-e o razvoju proizvoda koji sadržavaju r-hFSH (EMA/CHMP/BMWP/671292/2010). Nadalje, granica ekvivalenosti za primarni ishod bila je ± 2.9 , što je opravdano jer 3 oocite uglavnom rezultiraju dobrom kvalitetom embrija za transfer ili krioprezervaciju, a uže je postavljena nego u slučaju ispitivanja za odobrenje Elonve (-3, +5) kao modificiranog r-hFSH s dužim poluživotom. Uočene male razlike između udjela pacijentica s potrebom redukcije doze zbog rizika neposrednog OHSS-a te razina estradiola na dan primjene hCG-a smatraju se prihvatljivima, koji su kao i primarni ishod u skladu s konceptom biosličnosti (Članak 10(4) direktive 2001/83/EC) (53).

Folitropin alfa (Ovaleap, XM17)

Ključna studija faze 3 (XM17-05) provedena je u skupini od 299 pacijentica kako bi usporedila učinkovitost Ovaleapa prema Gonalu-f u stimulaciji multifolikularnog razvoja u sklopu superovulacije za potrebe MPO-a, što je prihvatljivo jer je u skladu s Smjernicom za nekliničke i klinički razvoj biosimilara koji sadržavaju r-hFSH (EMA/CHMP/BMWP/671292/2010). Dizajn studije bio je prihvatljiv, te je Gonal-f prikladan referentni proizvod. Kriteriji uključenja i isključenja pacijentica u studiju su adekvatni te u skladu s drugim studijama MPO-e.

U glavnoj studiji, od 398 testiranih žena, 299 su randomizirane (ITT populacija) da bi primile ili Ovaleap (n = 153) ili Gonal-f (n = 146). ATP populacija (n = 297) se neznatno razlikovala od ITT populacije u 2 bolesnika (1 po skupini) u ITT populaciji tijekom razdoblja prilagodbe doze, što se smatralo glavnim kršenjem protokola. Demografske i početne karakteristike, uključujući dob, težinu, BMI, pušenje i konzumaciju alkohola, kao i razlozi i trajanje neplodnosti, bile su usporedive između liječenih skupina.

Dvostruko zaslijepljen dizajn studije nije bio tehnički moguć, s obzirom na različite formulacije za isporuku dvaju lijekova. Ovaleap je dostupan u ulošcima koji se umetnu u brizgalicu, dok je Gonal-f

dostupan u napunjenim brizgalicama s ukomponiranim uloškom otopine lijeka. Iako je takav dizajn poželjan, s obzirom na primarni ishod "broja dobivenih oocita", koji je u skladu s prethodnom smjernicom, dizajn s zalijepljenim ispitivačem je smatran prihvatljivim. Primarni ishod studije je adekvatni promatrani ishod, jer je pod snažnim utjecajem učinka FSH na jajnike, te predstavlja ishod od kliničke važnosti. S obzirom na statističke metode, raspon ekvivalentnosti za primarni ishod "broj dobivenih oocita" bio je -3 i +3 oocite što je opravdano. Veličina uzroka imala je 90 % snagu za odbacivanje nul hipoteze kako je Ovaleap različit od Gonala-f. ZIP regresijska analiza za ispitivanje primarnog ishoda uzima hiperstimulaciju kao i hipostimulaciju u obzir, kako je preporučeno u prethodnoj Smjernici. Fiksna doza od 150 IU r-hFSH korištena prvih 5 stimulacijskih dana je najniža preporučena početna doza kao što je naznačeno u SmPC Gonala-f. Prilagodba doze bila je moguća od 6. dana stimulacije, što je u skladu s kliničkom praksom u Europi. Nisu otkrivene klinički značajne razlike početnih karakteristika pacijentica.

Broj dobivenih oocita bio je sličan između skupina, 12.2 u Ovaleapu prema 12.0 u skupini Gonala-f. Ekvivalentnost je pokazana za primarni ishod u ATP populaciji, s razlikom od 0.03 oocita u korist Ovaleapa, s tim da je 95%-tni interval pouzdanosti (-0.76, +0.82) bio unutar granica ekvivalentnosti (-3, +3). To ukazuje da su dvije skupine za liječenje bile jednake na temelju unaprijed određenog raspona ekvivalencije (-3, +3) oocita. Rezultati za ITT populaciju bili su usporedivi.

Sekundarni ishodi [ukupna r-hFSH doza, broj dana stimulacije r-hFSH-om, broj pacijentica koje su trebale prilagodbu doze te broj folikula 6. dana stimulacije prije prilagodbe doze (≤ 10 mm, >10 -14 mm, >14 -17 mm, >17 mm)] su izravno povezani s farmakodinamiskim djelovanjem FSH. Uočene su male razlike u ukupnoj r-hFSH dozi nižoj u skupini Ovaleapa (1536 IU Ovaleapa vs 1614 IU Gonala-f), broju dana stimulacije manjim u Ovaleap skupini (9.3 vs 9.7), te udjelu pacijentica s povećanjem doze (35.9 vs 43.2 %). Udio pacijentica koje su trebale prilagodbu doze bio je niži u skupini Ovaleapa (51.0 % nasuprot 58.2 % u skupini Gonala-f), što je bilo posljedica nižeg udjela pacijentica s povećanjem doze. Ukupno je 136 pacijentica završilo studiju bez prilagodbe doze (42 % u skupini Gonala-f te 49 % u skupini Ovaleapa), a broj dobivenih oocita kod njih je bio sličan između skupina (12.5 i 11.9). Većina pacijentica, 80.4 % u skupini Ovaleap te 82.9 % u Gonalu-f, primala je dozu r-hFSH 8-11 dana.

Također su otkrivena razlika u učestalosti pacijentica s folikulima > 14 mm prije prilagodbe doze od 27 % u Ovaleapu vs 14 % u Gonalu-f, a na kraju terapije nakon prilagodbe doze pri primjeni hCG-a, udjeli pacijentica s folikulima > 14 mm bio je sličan između skupina (10.8, 93 % u skupini Ovaleapa vs 10.8, 94 % u skupini Gonala-f), kao i razine E2 (2744.3 Ovaleapa vs 2598.5 pg/mL Gonala-f), a debljina endometrija bila je usporediva između skupina (10.9 mm).

Razine serumskog E2 6. dana stimulacije prije prilagodbe doze jako su varirale te je prosječna koncentracija bila viša u skupini Ovaleap (650.2 vs 516.3 pg/mL u skupini Gonala-f), dok je debljina endometrija bila usporediva između skupina (8.0 u Gonala-f skupini vs 8.2 mm kod Ovaleapa).

Ovi podaci pokazuju blago veću potentnost Ovaleapa od Gonala-f, iako se uočene razlike u potrebama za doziranjem smatraju malima. Uočena prosječna razlika ukupnog r-hFSH u razdoblju liječenja od 9-10 dana je 78 IU. Nadalje, prosječna dnevna doza FSH bila je slična između skupina od 165 IU/dan za Ovaleap nasuprot 166 IU/dan u Gonala-f.

Većina pacijentica (77,9%) podvrgnuta je ICSI proceduri (74,7% skupine Gonala-f i 81,0% XM17), dok je 14,0% pacijentica podvrgnuto IVF procedurama i 6,4% kombinacijom metoda. Profili zrelosti oocita (kod pacijentica s ICSI metodom) bili su vrlo slični između dviju skupina. Najveći broj zabilježen je za oocyte metafaze II koje se prikladno koriste za ove postupke oplodnje: $8,4 \pm 4,6$ u skupini Gonala-f i $8,4 \pm 4,2$ u skupini XM17.

Stopa kliničke trudnoće za pacijentice s ET je u skladu s rezultatima Gonala-f u kliničkim studijama s agonističkim protokolom iz literature, između 23 do 39 % (10,11,12,13,14). Nije bilo klinički značajnih razlika u razdoblju praćenja trudnoća. Stopa "trudnoće u tijeku" po randomiziranoj pacijentici (33.6 u Gonala-f i 27.5 % u Ovaleapu) bila je usporediva i podupirala je primarnih ishod. Ukupno je 99 pacijentica rodilo 110 živorođene djece. Stopa „take-home baby rate“ po ET bila je u skladu s stopom "ongoing u tijeku" trudnoće po randomiziranoj pacijentici (35.1 za Gonala-f i 29.1 % za Ovaleap). Drugi sekundarni ishodi učinkovitosti su također podržavali primarni ishod (63).

U studiju praćenja (follow-up) uključeno je 155 od 177 pacijentica glavne studije koje nisu postigle kliničku trudnoću, a 147 je pacijentica susrelo kriterije uključenja/isključenja i primilo najmanje 1 dozu Ovaleapa kroz dva dodatna ciklusa. U oba dodatna ciklusa bile su usporedive demografske karakteristike između pacijentica koje su primile Ovaleap vs Gonala-f u glavnoj studiji.

Prosječan broj dobivenih oocita i kvaliteta oocita (tablica) u ovoj studiji bile su slične onima glavne studije te su bile usporedive onima prethodnih studija Gonala-f (15-20). Ukupna se doza r-hFSH (Ovaleapa ili Gonala-f) povećala od prvog ciklusa u glavnoj studiji preko drugog do trećeg ciklusa u ovoj studiji. Ovo je u skladu s prethodnim studijama pokazujući povećanje gonadotropinske doze u pacijentica podvrgnutih većem broju IVF terapijskih ciklusa, što se može razumijeti kao rezultat slabijeg odgovora ovih pacijentica na stimulaciju FSH-om, što je naznačeno time što nisu postigle trudnoću nakon prvog ciklusa IVF-a (23,24). Međutim, medijan ukupne doze Ovaleapa u trenutnoj je studiji bio u skladu s dozom Gonala-f korištenom u drugim kliničkim ispitivanjima za optimalni razvoj folikula (15, 17-19). Također, stope biokemijske i ongoing trudnoće u trenutnoj studiji bile su očekivane da će biti blago niže od onih u glavnoj studiji jer ove pacijentice nisu zanijele u početnom IVF terapijskom ciklusu (Tablica 5).

Medijan broja dobivenih embrija po pacijetnici bio je 3 (raspon 0-19) u ciklusu 2 i 4(2-15) u ciklusu 3. Medijan broja transferiranih embrija u ciklusu 2 bio je 2 (0-4) te u ciklusu 3 bio 2 (1-4). Stopa biokemijske trudnoće bila je 31 % tijekom oba ciklusa (46/147 i 19/61), te je ukupna stopa za kombinirane 2 i 3. ciklus bila 42.9 % (63/147). Dvije pacijentice s biokemijskom trudnoćom u drugom ciklusu nije razvilo kliničku trudnoću te su liječene Ovaleapom u trećem ciklusu. Uključujući isključivo one pacijentice s ET, stopa ongoing trudniće u ciklusu 2 bila je 25.9 % (37/143), u ciklusu 3 bila je 21.7 % (13/60), i u kombiniranom 2 i 3. ciklusu bila je 34.7 % (50/144) (64).

Zaključak o kliničkoj djelotvornosti folitropina alfa (Ovaleap)

Dakle, utvrđena je terapijska ekvivalentnost Ovaleapa i referentnog Gonala-f prema broju dobivenih oocita kao primarnom ishodu. Nadalje, nisu otkrivene velike razlike u potrebama doziranja između Ovaleapa i Gonala-f. Prikaz učinkovitosti Ovaleapa u stimulaciji multifolikularnog razvoja u pacijentica podvrgnutih superovulaciji za MPO dopušta ekstrapolaciju na druge terapijske indikacije odobrene za Gonal-f (54).

Tablica 5 **Rezultati ishoda kliničke studije XM17-05 za ispitivanje kliničke usporedivosti i dokaza folitropina alfa (Ovaleap) kao biosimilara referentnog folitropina alfa (Gonal-f).**

	Ciklus 1 (Glavna studija)				Dodatni terapijski ciklusi (Follow-up studija)	
Terapijska skupina	Gonal-f		Ovaleap		Ovaleap	
	ITT = 146	ATP = 145	ITT = 153	ATP = 152	Ciklus 2 (N = 147)	Ciklus 3 (N = 61)
Aspiracija oocita						
N (pacijentica s min. 1 oocita) (Stopa poništenja prije aspiracije oocita)	143/146 (2.1 %)	143/145 (1.4 %)	152/153 (0.7 %)	151/152 (0.7 %)	146/147	60/61
N (aspirirane oocite/pacijentici) - imputirane vrijednosti; mean±SD (medijan, raspon)	11.9±6.9(12,0-44)	12.0±6.8(12,0-44)	12.2±6.8(11,0-36)	12.2±6.8(11,0-36)		
- neimputirane vrijednosti (mean±SD)	12.1 ± 6.7	12.1 ± 6.7	12.2 ± 6.7	12.2 ± 6.8	12.1±5.9(11,2-36)	13.5±6.5(12,3-33)
N (pacijentice bez adaptacije doze po završetku studije) (N aspiriranih oocita, mean)	61 (12.5)		75 (11.9)			
Doza i trajanje stimulacije r-hFSH-om						
Ukupna doza [IU], (mean ± SD)	1614 ± 485		1536 ± 496		1998 ± 771	2113 ± 939
Prilagodba doze, N, (%)						
ukupno pacijentica	85 (58.2)		78 (51.0)			
doza povećana	63 (43.2)		55 (35.9)			
doza snižena	22 (15.1)		23 (15.0)			
Trajanje stimulacije [dan], mean±SD (medijan, raspon)	9.7±1.6 (10, 6-16)		9.3±1.8 (9, 5-16)		9.9±1.8 (10, 4-14)	9.9±1.7 (10, 5-14)
Kvaliteta oocita						
N (ukupno 2PN oocita), N (%)	779		910		881	407
Z1 (najbolje)	164 (21.1)		188 (20.7)		162 (18.4)	71 (17.4)
Z2	305 (39.2)		337 (37.0)		363 (41.2)	160 (39.3)
Z3	227 (29.1)		278 (30.5)		234 (26.6)	127 (31.2)
Z4 (najlošije)	83 (10.7)		107 (11.8)		122 (13.8)	49 (12.0)
Stope trudnoća						
Biokemijske trudnoće, n/N (%)						
Sve pacijentice	60/146 (41.1)		58/153 (37.9)		46/147 (31.0)	19/61 (25.9)
Kliničke trudnoće, n/N (%)						
Sve pacijentice	52/146 (35.6)		43/153 (28.1)			
Pac. s aspiracijom oocita	52/143 (36.4)		43/152 (28.3)			
Pac. s ET	52/134 (38.8)		43/141 (30.5)			
Trudnoće u tijeku, n/N (%)						
Sve pacijentice	49/146 (33.6)		42/153 (27.5)			
Pac. s aspiracijom oocita	49/143 (34.3)		42/152 (27.6)			
Pac. s ET	49/134 (36.6)		42/141 (29.8)		37/143 (25.9)	13/60 (21.7)
Take-home baby stope, n/N (%)						
Sve pacijentice	47/146 (32.2)		41/153 (26.8)			
Pac. s aspiracijom oocita	47/143 (32.9)		41/152 (27.0)			
Pac. s ET	47/134 (35.1)		41/141 (29.1)			

5.2.3. Klinička sigurnost

Folitropin alfa (Bemfola)

Štetni događaji (engl. AE) otkriveni su u uzroku od 273 ispitanica s primljenom minimalno jednom dozom Bemfole, a od 249 randomiziranih pacijentica studije FIN3001, 72 ih je prošlo drugi ciklus za ispitivanje imunogeničnosti.

U studiji FIN1001 nisu uočeni značajni sigurnosni problemi, a među 121 prijavljena nije bilo ozbiljnih štetnih događaja. Većina je bila su povezana s liječenjem, a samo je jedan slučaj blage lokalne boli na mjestu injekcije povezan isključivo s primjenom Bemfole. Najčešće su prijavljivane glavobolja i navale vrućine, a jedna je ispitanica isključena iz studije zbog abnormalne UZV procjene.

U prvom je ciklusu studije FIN3001 incidencija štetnih pojava nastalih liječenjem, a povezanih s ispitivanim lijekom (eng. drug-related treatment-emergent adverse events, TEAEDR) bila viša u skupini Bemfole (64.3%) nego Gonal-f (53.7%), a najčešće su prijavljivani eritem te hematoma na mjestu injekcije, glavobolja i OHSS, s većom učestalošću OHSS-a i hematoma u skupini Bemfole. Učestalost ozbiljnih štetnih pojava (eng. serious adverse event, SAE) bila je viša u skupini Bemfole, što je uglavnom pripisano većoj incidenciji OHSS-a u skupini Bemfole, dok smrtni slučajevi nisu prijavljeni. Zbog toga je učestalost prekida primjene lijeka u ispitivanju bila veća u skupini Bemfole, s neravnotežom između 10 pacijentica u skupini Bemfole nasuprot 1 pacijentici u skupini Gonala-f. Svi slučajevi OHSS-a klasificirani su kao umjerene težine, dok je slučaj pacijentice u skupini Gonala-f bio blag.

Rezultati obiju kliničkih studija potvrdili su navode Smjernice o proizvodima s r-hFSH (točno broj smjernice) prema prijavljenoj niskoj imunogeničnosti r-hFSH Bemfole odnosno nije prijavljena prisutnost anti-FSH neutralizirajućih protutijela. Samo 8 od 72 ispitana uzorka venske krvi u studiji FIN1001 bila su iznad razine kvantifikacije (eng. LoQ; = 57.4 relRU), ali su signali bili nespecifični za FSH. Osim toga, između uzoraka prikupljenih 15. i 24. dana ispitivanja nije bilo značajnog povećanja razina protutijela. Iako specifična imunogeničnost r-hFSH nije vidljiva u ovom ispitivanju, klinički značaj ovog opažanja nije jasan s obzirom da se temelji na primjeni jedne sc. doze. Također, analiza imunogeničnosti studije FIN3001 nije dokazala prisutnost specifičnih protutijela, bez uočenog porasta jedinica odgovora (relU) u oba ciklusa.

Ovarijski hiperstimulacijski sindrom (OHSS)

OHSS je u prvom ciklusu prijavljen u 55 pacijentica (22.1 %) u skupini Bemfole te s nižom učestalošću u skupini Gonala-f (16, 13 %), što je posljedica neravnoteže incidencija blagog (12.4 prema 8.1 %) i umjerenog (8.8 prema 4.1%) te OHSS-a koji je vodio prekidu primjene lijeka (3.6 prema 0.8 %) između skupina. Opaženo je odstupanje između pacijentica s „prijetećim“ OHSS-om (40

prema 14 pacijentica) te pacijentica sa sniženjem doze (38 prema 16), jer kod 9 pacijentica u skupini Bemfole te 2 u skupini Gonal-f nije snižena doza prema protokolu iako su iskusile prijetnju OHSS-a. Međutim, snižena je doza u 7 pacijentica na Bemfoli te 4 na Gonalu-f bez prijetnje OHSS-a. Uočen je i prosječno kasniji nastup redukcije doze u skupini Bemfole (8.8 dana u skupini Bemfole nasuprot 6.8 dana kod Gonala-f), a duže je trajala u skupini Gonala-f (2.7 nasuprot 4.1 dana).

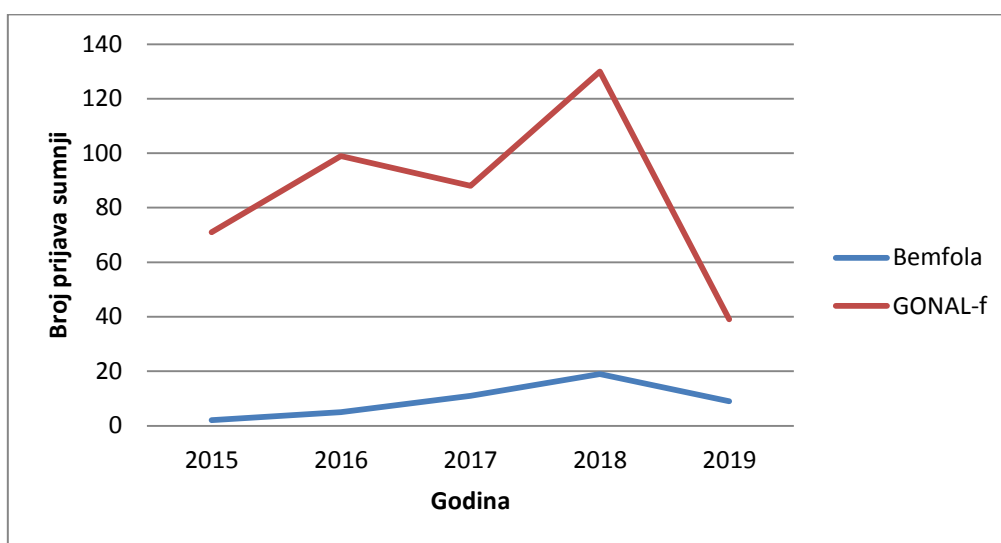
Problematika analize slučajeva OHSS-a u studiji FIN3001 vezana je uz dva ograničenja. Fiksna doza FSH nije bila prilagođena na temelju odgovora jajnika te je jedino mogla biti snižena u slučaju rizika „bliskog“ OHSS-a (definicija određena od strane ispitivača), što je moglo rezultirati višom ukupnom incidencijom OHSS-a. Premda je OHSS klasificiran kao blag, umjeren i težak (Američko društvo za reproduktivnu medicinu, 2004.), također je stupnjevan prema ispitivaču pojmovima „prijetjećeg“ i „stvarnog“ OHSS-a, o kojima se očitovao podnositelj zahtjeva jer nisu korišteni u ranijim ispitivanjima niti literaturi. Prijeteći je OHSS mogao biti stvaran i obrnuto, stoga su slučajevi dviju vrsta klasificirani kao jedan entitet, zbog čega je incidencija OHSS-a u obe terapijske skupine prijavljena u prvom ciklusu bila mnogo veća od navedenih u SmPC Gonala-f (blag ili umjeren klasificiran kao uobičajen odnosno između 1-10 %, a rijedak teški između 0.1-1 %) i drugih formulacija f-hFSH (Puregon, približno 4 % ukupna incidencija OHSS-a). Prema podnositelju, „prijeteći“ je OHSS, kao samo očekivanje ispitivača da se OHSS može razviti, ali ne i da je razvijen, mogao pridonijeti većoj incidenciji u obe skupine u odnosu na prethodna ispitivanja primjerice Elonve ili Ovaleapa. Uočen je veći udio pacijentica s AMH razinama ≥ 24 pmol/L skupine Bemfola koji je mogao je pridonijeti većoj incidenciji OHSS-a u toj skupini, ali mala razlika u omjeru tih pacijenatica između skupina od 4,4% ne može u potpunosti objasniti razliku ukupno prijavljenih slučajeva (22.1 prema 13.0 %). Prema podnositelju, ova studija treće faze nije bila dizajnirana da ispita takve razlike OHSS-a, a nisu uočene značajne razlike ishoda studije koji bi mogli objasniti razliku u incidenciji. Teški OHSS dogodio se u manje od 1 % pacijentica u obje skupine (0.8 %), što je u skladu s prijavljenom stopom u sličnoj populaciji pri terapiji dugim agonističkim protokolom i Gonalom-f kao , komparatorom (57, 58). U vrijeme kada je studija dizajnirana, AMH nije u potpunosti bio priznat kao bitan prediktivni klinički parametar, ali ovi nalazi podupiru današnje stajalište stratifikacije pacijentica u kliničkim ispitivanjima prema razini AMH, kao važnog pokazatelja odgovora jajnika. Pacijentice koje su iskusile OHSS ili nisu završile prvi ciklus nisu uključene u drugi ciklus. Stoga je populacija pacijentica drugog ciklusa vjerojatno bila manje osjetljiva na FSH u usporedbi s populacijom prvog ciklusa, što je u skladu s nižom incidencijom OHSS-a u opaženom u drugom ciklusu u usporedbi s prvim (6.9 % za Bemfolu te 5.3 % za Gonal-f) (53, 56).

U sklopu studije FIN3001 praćene su trudnoće pacijentica, a porođajna težina rođene djece bila je slična između skupina liječenja. Nadalje, profil nuspojava iz skupine „Kongenitalni, obiteljski i genetski poremećaji“ bio je sličan između skupina (53, 56).

Zaključak o sigurnosno profilu folitropina alfa (Bemfola)

Učestalost OHSS-a, prekid terapije zbog OHSS-a i udio pacijentica sa smanjenjem doze zbog rizika „bliskog“ OHSS-a bila su dovoljna objašnjenja od strane podnositelja zahtjeva. U svom odgovoru, podnositelj zahtjeva adekvatno je raspravio o uočenim razlikama u ispitivanjima faze I i faze III. Male razlike u koncentracijama FSH i E2 u skladu su s konceptom biosličnosti uzimajući u obzir širok raspon koncentracija FSH i estradiola i pulsatilno oslobađanje endogenog FSH. Da bi objasnio razliku u incidenciji OHSS-a, podnositelj zahtjeva procijenio je nekoliko parametara. Veći udio AMH razina ≥ 24 pmol / L u osnovnim karakteristikama skupine Bemfola, kao i uočene razlike u smanjenju doze između skupina moglo je doprinijeti ovoj većoj incidenciji OHSS-a na skupini Bemfola. Zaključno, profil štetnih događaja Bemfole usporediv je s Gonal-f (53).

Iz Europske baze podataka s izvješćima o suspektnim nuspojavama (EudraVigilance) može se vidjeti kako je, od početka razdoblja praćenja prijava nuspojava Bemfole, trend prijava sumnji na OHSS u zemljama Europskog ekonomskog područja (eng. European economic area), u koje ne spada RH, još uvijek nizak, što se može objasniti mogućim slabijim korištenjem Bemfole u protokolima stimulacije ovulacije, kao i kraćim razdobljem lijeka na tržištu u odnosu na Gonal-f (Slika 8).



Slika 8 **Trend prijava sumnji na OHSS između Bemfole i Gonala-f unutar EEA.** (Izrađeno prema podacima o prijavama sumnji na OHSS iz baze EudraVigilance, European database of suspected adverse drug reaction reports)

Folitropin alfa (Ovaleap)

U glavnoj studiji treće faze usporedivosti Ovaleapa i Gonala-f procijenjeni su profili sigurnosti i podnošljivosti prijavom TEAE-ova, ispitivanjem imunogeničnosti i fizikalnih nalaza. Razine anti-FSH protutijela procijenjene su u svih randomiziranih pacijentica na početku terapije, na dan vađenja oocita te 3 mjeseca nakon zadnje primjene ispitivanih lijekova, a pritom je potvrđena osjetljivost testa za otkrivanje anti-Ovaleap i anti-Neu5Gc protutijela. Slučajeve OHSS-a ispitivač je klasificirao po težini (blag, umjeren, težak). Pacijentice koje nisu razvile kliničku trudnoću u glavnoj studiji bile su uključene u studiju praćenja, s primarnim ciljem procjene sigurnosti, podnošljivosti i zadovoljstva brizgalicom tijekom dodatna dva ciklusa primjene Ovaleapa. Od uključenih 177 pacijentica, 147 prošlo je drugi, a 61 pacijentica treći ciklus. Pacijentice su evaluirale bol na mjestu injekcije nakon svake primjene skalom od 0-10, te su prijavljivale prisutnost i intenzitet reakcija na mjestu injekcije. Također, ispitano je zadovoljstvo korištenja brizgalica, ocjenjujući 3-stupnjevitom skalom te upitnikom Somkutija i suradnika. Ukupno je 296 ispitanica primilo najmanje 1 dozu Ovaleapa, uključujući i pacijentice studija prve faze.

Ukupna učestalost TEAE-ova u glavnoj studiji bila je niska (47/299, 15.7 %) i usporediva između skupina, s 16.3 % u skupini Ovaleapa prema 15.1 % u skupini Gonala-f. Najčešći događaji bili su OHSS, abdominalna bol i zadržani pobačaj. Nije bilo promjena u drugim fizikalnim i laboratorijskim nalazima. Ozbiljni događaji dogodili su se u 16 pacijentica, a uključivali su OHSS, ektopičnu trudnoću, abdominalnu bol te postporođajno krivarenje. Učestalost TEAE-ova u studiji praćenja bila je niska, s 10.9 % u drugom te 6.6 % u trećem ciklusu, te usporediva u pacijentica prethodno randomiziranih u glavnoj studiji, s 11.3 % u skupini Ovaleapa prema 14.9 % u skupini Gonala-f. Dva su događaja prema ispitivaču smatrana vjerojatno povezana s Ovaleapom, slučaj blagih reakcija na mjestu primjene (eritem, pruritus i hematoma) te slučaj blage abdominalne boli. Također, prijavljena su 3 teška štetna događaja (apendicitis, OHSS, borderline tumor jajnika), od kojih je OHSS procijenjen je kao događaj vjerojatno povezan s ispitivanim lijekom, a drugi događaji kao nepovezan odnosno vjerojatno nepovezan s ispitivanim lijekom. U glavnoj studiji treće faze samo su tri pacijentice (2 u skupini Gonala-f i 1 u skupini Ovaleap) prekinule terapiju zbog AE, što je bilo povezano s OHSS-om.

OHSS je prijavljen u 11 pacijentica, sa 7 slučajeva u skupini Ovaleapa (4.6 %) te 4 (2.7%) u skupini Gonala-f bez statistički značajne razlike ($P = 0.542$). Pet slučajeva je bilo blage prirode, umjerene 4, a teških slučajeva u 1 pacijentice po skupini. Iako nije bilo životno ugrožavajućeg slučaja OHSS-a, vodio je hospitalizaciji u 1 pacijentice po skupini te prekidu terapije u 1 pacijentice u skupini Ovaleap te 2 pacijentice u skupini Gonala-f. Svi su se slučajevi OHSS-a razriješili, osim u jedne pacijentice čija je sudbina nepoznata. Nije nastalo mnogo slučajeva OHSS-a, sa statistički neznačajnom razlikom između skupina, što je usporedivo s ranijim studijama. U studiji praćenja težak OHSS bio je jedini prijavljen slučaj OHSS-a (1/147, 0.7 %), koji je vodio hospitalizaciji pacijentice u drugom ciklusu.

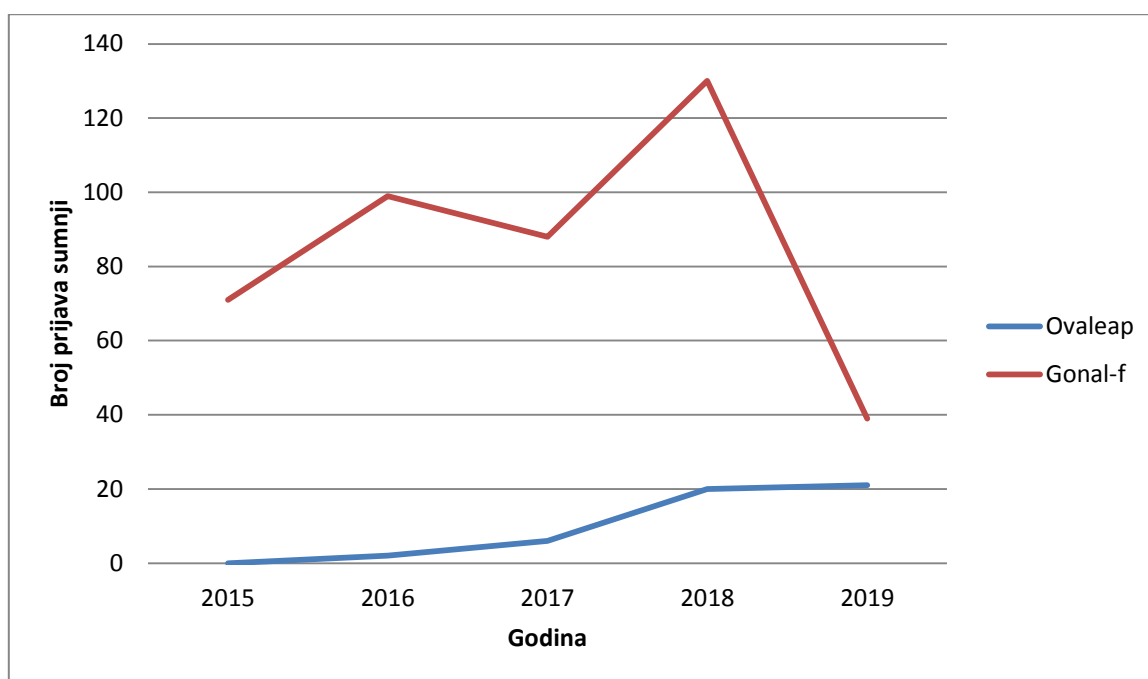
U glavnoj studiji otkrivena su neneutralizirajuća protutijela prema IgA, IgG i IgM razredima, ali nisu bila klinički značajna jer su bila usmjerena na epitope Neu5Gc-R neprisutne glikoproteinima proizvedenim u CHO stanicama. Nije bilo pozitivnih nalaza IgE razreda. Među 22 pacijentice s pozitivnim nalazima, 5 u skupini Gonala-f te 11 s Ovaleapom pokazale su anti-Neu5Gc protutijela, ali bez otkrivene neutralizirajuće aktivnosti. U studiji praćenja otkriveni su pozitivni nalazi protutijela na Ovaleap i Neu5Gc u 6 pacijentica tijekom 2. ciklusa, od kojih su 4 imale postojeća anti-Ovaleap protutijela na Neu5Gc, a druge dvije pacijentice razvile su anti-Neu5Gc protutijela. U uzorcima nije otkrivena neutralizirajuća aktivnost. Međutim, nalazi protutijela nisu bili klinički značajni jer je stopa biokemijske trudnoće bila usporediva između pacijentica s anti-Ovaleap protutijelima, koji su uglavnom bili usmjereni na epitom Neu5Gc, i bez pozitivnog nalaza protutijela. Stoga se može zaključiti da već postojeća anti-Neu5Gc protutijela nemaju učinka na liječenje r-hFSH-om koji sadrži Neu5Gc te da se imunogeničnost Ovaleapa i Gonala-f može smatrati sličnom. Niti jedna pacijentica nije pokazala reakciju preosjetljivosti tijekom studije.

U glavnoj studiji, podnošljivost je bila dobra i usporediva između skupina, s prijavljenom minimalnom boli i intenzitetom reakcija na mjestu primjene. Također, pacijentice su bile izrazito zadovoljne s obama medicinskim uređajima te ih se > 75 % u obje skupine izjasnilo da su vrlo pouzdane u preciznost doziranja, kao i po pitanju primjene i korištenja. Premda je većina pacijentica prethodno koristila Gonal-f, pokazale su usporedivu lakoću korištenja brizdalice Ovaleapa. Podnošljivost je također pokazana dobrom u studiji praćenja, osim u dvije pacijentice koje su pokazale umjerenu podnošljivost. U drugom ciklusu > 80 % pacijentica nisu prijavile reakcije na mjestu primjene nakon prve injekcije. Samo je jedna pacijentica imala teži slučaj modrice prvog dana stimulacije. U trećem ciklusu, u 11 pacijentica prijavljene su blage, u 3 umjerene, a teže reakcije prijavljene su u 7 pacijentica. Slični rezultati po pitanju zadovoljstva pacijentica s brizgalicom Ovaleapa viđeni su u studiji praćenja, s boljim rezultatima u trećem ciklusu jer su se pacijentice bolje upoznale s uređajem daljnjim korištenjem (63, 64).

Zaključak o sigurnosnom profilu folitropina alfa (Ovaleap)

U glavnoj studiji prikazano je kako Ovaleap ima poželjan profil sigurnosti sličan Gonalu-f, bez novih neočekivanih nalaza. Studija praćenja pokazala je klinički neznčajne razlike u rezultatima sigurnosti te nije pokazala nikakve nove ili neočekivane događaje vezane uz sigurnosni profil. Također, slično glavnoj studiji rezultati ispitivanja imunogeničnosti bili su usporedivi s nalazima glavne studije, bez kliničke značajnosti i prisutnosti neutralizirajuće aktivnosti. Na temelju dobivenih kliničkih podataka podnositelja za Ovaleap, zaključeno je kako anti-Neu5Gc protutijela očito ne utječu na Ovaleap u tolikoj mjeri da se PK ili djelotvornost značajno promijene na razini populacije pacijentica. Međutim, ti podaci ne pokazuju nikakav potencijalni učinak na individualnoj razini. Podnositelj zahtjeva opravdao je viši sadržaj Neu5Gc u Ovaleap-u. Niža incidencija OHSS-a u skupini Gonala-f u glavnoj

studiji nije se mogla objasniti usporedivim mjerenim parametrima (ukupna doza r-hFSH, razina E2 u serumu na dan primjene hCG, doza hCG, tjelesna težina i dob), stoga bi uočena razlika mogla biti slučajna nalaz. Veći postotak pacijentica prijavilo je zadovoljstvo korištenja brizgalice Bemfole od prethodnih studija. Rezultati studije podupiru sigurnost i djelotvornost Ovaleapa u stimulaciji ovulacije ukoliko trudnoća nije nastala primjenom Gonala-f te ukazuju kako je primjena Ovaleapa kroz tri ciklusa sigurna i dobro podnošljiva (54, 63, 64). Po pitanju prijava sumnji na OHSS pri primjeni Ovaleapa, može se vidjeti slična krivulja trenda prijava kao kod Bemfole. Trend prijava je još uvijek nizak, što se može objasniti mogućim slabijim korištenjem Ovaleapa u protokolima stimulacije ovulacije, kao i kraćim razdobljem lijeka na tržištu u odnosu na Gonal-f (Slika 9).



Slika 9 Trend prijava sumnji na OHSS između Ovaleapa i Gonala-f unutar EEA. (Izrađeno prema podacima o prijavama sumnji na OHSS iz baze EudraVigilance, European database of suspected adverse drug reaction reports)

5.3. Zaključak o statusu biosimilara folitropina α

Premda je proizvođač naveo kako brizgalica Bemfole pruža mogućnost fine prilagodbe doze s prirastom od 12.5 IU, EMA smatra kako je povećanje doze nezgodno s jednokratnom primjenom injekcije Bemfole. U tom slučaju pacijentica će trebati iskoristiti novu injekciju veće doze, zbog čega se neće moći iskoristiti čitava doza, za razliku od od brizgalice Gonala-f s mogućnosti višestruke primjene unutar 28 dana nakon otvaranja proizvoda. Osim toga, navode kako nemogućnost prilagodbe doze FSH u studiji FIN3001 nije u skladu s kliničkom praksom te Smjernicama o lijekovima s FSH (EMA/CHMP/BMWP/671292/2010) i nacrtom Znanstvenog savjeta kojeg je primio podnositelj zahtjeva. Nepouzdanosti oko problematike OHSS-a, objašnjene u prethodnom odlomku, ticale su se fiksnog režima doze FSH. Prilagodba doze jedino mogla biti moguća u slučaju „bliskog“ OHSS-a, što je moglo dovesti do prekasne prilagodbe doze, rezultirajući s ukupno većom incidencijom OHSS-a u FIN3001 studiji. Profil slične kvalitete dobiven je za Bemfola i Gonal-f. Neklinički podaci i klinička farmakokinetika Bemfole podržavaju biološku sličnost s Gonalom-f. U ispitivanju faze III dobivena je ekvivalentnost za primarni ishod, a za sekundarne ishode primijećena je samo veća učestalost OHSS-a kojoj su mogle pridonijeti neravnoteža u razini AMH i razlike u smanjenju doze između skupina. U siječnju 2014. godine EMA je izdala pozitivno mišljenje o lijeku Bemfola kao biosimilaru Gonala-f, jer je u skladu sa zahtjevima EK-e za bioslične lijekove pokazao usporedive profile kvalitete, kliničke učinkovitosti i sigurnosti prema referentnom lijeku, EK je centraliziranim postupkom u ožujku iste godine izdala odobrenje, inicijalnom podnositelju zahtjeva (Finox Biotech AG), za stavljanje u promet. Bemfola je odobren za korištenje u svim indikacijama te režimu doziranja kao GONAL-f (53). Preuzimanjem tvrtke Finox Biotech AG, farmaceutska kompanija Gedeon Richter Plc. postala je trenutnim proizvođačem i nositeljem odobrenja ovog lijeka.

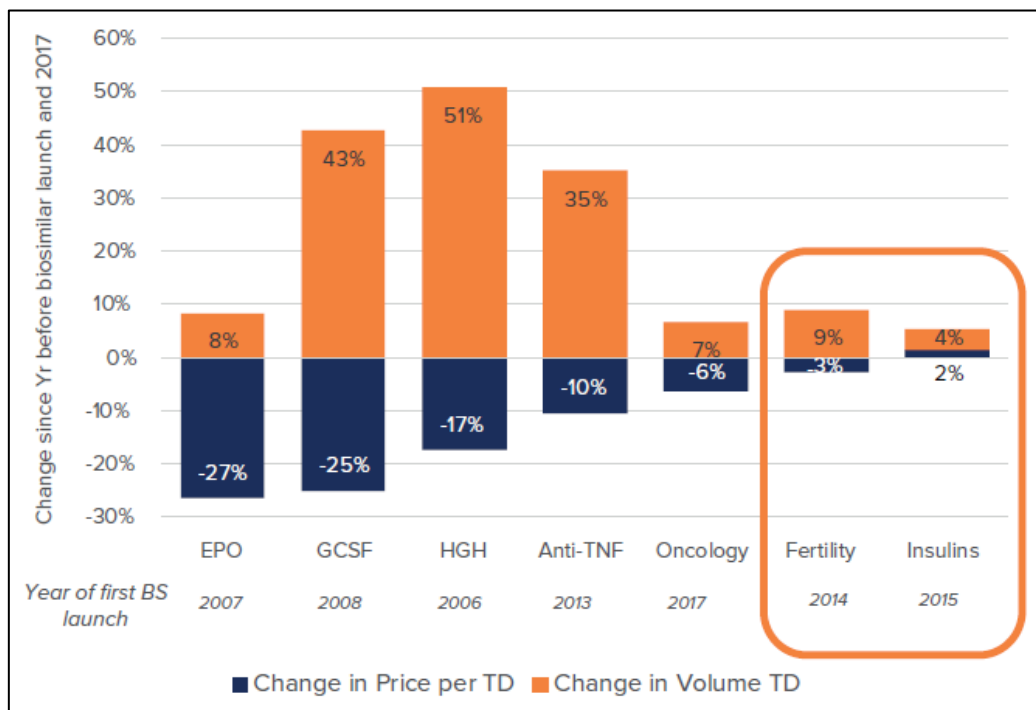
Studija treće faze pokazala je kako je Ovaleap usporediv referentu s prosječnim brojem prikupljenih oocita 12.2 prema 12.0 u Gonal-f skupini., s dopuštenim rasponom ekvivalencije ± 3 oocite. Stopa trudnoće, kao sekundarni endpoint, u specifičnoj skupini normorespondera uključenih, bio je 33.6 % za originator i 27.5 % biosimilar. Sigurnost kao endpoint ticao se OHSSa, rezultirao je 2.7% u Gonal-f skupini i 4.6 % u ovaleapu. Temeljeno na kemijsko-farmaceutskim osnovama, dovoljno je pokazano kako je Ovaleap proizvod bioekvivalentan referentnom lijeku Gonal-f. Zbog mogućeg potencijalno povećanog rizika imunogeničnosti Ovaleapa, kao posljedice prisutnosti višeg sadržaja vrste sijalne kiseline Neu5Gc koja nije prisutna u ljudi, ponovna analiza uzoraka studije treće faze potvrdila je kako je rizika imunološkog odgovora zanemariv. Stoga se imunogeničnost Ovaleapa i Gonala-f može smatrati sličnom. Pošto je Teva Pharma B.V. (Nizozemska) dobila preporuku EMA-e 31. srpnja 2013. godine po pitanju Ovaleapa, koji je pokazao usporedivu sigurnost i učinkovitost prema Gonal-f odnosno prihvatljiv rizik koristi i rizika, Europska joj je komisija centraliziranim putem 27. rujna 2013. godine izdala odobrenje za stavljanje u promet, čime je Teva Pharma B.V. postala nositeljem odobrenja za Ovaleap (54).

6. FARMAKOEKONOMSKI ASPEKTI BIOSIMILARA FSH

Predviđa se kako će potencijalno tržište za biosimilare postupno rasti. Trenutno je prodaja bioloških lijekova procijenjena na više od 30 milijardi USD u SAD-u i 60 milijardi USD u Europi (65). Globalno tržište bioloških lijekova koncem 2020. godine, prema procjenama, premašit će potrošnju od 390 milijardi USD, dok će tržište 5 europskih vodećih potrošača (Francuska, Španjolska, Njemačka, Italija i Ujedinjeno kraljevstvo) premašiti iznos kumulativne potrošnje od 47 milijardi EUR, u razdoblju od 2016.-2020. godine (66). Proizvodnja i prodaja biosimilara mogli bi voditi sniženju cijene terapija s posljedičnim uštedama većim od 1,6 milijardi EUR u Europi, a prema grubim procjenama, prelaskom na biosimilare, zbog niže cijene proizvodnje, mogla bi se ostvariti potencijalna ušteda unutar 5 glavnih zdravstvenih sustava Europske unije i SAD-a od 100 milijardi EUR (66, 67). Biosimilari stoga omogućuju, nadmetanjem s originalnim biološkim lijekovima, širi terapijski izbor svim dionicima (liječnicima, pacijentima te osiguravateljima) na rastućem broju terapijskih područja po nižoj cijeni.

Pozicioniranost na tržištu

Prihvatanje biosimilara varira među skupinama u Europi, a vrijeme postojanja na tržištu ne određuje uvijek uspjeh. Biosimilari folitropina alfa imali su manji utjecaj na cijenu i obujam korištenja u Europi (Slika 10).



Slika 10 Promjena u cijeni i obujmu terapijskih dana (TD) ukupnog tržišta između godine prije izlaska biosimilara i 2017. godine u Europi. (Preuzeto iz [68.]).

U radoblju od prethodne analize iz 2016. godine, viđen je mali utjecaj, sa sniženjem cijena na ukupnom tržištu s -1 % (2016.) na -3% (2018.), te povećanjem obujma na ukupnom tržištu s 6 % (2016.) na 9 % (2018.). Na tim tržištima, prije ulaska biosimilara na tržište, već je postojala vrlo konkurentna situacija na tržištu za postojeće proizvode. To daje manje poticaja za liječnike da prijeđu na korištenje biosimilara, što može rezultirati nižom uporabom biosimilara. U posljednjoj se studiji istraživanja tržišta, cijene po danu terapije za biosimilare folitropina alfa, u pogledu ukupnog tržišta (dostupni i nedostupnih proizvoda), značajno razlikuju na europskim tržištima, u rasponu od (-49%) do 27% (66, 68).

Kawalec i sur. proveli su multinacionalnu studiju u svrhu pregleda zahtjeva za donošenje odluka o nadoknadi cijene biosimilara u zemljama srednje i istočne Europe, kao zemljama s niskim dohotkom gdje visoka cijena originalnih lijekova ograničava pristup terapiji. Također su procijenjene razlike u tržišnom udjelu i troškovima nadoknade biosimilara među navedenim zemljama. Studijom je pokazana različita razina nadoknade cijene folitropina alfa u ispitivanim zemljama, s tim da se dotični preparati u RH nalaze na osnovnoj listi lijekova sa 100 %-nom pokrivenošću od strane HZZO-a, dok se primjerice u susjednoj Mađarskoj folitropin alfa nadoknađuje s tek 25 % cijene, što stvara udarac na pacijente te nemogućnost iskorištavanja potencijala terapije. Viđeno je kako u 2014. godini u ovim zemljama nije zabilježena nadoknada cijene biosimilara folitropina alfa, s nepostojanjem troškova nadoknade, što može ukazati da u tim zemljama nisu bili dostupni. Međutim, 2015. godine zabilježen je tada najniži trošak nadnade upravo za folitropin alfa u iznosu od 0,5 milijuna EUR. U Hrvatskoj su biosimilari udjelom u izdatcima za nadoknadu sudjelovali s tek 0.1-0.3 %, čime među navedenim zemljama najmanje izdvajamo sredstva za nadoknadu bioloških i/ili biosličnih lijekova iz proračuna za lijekove i zdravstvo. Iako je studija pokazala kako su biosimilari unutar tržišta ispitivanih zemalja utjecali na sustave naknade cijena, u pogledu folitropina alfa viđeni su niski izdatci, što bi se moglo protumačiti kratkim vremenom postojanja biosimilara folitropina alfa na tržištu (69).

U analizi Voglera i sur. o razlikama u cjenovnim politikama za generike i biosimilare između 25 europskih država, ustanovljena je općenito niža razlika u cijeni biosimilara i njegovog referentnog lijeka nego odnosa generika i referenta, a u Hrvatskoj se ta razlika kreće od 15 % za biosimilare te 30 % za generike (70).

U Europi ne postoji jedinstven pristup nadoknade cijene (engl. reimbursemnt decision) te se određivanje cijena i opseg smanjenja cijena biosimilara mogu značajno razlikovati među zemljama. Cijene biosimilara u Hrvatskoj nisu regulirane postupkom nadmetanja cijena kao u drugim državama Europe, ali pri ulasku biosimilara na tržište ostvaruje specifično sniženje cijene za 15 % tvorničke cijene originalnog proizvoda. Također, u našoj zemlji postupak određivanja cijena i naknada za biosimilare ponekad zahtijevaju analize troška i probitaka (engl. cost-utility analysis, CUA) ili troška i učinkovitosti (engl. cost-effectiveness analysis, CEA) (69).

Isplativost

U svrhu alokacije sredstava za primjenu novih tehnologija, među kojima je i primjena novih lijekova, farmakoekonomske procjene postale su važan instrument oblikovanja zdravstvene politike i zdravstvenog proračuna za postizanje zadanih ciljeva, kao pomoć osiguravateljima i drugim dionicima sustava, među njima i farmaceutskoj industriji. Farmakoekonomika kao disciplina zdravstvene ekonomike identificira, mjeri i uspoređuje troškove te ishode (posljedice) primjene farmaceutika i zdravstvenih intervencija, a među mnoštvom analitičkih tehnika, analiza troška i učinkovitosti (cost-effectiveness analysis, CEA) kao najčešće primjenjivana, posebno omogućuje potpunu farmakoekonomsku procjenu, kojom uspoređujemo troškove dvaju ili više zdravstvenih intervencija koje imaju isti ili sličan klinički ishod. Ulaskom biosimilara na tržište pojavila se potreba izvedbe analize isplativosti s potencijalnim odgovorom na pitanje donosi li terapija biosimilarima stvarnu uštedu zdravstvenim sustavima. Izračun inkrementnog (rastućeg) omjera troška i učinkovitosti (ICER) liječenja označuje dio analize isplativosti koji kaže koliko treba dodatno platiti ili investirati za određenu dobit dobivenom novim lijekom ili drugom zdravstvenom intervencijom. Također, njim uspoređujemo dosadašnji i novi modalitet liječenja te troškove koji nastaju novom zdravstvenom intervencijom odnosno određujemo vrijednost boljeg učinka nove intervencije, a rezultat analize pomaže nam pri donošenju odluke je li nova zdravstvena intervencija prihvatljiva za određeni ograničeni proračun. ICER možemo rabiti kao osnovu za rangiranje zdravstvenih intervencija i lijekova te predstavlja objektivni pokazatelj, što olakšava donošenje odluka o intervencijama koje je moguće prihvatiti u nekom društvu (71).

Trenutno je dostupno nekoliko objavljenih analiza na temelju kojih možemo zaključivati o ovoj problematici, a rezultati spomenuti u daljnjem tekstu izvučeni su iz studija Gizzoa i sur. te Grynberga i sur., provedenih u kontekstu tržišta vodećih europskih potrošača biosimilara folitropina α . Klinički podatci na kojima su ustrojene prethodno spomenute analize isplativosti izvučeni su iz randomiziranih kliničkih studija Rettenbachera i suradnika te Strowitzkog i suradnika, opisane u prethodnom poglavlju.

Kada govorimo o učinku kojeg analiziramo u međuočnu s troškovima, često se kao cilj intervencija računaju dobivene godine života ili preživljenje kao jedinice učinkovitosti. Međutim, gonadotropinska terapija unutar područja humane reprodukcije ima druge specifične ciljeve koje označavamo kao ishodi (*endpoint*) kliničkih studija gonadotropina, primjerice broj dobivenih oocita, stopa kliničke trudnoće ili broj živorođene djece kao parametri kliničke učinkovitosti. Dakle, analizu troška i učinkovitosti stoga rabimo jer je osnovni cilj uvođenja novih terapijskih opcija unutar polja humane reprodukcije – kvalitetniji, uspješniji protokoli MPO-e u svrhu postizanja veće stope živorođene djece.

U prikazanim analizama promatrano je nekoliko ekonomskih faktora (Tablica 6), te uključuju ukupni trošak po pacijentici, učinak gonadotropinske terapije te njihovi inkrementni porasti koji su uključeni u izračun ICER-a (omjer inkrementnih porasta troška i učinkovitosti). Zaključno, gledao se ukupni trošak po rođenju djeteta. U analizi Gizzo i sur. u kontekstu Italije i Španjolske, pri usporedbi Bemfola-e prema Gonalu-f, svi su troškovi obuhvaćeni DRG 359 (diagnosis-related group) tarifom koja pokriva sve postupke MPO-e, izuzeviši cijenu gonadotropinskih lijekova (umnožak jedinične cijene i srednje ukupne doze), preglede praćenja (krvni test za B-hCG) i troškove liječenja štetnih događaja (OHSS), čije su cijene posebno navedene. Trošak folitropina alfa izračunat optimalnom kombinacijom doza koja bi pokrila minimalno srednju ukupnu dozu po pacijentici, a višak folitropina smatrao se otpadom (gubitkom). U analizi Grynberga i sur., u kontekstu Francuske, sve si troškovi također izračunati prema tarifi zdravstvenog osiguranja (72, 73, 74).

Skupine autora predvođene Gizzom provele su dvije studije isplativosti, ispitujući pritom isplativost odobrenih biosimilara folitropina alfa, Bemfola-e i Ovaleap-a, prema referentnom lijeku Gonal-f, na tržištima Italije, Španjolske te prošireno na njemačko tržište u slučaju procjene Ovaleap-a. Obje su studije pokazale da se terapija biosimilarima, usprkos nižoj tržišnoj cijeni te vrijednosti ICER-a koja im ide u prilog, prema autorima nije pokazala isplativijom u postizanju željenog cilja MPO-e odnosno broja živorođene djece. Premda je ICER predvidio terapiju Gonal-f skupljom prema Bemfola-i, što je u Italiji značilo 3600 € te 900 € u Španjolskoj, prosječni ukupni troškovi po rođenju bili su niži za terapiju Gonal-f, u Italiji 367 € i 1211 € u Španjolskoj. Vrijednosti ICER-a folitropina alfa (Gonal-f) bile su 2917 € u Njemačkoj, 2623 € u Italiji te 415 € u Španjolskoj, ali je iznjedrio ukupne troškove za 1-2 tisuće € niže od terapije folitropin alfa (Ovaleap). Dakle, prema autorima nije postignuta očekivana ušteda predviđena nižom prodajnom cijenom biosimilara (72, 73).

Tablica 6 **Analize isplativosti GONAL-f prema njegovim biosimilarnim preparatima u kontekstu tržišta Italije, Španjolske, Njemačke, Francuske.** (Navedeni podatci izvučeni iz referentnih studija analiza troška i učinkovitosti).

Država/Strategija	Trošak po pacijentici (€)	Inkrementni trošak (€)	Učinak	Inkrementni učinak	ICER (€)	Trošak po rođenju (€)
Gizzo, Garcia-Velasco, Heiman i sur.						
<i>Italija</i>						
Bemfola	3,483	-	0.47	-	-	7,411
Gonal-f	3,663	180	0.52	0.05	3,600	7,044
<i>Španjolska</i>						
Bemfola	6,342	-	0.47	-	-	13,494
Gonal-f	6,387	45	0.52	0.05	900	12,283
Gizzo, Ferrando, Lispi i sur.						
<i>Njemačka</i>						
Ovaleap	2,461.43	-	0.268	-	-	9,185.34
Gonal-f	2,618.81	157.38	0.322	0.054	2,917.47	8,135.04
<i>Italija</i>						
Ovaleap	2,609.36	-	0.268	-	-	9,737.37
Gonal-f	2,750.86	141.50	0.322	0.054	2,623.09	8,545.22
<i>Španjolska</i>						
Ovaleap	4,761.14	-	0.268	-	-	17,767.19
Gonal-f	4,783.55	22.41	0.322	0.054	415.43	14,859.53
Grynberg, Murphy, Dore i sur.						
<i>Francuska</i>						
<i>Gonal-f vs Ovaleap</i>						
Ovaleap	3,566.71	-	0.27	-	-	1,522.53
Gonal-f	3,825.90	259.17	0.32	0.05	4,804.41	1,866.82
<i>Gonal-f vs Bemfola</i>						
Bemfola	3,842.74	-	0.32	-	-	1,857.76
Gonal-f	4,121.81	279.07	0.40	0.08	3,274.80	2,367.76
<i>Gonal-f vs Biosimilari („pooled“ analiza)</i>						
BioS	3,701.94	-	0.30	-	-	1,718.15
Gonal-f	3,961.50	259.56	0.36	0.06	4,352.17	2,095.56

Lass i Montgomery uputili su komentar na stadiju Gizzo i sur. o isplativosti Ovaleapa u odnosu na Gonal-f u pogledu broja živorođene djece u Njemačkoj, Italiji i Španjolskoj. Stvarna isplativost terapije neplodnosti, posebno gledajući trošak po rođenju je značajan čimbenik za zdravstveni sustav, posebno osiguravatelje, te se model analize treba temeljiti na snažnim i prikladnim analizama podataka. Oni navode kako kliničke studije koje istražuju neplodnost često ne izvještavaju o bitnim interesima za pacijente, liječnike i društvo, kao što su rođenje ili štetnim događajima (poput maternalnih rizik tijekom trudnoće ili fetalnih anomalija) (75). Prema CONSORT konferenciji (Consolidated Standards of Reporting Trials) iz 2013. godine, preporuka je da se promijeni primarni ishod studija neplodnosti bude stopa rađanja, stoga autori tvrde kako se ova preporuka treba primjetniti na registracijske studije novih lijekova, u kojima je prema EMA-i trenutno prihvaćen broj oocita kao primarni ishod (75, 76).

Također, prema autorima je prikaz Gizzo i sur. o razlikama isplativosti temeljenih isključivo na podacima prikazanim u studiji Strowitzkog i sur. nije znanstveno snažno te je potencijalno obmanjujuće jer prikriva problem slabe analize i nedostatka statističke značajnosti koji su ključni za pravilnu interpretaciju podataka. Naime, iako je u studiji prikazana ekvivalenost u pogledu broja dobivenih oocita, nije bila ustrojena da istraži razlike u kliničkim trudnoćama ili stopi rađanja odnosno razlika je bila statistički neznčajna s OR 0.78 (95 % CI = 0.47-1.29). Svaka se razlika tako ne može pripisati ničemu osim slučajnoj pojavnosti, posebno u takvoj maloj studiji u kojoj je postojala velika varijabilnost stope kliničke trudnoće između centara istraživanja, a koja bi se trebala evaluirati velikih, snažnim ispitivanjima ishoda živog rođenja (75).

Kako je studija Strowickog i sur. dizajnirana kao regulatorna studija za odobrenje izlaska lijeka na tržište, možemo pretpostaviti da podržava kliničku uporabu te da je adekvatno dizajnirana za izračun kliničko-ekonomskih ishoda. Kada bi se odbila ova tvrdnja, preporuka biosimilara u terapiji neplodnosti postati mogla bi postati upitna kao i korisnost regulatornih studija u procjeni stope živog rođenja jer broj dobivenih oocita samostano nije prikladan indikator učinkovitosti za postizanje rođenja. Nadalje, usporedbom ishoda dostupnih studija može se procijeniti jesu li podatci o kliničkoj trudnoći i rođenjima rezultat slučajnosti ili terapijskog učinka. Tri objavljena istraživanja (Strowicki, Rettenbacher i Woltz) pokazale su kako stope trudnoće i živog rođenja veće na terapiji Gonalem-f, te je skupna analiza podataka (*pooled analysis*; Papsch) ovih istraživanja pokazala kako je profil koristi i rizika (benefit-risk profile) za LBR, OPR i OHSS ide također u korist Gonala-f (55, 56, 63, 77).

Druga navedena ograničenja ovih analiza i istraživanja, po pitanju statističkih analiza, mogu se pronaći detaljnije obrađena u spomentim publikacijama.

Bez obzira na rezultate ICER analize, u odluci o alociranju ograničenih sredstava osiguravajućih tijela, koristi se, u kombinaciji s ICER-om, prag spremnosti za plaćanje (*willingness-to-pay*). Ono omogućuje isključivanje terapijskih opcija za koje se pokaže da nisu isplative prema predoređenim pragovima spremnosti za plaćanje, prema kojem se bira isplativija terapijska opcija. Primjerice, u analizi Ovalepa-a, vjerojatno isplativija bi opcija u Italiji bio Gonale-f ukoliko bi prag bio veći od 3600 € odnosno ukoliko bi dionici bili spremni platiti iznos ICER-a ili veći za jedno dodatno rođeno dijete, dok bi u Španjolskoj bio iznad 900 €, s potencijalno isplativijom Bemfola-om kod praga ispod tih iznosa. Međutim, još nisu određeni takvi pragovi u kontekstu reproduktivnih terapijskih opcija u državnom ili međunarodnom pogledu (72, 73, 74).

Strategija ograničavanja troškova

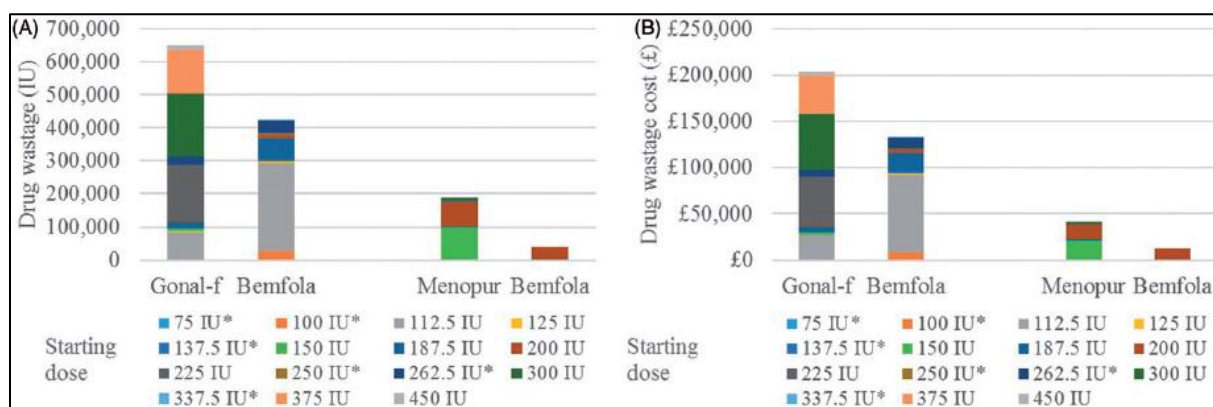
Jedna od glavnih razlika između FSH proizvoda je vrsta uređaja za isporuku. Bemfola je dostupan u obliku prilagodljivih, jednokratnih brizgalica s dozama od 75 IU, 150 IU, 225 IU, 300 IU ili 450 IU folitropina alfa. Suprotno, Gonale-f se isporučuje u bočicama s dozom od 75 IU ili kao brizgalica s

višestrukim dozama, a Menopur također u bočicama s 75 IU ili u bočicama za višestruko doziranje s dozama od 600 ili 1200 IU folitropina alfa. Bemfola se daje kao sredstvo za jednokratnu upotrebu, što omogućuje u većini ciklusa isporuku točne doze koja bi se mogla potencijalno smanjiti rasipanje doze (78).

Prema terapijskim smjernicama Nacionalnog instituta zdravlja i skrbi UK-a (NICE), odluka o izboru FSH preparata ostavljena je na slobodu liječnika, a u praksi liječnici svoj izbor temelje primarno na klinčkim značajkama pacijentice poput ovarijska rezerva te vlastitom iskustvu (30). Međutim, ohrabreni su razmotriti dodatne čimbenike poput vrste uređaja za isporuku, troška i želja pacijentica. Prethodne studije preferencija pacijentica pokazale su kako su uređaji isporuke sučelje pacijentica s lijekom s utjecajem na doživljaj lijeka i očekivanja, te je brizgalica Bemfole nadvladao uređaj Gonala-f (79, 80).

Studije procjene troškova terapije često uključuju samo troškove nabave lijeka. Međutim, troškovi nastali rasipanjem (gubitkom) doze lijeka također mogu imati utjecaj na ukupni trošak jer se tijekom terapije ne potroši svaka IU doze (81). Procjenjuje se kako se u Engleskoj godišnje izgubi 300 milijuna funti zbog neiskorištavanja propisanih lijekova, te se time uzrokuje financijski teret na pacijente i zdravstveni sustav. Smanjenje rezidualnog sadržaja lijekova može biti učinkovita strategija ograničavanja troškova (*cost-containment strategy*) (82).

Studija Foxona i suradnika imala je dva cilja, izmjeriti rasipanje doze FSH-a preparata (Gonala-f ili Menopura) i povezane troškove tijekom terapijskih ciklusa unutar 1 godine u UK-u u 5 klinika za neplodnost, te odrediti hoće li promjena uređaja isporuke, Bemfole kao biosimilara s inovativnim uređajem isporuke, potencijalno smanjiti rasipanje doze i time ostvariti smanjenje troškova (Slika 11). Ovo je prva studija koja je istraživala direktne troškove rasipanja doze FSH.



Slika 11 Učestalost propisanih početnih doza i trošak nastao rasipanjem (gubitkom) doze. (Preuzeto iz [78].)

Na temelju kliničkih podataka, izračunato je stvarno rasipanje Gonala-f i Menopura, što je za Gonala-f iznosilo gubitak doze od 650,775 IU kroz 4078 ciklusa odnosno 5.7 % od ukupne propisane doze

(11,343,600 IU), dok je isti iznos za Menopur iznosio 190,163 IU kroz 646 ciklusa što znači 11.6 % ukupno propisane doze (1,633,800 IU). Dakle, kroz 4724 ciklusa izgubljeno je 840,938 IU doze.

Izračunati potencijalni gubitci doze nastali korištenjem Bemfole umjesto Gonala-f odnosno Menopura, na temelju istih kliničkih podataka, iznosili bi 424,800 IU (3.8 % ukupne doze od 11,117,65 IU) umjesto Gonal-f te 39,338 IU (2.7 % ukupne doze od 1,482,975 IU). Zamjena bi propisanog preparata FSH Bemfolom rezultirala ukupnim gubitkom doze od 464,138 IU što bi značilo potencijalno smanjenje rasipanja doze za 45 % (-376,800 IU) kroz 4724 terapijska ciklusa.

Na temelju iznosa potencijalne redukcije rasipanja doze, autori su izračunali potencijalno smanjenje troškova nastalo korištenjem Bemfole. Naime, trošak rasipanja doze tijekom terapije Gonalom-f i Menopurom, kroz 4724 ciklusa, iznosio je 245,440 funti, dok bi trošak rasipanja doze Bemfole iznosio 145,429 funti. Ukupno bi dakle, nastalo sniženje troškova povezano sa smanjenjem rasipanja doze u iznosu od 100,011 funti što je sniženje troškova za 41 %.

Korištenje postojećih uređaja s višestrukim dozama (koji sadržavaju Gonal-f ili Menopur) rezultirao je s približno 6 % neiskorištenog FSH. Ovakvi uređaji mogu u konačnici rezultirati gubitkom doze ovisno o propisanoj dnevnoj dozi i dužini terapije. U ovoj studiji, najčešće propisane početne doze Gonala-f bile su 150, 225, i 300 IU koje su činile 60 % doza terapija, a ciklusi su trajali u prosjeku 9-12 dana.

Osim da je trajanje ciklusa te kombinacija i broj višedoznih uređaja precizno predviđeno na početku terapije, vrlo je vjerojatno da će nekoliko ciklusa rezultirati rasipanjem doze. Korištenje jednokratnih brizgalica, koje su napunjene dozama najčešće propisivanima u ovoj studiji, ne bi rezultiralo nikakvim rasipanjem pod uvjetom da se doze FSH-a ne podešavaju nakon početka postupka ovarijske stimulacije, što predstavlja određeni logistički izazov (78).

7. ZAKLJUČAK

Potvrda biosličnosti je rezultat usporednih ispitivanja kroz 6-12 godina, koje uključuju usporedne studije kvalitete, pretkliničke (nekliničke) te kliničke studije, koje kao krajnje postaje trebaju isključiti postojanost značajnih razlika biosimilara i referentnog lijeka. Kemijski sintetizirana djelatna tvar može biti gotovo identično replicirana, što nije moguće u slučaju biološkog lijeka prema čemu ono nije generik. Stoga standardni pristup razvoja generika nije primjenjiv na biosimilarne kandidate.

Kako bi se ispitale potencijalno zanemarive razlike između biosimilara i referentnog lijeka, potrebno je primijeniti najosjetljiviju i opsežnu analizu. Šanse za otkrivanje manjih molekularnih razlika povećavaju se korištenjem visokoosjetljivih suvremenih analitičkih postupaka fizikalno-kemijske i biološke aktivnosti čije su se osjetljivosti eksponencijalno povećala u posljednjih 10 godina. Prema tome, modul koji se odnosi na svojstva kvalitete (karakterizacija strukturne i biološke aktivnosti) znatno je opsežnija za biosimilare nego za originalne proizvode. Ako procjena usporedivosti kvalitete ne otkrije značajno odstupanje između originatora i biosimilara, nije vjerojatno da će naknadna ispitivanja Faze III otkriti bilo koju razliku unutar raspona varijabilnosti između pacijenata. Ipak, na temelju stroge Pristupa EMA-e u prema „Totalnosti dokaza“, potvrđne kliničke studije kod pacijenata obično su potrebne za snižavanje potencijalnog preostalog rizika (8). Nekliničke i bioekvivalentne studije, komparativne prirode također su potrebne. Konačno, aktivni plan tržišnog nadzora poslije uvođenja lijeka na tržište (farmakovigilancija) također mora biti predstavljeni za odobrenje.

Autori Orvieto i Seifer (2016.) nedavno su doveli u pitanje klinička ispitivanja usporedivosti biosimilara i referentnog lijeka koji sadržavaju FSH. Tvrdili su da su ispitivane indikacije bile nedovoljne, te su izrazili sumnju u izbor primarnog promatranog ishoda i zabrinutost o utjecaju manjih fizikalno-kemijskih razlika. Njihova primjedba bila je kako su ishod kliničkih studija otkriveni u skupini „idealnih“ pacijentica, mladih, normorespondera s najboljom prognozom. Tvrdi kako su potrebne daljnje usporedne studije u drugim populacijama pacijentica viđene u kliničkoj praksi, odnosno starijih, slabih respondera, pacijentica s recidivima neuspjeha IVF te u hiperrespondera, poput onih pacijentica s PCOS-om prije opće implementacije biosimilara u kliničku praksu. Također, navode kako je potrebno Steelman-Pohley test za mjerenje biološke aktivnosti trebalo zamijeniti određivanjem krivulja doza-odgovor u dobro karakteriziranim populacijama pacijentica za dobro definirane ishode tijekom KOH u sklopu MPO-e (3).

Međutim, prema de Mori oni nisu uzeli u obzir da čak i dvije uzastopne serije bilo kojeg originatora nikada nisu identične. Nadalje, u kontekstu varijabilnosti između pacijenata, izvođenje ispitivanja usporedivosti u dodatnim indikacijama ne bi dalo nikakav daljnji uvid u sličnost oba proizvoda, za razliku od osjetljivije usporedbe fizikalno-kemijskih svojstava (83).

Studije biosimilara dizajnirane su prema ispitivanom lijeku, uz razumijevanje da cilj nije pokazati sigurnost i učinkovitost kao takvu, nego prije potvrditi već pokazanu sličnost. Dakle, dizajn programa kliničkog razvoja biosličnih kandidata ne treba nužno oponašati onaj originatora. Usporediva učinkovitost bi se trebala pokazati korištenjem primarnog ishoda koji je rezultat farmakološkog djelovanja lijeka da se odbace razlike koje se ne mogu pripisati proizvodu. Broj dobivenih oocita ističe se kao najosjetljiviji ishod za preciznu usporedbu učinkovitosti proizvoda. Suprotno, stopa „trudnoće u tijeku“ (engl. „on going“ pregnancy rate) je često pod utjecajem raznih faktora zabune koji nisu povezani s djelovanjem FSH, zbog čega bi ju trebalo koristiti kao sekundarno promatran ishod učinkovitosti. Specifične studije potrebne za prikaz usporedivosti biosimilarnog kandidata prema referentnom proizvodu mogu varirati između slučajeva. Različiti biotehnološki lijekovi razlikuju se u svojoj molekularnoj masi te u funkcionalnoj i strukturalnoj složenosti. Također, dizajn studija uvjetuju i terapijski režim, indikacije, varijabilnost ishoda te očekivan profil učinkovitosti prema sigurnosti, primjerice broj pacijenata potreban za usporedne kliničke studije.

Folitropin je temeljito ispitan protein korišten u kratkotrajnoj terapiji te ima dobro definirane farmakološke učinke u žena što je stimulacija razvoja folikula jajnika, a učinkovitost je u korelaciji s ovim učinkom. Bez obzira na poteškoće povezane s razvojem lijekova, molekularni, farmakološki i terapijski profil folitropina omogućuje prilično izravan razvoj biosličnih kandidata. To se odražava u smjernicama EMA-e u kojima se utvrđuju neklinički i klinički zahtjevi za lijekove koji sadrže r-hFSH za koje se tvrdi da su slični onim preparatima koji se već prodaju.

Prvi biosimilar Gonala-f koji je odobren za korištenje u Europi bio je Ovaleap, dok je drugi slijedio Bemfola. Njihova proizvodnja, karakterizacija i profil nečistoća te stabilnost su u skladu s standardima EMA-e za biotehnološke proizvode. Prikaz sličnosti temeljio se u slučaju obaju FSH biosimilara na iscrpnom, osjetljivoj molekularnoj usporedbi kako bi se utvrdila preklapajuća fizikalno-kemijska istovjetnost temeljnih svojstava.

Spojevi nastali kemijskom degradacijom bili su ekvivalentni u obama lijekovima te nije utvrđena zabrinutost formiranja agregata ili fragmenata aktivne tvari. Ne očekuje se kako će svojstva kvalitete biti identična između biosimilara i referentnog lijeka sve dok su temeljna svojstva očuvana, što je u skladu s principom biosličnosti. Značajno je kako ključna varijabilnost u posttranslacijskim modifikacijama, postojana i među serijama referentnog lijeka može biti prihvatljiva.

Bemfola i Gonal-f u suštini dijele monosaharidni profil te sadržaj sijalične kiseline. Slične glikanske strukture pronađene su za alfa lanac, dok su utvrđene razlike u beta lancu prema ispitivačima ocijenjene kao minorne koje su bile u skladu s principom biosličnosti temeljeno inherentnom varijabilnošću između serija pojedinog proizvoda. Poneke su uočene varijacije također manje on dopuštenih za folitropin u monografiji Europske Farmakopeje. Što se tiče Ovaleapa, prisutnost većeg udjela vrste sijalične kiseline Neu5Gc smatrana je prihvatljivom te je dovoljno opravdana. U skladu s

tim, takve male razlike bilo kojeg biosimilara u usporedbi s Gonalom-f nisu imale utjecaja na biološku aktivnost pri usporedbi u in vitro ili in vivo ispitivanjima, kao što ni farmakokinetičke ili toksikološke ispitivanja u štakora nisu otkrile značajne razlike.

Nadalje, relativna PK svojstva između biosličkih kandidata i referentnog proizvoda također su klinički određena u ispitivanjima faze I na zdravim dobrovoljnim ženama, čime je zaključena je bioekvivalencija PK. Isto tako, farmakodinamički parametri procijenjeni su tijekom ispitivanja faze III naprijed kao dodatna mjera uporedive učinkovitosti. Kao što se očekivalo, potvrđena je usporedivost između oba proizvoda (Rettenbacher i sur., 2015; Strowitzki i sur., 2016). Terapijska ekvivalentnost za primarni ishod, što je broj dobivenih oocita i za ostale relevantne sekundarne ishode dosljedno je utvrđena, kao što je prikazan usporediv profil štetnih događaja. Stoga je, prema principu „Sveukupnosti dokaza“ (eng. „Totality of the evidence“), za dva biosimilara odobrena u Europi smatrano da su vrlo slični referentnom lijeku koji sadrži r-hFSH odnosno da u osnovi dijele istu djelatnu tvar.

Jedna od razlikovnih karakteristika FSH proizvoda jest njihov uređaj isporuke, koji kao sućenje pacijenata s lijekom utječe na njihovo mišljenje što mogu očekivati od lijeka (79). Studije su pokazale kako je percepcija pacijentica o njihovom iskustvu tijekom stimulacije ovulacije, povezana s lakoćom korištenja uređaja isporuke lijeka te smanjenom varijabilnosti doze, važna u preferenciji pacijentica u odluci o izboru liječenja (84). Studija treće faze Bemfole prema Gonalu-f nije ispitala ove čimbenike, dok je studija usporedivosti Ovaleapa i Gonala-f pokazala zadovoljavajuće rezultate. Tek je u posljednoj studiji o preferencijama pacijentica, brizgalica Bemfole nadjačala je uređaj Gonala-f (78). Uzimajući u obzir zadovoljstvo pacijentica tijekom terapije, korištenje brizgalica za primjenu lijeka moglo bi voditi sniženju psihološkog stresa u terapiji neplodnosti i moguće poboljšati uspjeh liječenja.

Izbor vrste preparata FSH za ovarijsku stimulaciju pacijentica u sklopu MPO-e ovisi o potrebnoj dozi i trajanju primjene, individualnim karakteristikama pacijentice, ali i o financijskim pokazateljima, odnosno troškovima kako za bračne parove, tako i za zdravstveni sustav. Rezultati randomiziranih kliničkih studija pokazuju jednaku učinkovitost biosimilara i Gonala-f u mladim „idealnih“ pacijentica koje su normoresponderi, odnosno koje pokazuju dobar odgovor jajnika na postupke stimulacije ovulacije. Međutim, tek će pravu vrijednost biosimilara pokazati dodatne komparativne randomizirane studije, s dugotrajnijim praćenjem, provedene u drugim populacijama pacijentica, koje će uključivati starije pacijentice koje su poor responderi, pacijentice s recidivima neuspjeha IVF-a i onim s sindromom policističnih jajnika.

Prednost biosimilara folitropina jest značajno smanjenje troškova postupaka MPO-e zbog primjene jeftinijih rekombinantnih proizvoda, što u konačnici znači i manji broj potrebnih ciklusa liječenja za postizanje trudnoće. Premda su biosimilar i dizajnirani s ciljem sniženja cijena bioloških terapija, prema ispitivanju tržišta biosimilar i folitropina alfa ipak nisu postigli očekivano sniženje cijena

terapije na europskom tržištu. Također, u Europi ne postoji jedinstven pristup nadoknade cijene (engl. reimbursemnt decision) te se određivanje cijena i opseg smanjenja cijena biosimilara mogu značajno razlikovati među zemljama. Nadalje, prema studijama isplativosti prikazano je kako se terapija biosimilarima, usprkos nižoj tržišnoj cijeni biosimilara te vrijednosti ICER-a koja im ide u prilog, nije pokazala isplativijom u postizanju željenog cilja MPO-e kada se promatra ukupni trošak postupka po živorođenom djetetu. U odluci o alociranju ograničenih sredstava za novije tehnologije liječenja, koristi se u kombinaciji s ICER-om, prag spremnosti za plaćanje, ali oni još nisu određeni u kontekstu reproduktivnih terapijskih opcija u državnom ili međunarodnom pogledu. Jedan od strategija uštede u području terapije neplodnosti moguće je smanjenje rezidualnog sadržaja lijekova, što kao prednost pokazuje brizgalica Bemfole. Međutim, kada promatramo ekonomske procjene biosimilara folitropina alfa treba se uzeti u obzir kratko vrijeme postojanja na tržištu.

ZAHVALE

Srčano zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Marini Šprem Goldštajn, na poticaju, izboru teme, strpljivosti i pozitivnoj energiji tijekom čitave godine izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem se članovima Povjerenstva, prof. dr. sc. Dinki Pavičić Baldani i prof. dr. sc. Hrvoju Vrčiću, na čitanju i ocjeni mog diplomskog rada.

Zahvaljujem se profesorima i kolegama s kojima sam surađivao tijekom ovih osam godina, na dodatnim lekcijama, najdražim doktorima iz Bolnice za medvjediće te zborašima s Filozofskog, na jednoj noti u vašem nesuglasju.

Fala roditelji, moje more, što me učite postati čovikom

Fala braćo, moje lampadine, što mi cili život govorite kako život nije jedna... knjiga

Fala familijo, moje sidro i jarbolu

Fala prijatelji, moja posado, na vašim osjetilima

Fala bako Marijo, moj kapetane. *Bako Dado*, moja poniznosti. *Dida Ljubo*, čuvaj me s neba

Fala ti Bože na ovim ljudima i svim konstruktivnim putokazima, vidiš da se nisam nasuka!

Eleanor Roosevelt poručuje kako budućnost pripada onima koji vjeruju u ljepotu svojih snova. Hvala Vam što mogu graditi vlastitu!

LITERATURA

1. Putrick P, Ramiro S, Kvien TK, Sokka T, Pavlova M, Uhlig T, Boonen A. Inequities in access to biologic and synthetic DMARDs across 46 European countries. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:198-206.
2. Allahbadia GN, Allahbadia A. Recombinants versus biosimilars in ovarian stimulation. U: Allahbadia GN, Morimoto Y, ur. *Ovarian stimulation protocols*. New Delhi: Springer India Pvt Ltd; 2016. Str. 71-77.
3. Orvieto R, Seifer DB. Biosimilar FSH preparations – are they identical twins or just siblings. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016 Jun 14;14:32. doi: [10.1186/s12958-016-0167-8](https://doi.org/10.1186/s12958-016-0167-8)
4. Gizzo S, Garcia-Velasco JA, Heiman F, Ripellino C, Bühler K. A cost-effectiveness evaluation comparing originator follitropin alfa to the biosimilar for the treatment of infertility. *Int J Women's Health*. 2016;8:683–689.
5. Shoham Z, Howles CM. Drugs used for ovarian stimulation. U: Gardner KD, ur. *Textbook of assisted reproductive techniques*. Boca Raton: Taylor & Francis Group; 2018. Str. 499-526.
6. Wang J, Chow S. On the Regulatory Approval Pathway of Biosimilar Products. *Pharmaceuticals*. 2012; 5(4): 353-368.
7. Santi D, Simoni M. Biosimilar recombinant follicle stimulating hormones in infertility treatment. *Expert Opin Biol Ther*. 2014;14(10):1399-1409.
8. Weise M, Bielsky MC, De Smet K, Ehmann F, Ekman N, Narayanan G, i sur. Biosimilars- why terminology matters. 2011;29(8):690-3.
9. Mellstedt H, Niederwieser D, Ludwig H. The challenge of biosimilars. *Ann Oncol*. 2008;19:411–9.
10. De Mora F, Fauser BCJM. Biosimilar to recombinant human FSH medicines: comparable efficacy and safety to the original biologic. *Reproductive BioMedicine Online*. 2017;35:81-86.
11. European Generic Medicines Association. EGA handbook on biosimilar medicines. Palgrave Macmillan [pristupljeno 23. 02. 2019.] Dostupno na: http://www.bogin.nl/files/ega_biosimilarshandbook.pdf
12. European Medicines Agency (EMA): Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1), EMA/CHMP/BWP/247713/2012. [pristupljeno 23. 02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active_en-0.pdf
13. European Medicines Agency (EMA): Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (revision 1), EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev1. [pristupljeno 23. 02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active_en-2.pdf

14. Berkowitz, SA Engen JR, Mazzeo JR, Jones GB. Analytical tools for characterizing biopharmaceuticals and implications for biosimilars. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11(7):527-540.
15. European Medicines Agency (EMA): Guideline on similar biological medicinal products, CHMP/437/04 Rev 1. [pristupljeno 23. 02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf
16. European Medicines Agency (EMA): Note for guidance on Specifications: Test procedures and acceptance criteria for Biotechnological/Biological Products, CPMP/ICH/365/96 ICH Q6B. [pristupljeno: 24. 02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-6-b-test-procedures-acceptance-criteria-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf
17. European Medicines Agency (EMA): Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH), CHMP/BMWP/671292/2010. [pristupljeno: 24. 02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing_en.pdf
18. Tsuruta LR, dos Santos ML, Moro AM. Biosimilars Advancements: Moving on to the Future. *Biotechnol. Prog.* 2015;31(3):1-11.
19. Leao RB, Esteves SC. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics.* 2014;69(4):279-293.
20. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human Reprod Update.* 2004;10(6):453-67.
21. Bagatti G, Crisci C, Datola A, i sur. Characterisation and comparison of recombinant human follicle-stimulating hormones. *J Clin Res.* 2001;4:91-104.
22. Mulders JW, Derksen M, Swolfs A, Maris F. Prediction of the in vivo biological activity of human recombinant follicle stimulating hormone using quantitative isoelectric focusing. *Biologicals.* 1997;25(3):269-81.
23. Out HJ, Driessen SG, Mannaerts BM, Coelingh Bennink HJ. Recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin beta, Puregon) yields higher pregnancy rates in in vitro fertilization than urinary gonadotropins. *Fertil Steril.* 1997;68(1):138-42.
24. Harlin J, Csemiczky G, Wrambsy H, Fried G. Recombinant follicle stimulating hormone in in-vitro fertilization treatment-clinical experience with follitropin alpha and follitropin beta. *Hum Reprod.* 2000;15(2):239-44.
25. Brinsden P, Akagbosu F, Gibbons LM, i sur. A comparison of the efficacy and tolerability of two recombinant human follicle-stimulating hormone preparations in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000;73(1):114-16.

26. Amoresano A, Siciliano R, Orru S, i sur. Structural characterisation of human recombinan glycohormones follitropin, lutropin and choriogonadotropin expressed in Chinese hamster ovary cells. *Eur J Biochem.* 1996;242(3):608-18.
27. Ulloa-Aguirre A, Midgley AR Jr, Beitins IZ, Padmanabhan V. Follicle-stimulating isohormones: characterization and physiological relevance. *Endocr Rev.* 1995;16(6):765-87.
28. Timossi C, Damian-Matsumura P, Dominguez-Gonzalez A, Ulloa-Aguirre A. A less acidic human follicle-stimulating hormone preparation induces tissue-type plasminogen activator enzyme activity earlier than a predominantly acidic analogue in phenobarbital-blocked pro-oestrous rats. *Mol Hum Reprod.* 1998;4(11):1032-8.
29. Lombardi A, Andreozzi C, Pavone V, i sur. Evaluation of the oligosaccharide composition of commercial follicle stimulating hormone preparations. *Electrophoresis.* 2013;34(16):2394-406.
30. van Wely M, Kwan I, Burt AL, Thomas J, Vail A, Van der Veen F, Al-Inany HG. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 2011 [pristupljeno 14. 03. 2019.] DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005354.pub2>
31. Bosch E, Havelock J, Martin F i sur. Follitropin delta in repeated ovarian stimulation for IVF: a controlled, assessor-blind Phase 3 safety trial. *Reprod Biomed Online.* 2019;38(2):195-205.
32. Abd-Elaziz K, Duijkers I, Stockl L i sur. A new fully human recombinant FSH (follitropin epsilon): two phase 1 randomized placebo and comparator-controlled pharmacokinetic and pharmacodynamic trials. *Hum Reprod.* 2017;32(8):1639-1647.
33. Chappel SC, Ulloa-Aguirre A, Coutifaris C. Biosynthesis and secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev.* 1983;4(2):179-211.
34. Bousfield GR, Butnev VY, Butnev VY, i sur. Hypo-glycosylated human folliclestimulating hormone (hFSH(21/18)) is much more active in vitro than fullyglycosylated hFSH (hFSH(24)). *Mol Cell Endocrinol.* 2014;382(2):989-97.
35. Walton WJ, Nguyen VT, Butnev VY, et al. Characterization of human FSH isoforms reveals a nonglycosylated beta-subunit in addition to the conventional glycosylated beta-subunit. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(8):3675-85.
36. Sam T, de Leeuw R. Follicle-Stimulating Hormone. U: Crommelin DJA, ur. *Pharmaceutical Biotechnology.* Springer Nature Switzerland AG; 2019. Str. 429-437.
37. Mastrangeli R, Satwekar A, Cutillo F, Ciampolillo C, Palinsky W, Longobardi S. In-vivo biological activity and glycosylation analysis of a biosimilar recombinant human follicle-stimulating hormone product (Bemfola) compared with its reference medicinal product (GONAL-f). *PLoS ONE* 12(9): e0184139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184139>
38. Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Damian-Matsumura P, Dias JA. Role of glycosylation in function of folliclestimulating hormone. *Endocrine.* 1999;11(3):205–15.

39. Jiang X, Fischer D, Chen X, McKenna SD, Liu H, Sriraman V, et al. Evidence for Follicle-stimulating Hormone Receptor as a Functional Trimer. *J Biol Chem*. 2014; 289(20):14273–82.
40. Jiang X, Dias JA, He X. Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors: insights to signaling. *Mol Cell Endocrinol*. 2014; 382(1):424–51.
41. Sairam MR, Bhargavi GN. A role for glycosylation of the alpha subunit in transduction of biological signal in glycoprotein hormones. *Science*. 1985; 229(4708):65–7.
42. Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Barrios-de-Tomasi J, Maldonado A, Nayudu P. Impact of carbohydrate heterogeneity in function of follicle-stimulating hormone: studies derived from in vitro and in vivo models. *Biol Reprod*. 2003; 69(2):379–89.
43. Davis JS, Kumar TR, May JV, Bousfield GR. Naturally Occurring Follicle-Stimulating Hormone Glycosylation Variants. *J Glycomics Lipidomics*. 2014;4(1):e117. doi: <https://doi.org/10.4172/2153-0637.1000e117>
44. Anobile CJ, Talbot JA, McCann SJ, Padmanabhan V, Robertson WR. Glycoform composition of serum gonadotrophins through the normal menstrual cycle and in the post-menopausal state. *Mol Hum Reprod*. 1998; 4(7):631–9.
45. Wide L, Eriksson K. Dynamic changes in glycosylation and glycan composition of serum FSH and LH during natural ovarian stimulation. *Ups J Med Sci*. 2013; 118(3):153–64.
46. Bousfield GR, Dias JA. Synthesis and secretion of gonadotropins including structure-function correlates. *Rev Endocr Metab Disord*. 2011;12(4):289–302.
47. Wide L, Albertsson-Wikland K. Change in electrophoretic mobility of human follicle-stimulating hormone in serum after administration of gonadotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70(1):271–6.
48. Padmanabhan V, Miehler CD, Borondy M, et al. Circulating bioactive follicle-stimulating hormone and less acidic follicle-stimulating hormone isoforms increase during experimental induction of puberty in the female lamb. *Endocrinology* 1992;131(1):213–20.
49. Andersen CY, Westergaard LG, van Wely M. FSH isoform composition of commercial gonadotrophin preparations: a neglected aspect? *Reprod Biomed Online*. 2004; 9(2):231–6.
50. Grass J, Pabst M, Chang M, Wozny M, Altmann F. Analysis of recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH) by mass spectrometric approaches. *Anal Bioanal Chem*. 2011;400(8):2427–38.
51. Gervais A, Hammel YA, Pelloux S, Lepage P, Baer G, Carte N, Sorokine O, Strub JM, Koerner R, Leize E, Van Dorsselaer A. Glycosylation of human recombinant gonadotrophins: characterization and batch-to-batch consistency. *Glycobiology*. 2003;13(3):179–89.
52. Ghaderi D, Taylor RE, Padler-Karavani V, Diaz S, Varki A. *Nat Biotechnol*. 2010;28(8):863–7.
53. European Medicines Agency (EMA): Assessment report, Bemfola, EMA/65507/2013 rev1. [pristupljeno 26.02. 2019.] Dostupno na:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/bemfola-epar-public-assessment-report_en.pdf

54. European Medicines Agency (EMA): Assessment report, Ovaleap, EMA/CHMP/41467/2013. [pristupljeno 26.02. 2019.] Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/ovaleap-epar-public-assessment-report_en.pdf
55. Wolzt M, Gouya G, Sator M, Hemetsberger T, Irps C, Rettenbacher M, Vcelar B. Comparison of pharmacokinetic and safety profiles between Bemfola and Gonal-f after subcutaneous application. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2016;41:259–265.
56. Rettenbacher M, Andersen AN, Garcia-Velasco AJ, Sator M, Barri P, Lindenberg S, i sur. A multi-centre phase 3 study comparing efficacy and safety of Bemfola® versus Gonal-f® in women undergoing ovarian stimulation for IVF. *Reprod Biomed Online*. 2015;30(5):504-513. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.01.005>
57. Andersen AN, Devroey P, Arce JC. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blinded controlled trial. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3217-27. DOI: [10.1093/humrep/del284](https://doi.org/10.1093/humrep/del284)
58. Olivennes F1, Howles CM, Borini A, Germond M, Trew G, Wikland M, i sur. Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reprod Biomed Online*. 2011;22(1):73-82. DOI: [10.1016/S1472-6483\(11\)60012-6](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(11)60012-6)
59. Winstel R, Wieland J, Gertz B, Mueller A, Allgaier H. Manufacturing of Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone Ovaleap (XM17), Comparability with Gonal-f, and Performance/Consistency. *Drugs R D*. 2017;17:305–312.
60. Lispi M, Mastrangeli R, Galano E, Palmese A, Cutillo F, Casarini L, Riccetti L, Longobardi S, Simoni M. Comparative Analysis of Structural Differences of Ovaleap and GONAL-f: Site-specific Glycosylation Mapping and Cell Signalling Activation. Poster presented at: 34th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology; 2018 Jul 1-4; Barcelona, Spain.
61. Lammerich A, Bias P, Gertz B. Phase 1 safety, tolerability, and pharmacokinetic study of single ascending doses of XM17 (recombinant human follicle-stimulating hormone) in downregulated healthy women. *Int J Womens Health*. 2015;7:707–716.
62. Lammerich A, Mueller A, Bias P. Phase I, two-way, crossover study to demonstrate bioequivalence and to compare safety and tolerability of single-dose XM17 vs Gonal-f® in healthy women after follicle-stimulating hormone downregulation. *Reprod Biol Endocrin*. 2015;13:130. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0124-y>
63. Strowitzki T, Kuczynski W, Mueller A, Bias P. Randomized, active-controlled, comparative phase 3 efficacy and safety equivalence trial of Ovaleap® (recombinant human follicle-

- stimulating hormone) in infertile women using assisted reproduction technology (ART). *Reprod Biol Endocrin.* 2016;14:1. doi: [10.1186/s12958-015-0135-8](https://doi.org/10.1186/s12958-015-0135-8)
64. Strowitzki T, Kuczynski W, Mueller A, Bias P. Safety and efficacy of Ovaleap® (recombinant human follicle-stimulating hormone) for up to 3 cycles in infertile women using assisted reproductive technology: a phase 3 open-label follow-up to Main Study. *Reprod Biol Endocrin.* 2016;14(1):31. DOI: [10.1186/s12958-016-0164-y](https://doi.org/10.1186/s12958-016-0164-y)
 65. Ben-Maimon CS. Point: why biogenerics make sense. *Nat Biotechnol.* 2006;24(3):268-9.
 66. Aitken M. Delivering on the potential of biosimilar medicines: The role of functioning competitive markets introduction. IMS Institute for Healthcare Informatics. 2016. [pristupljeno 03. 05. 2019.] Dostupno na: <https://www.medicinesforeurope.com/wp-content/uploads/2016/03/IMS-Institute-Biosimilar-Report-March-2016-FINAL.pdf>
 67. Ledford H. 'Biosimilar' drugs poised to penetrate market. *Nature.* 2010;468(7320):18-19.
 68. IQVIA. The Impact of Biosimilar Competition in Europe. 2018. [pristupljeno 03. 05. 2019.] Dostupno na: <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/31642/attachments/1/translations/en/renditions/native>
 69. Kawalec P, Stawowczyk E, Tesar T, Skoupa J, Turcu-Stiolica A, Dimitrova M, i sur. Pricing and Reimbursement of Biosimilars in Central and Eastern European Countries. *Front Pharmacol.* 2017;8:288. doi: [10.3389/fphar.2017.00288](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00288)
 70. Vogler S, Schneider P, Gombocz M, Zimmermann N. Differences in pricing policies for generic and biosimilar medicines. ISPOR 19th Annual European Congress. *Value Health.* 2016;19:A347 – A766. Dostupno na: [https://www.valueinhealthjournal.com/article/S1098-3015\(16\)31388-2/pdf](https://www.valueinhealthjournal.com/article/S1098-3015(16)31388-2/pdf)
 71. Vitezić D, Macolić-Šarinić V. Farmakoeconomika. U: Francetić I, Vincetić D. Klinička farmakologija. Medicinska naklada; 2014. Str. 106-133.
 72. Gizzo S, Garcia-Velasco JA, Heiman F, Ripellino C, Bühler K. A cost-effectiveness evaluation comparing originator follitropin alfa to the biosimilar for the treatment of infertility. *Int J Womens Health.* 2016;8:683–689.
 73. Gizzo S, Ferrando M, Lispi M, Ripellino C, Cataldo N, Bühler K. A cost-effectiveness modeling evaluation comparing a biosimilar follitropin alfa preparation with its reference product for live birth outcome in Germany, Italy and Spain. *Journal of Medical Economics.* 2018;21(11):1096-1101. doi: <https://doi.org/10.1080/13696998.2018.1511567>
 74. Grynberg M, Murphy C, Doré C, Fresneau L, Paillet S, Petrica N, i sur. A cost-effectiveness analysis comparing the originator follitropin alfa to its biosimilars in patients undergoing a medically assisted reproduction program from a French perspective. *Journal of Medical Economics.* 2018;22(1):108-115. doi: <https://doi.org/10.1080/13696998.2018.1551226>

75. Lass A, Montgomery SM. RE: A cost-effectiveness modeling evaluation comparing a biosimilar follitropin alfa preparation with its reference product for live birth outcome in Germany, Italy, and Spain. *Journal of Medical Economics*. 2019;22(4):379–380.
76. Lass A. Improving the Reporting of Clinical Trials of Infertility Treatments (IMPRINT): modifying the CONSORT statement-what about registration studies. *Hum Reprod*. 2015;30(2):490.
77. Gizzo S, Ferrando M, Lispi M, Ripellino C, Cataldo N, Bühler K. Reply: Re: A cost-effectiveness modeling evaluation comparing a biosimilar follitropin alfa preparation with its reference product for live birth outcome in Germany, Italy and Spain. *Journal of Medical Economics*. 2019;22(4):381-382.
78. Foxon G, Mitchell P, Turner N, McConnell A, Kendrew H, Jenkins J. Bemfola fixed dose pens potentially reduce drug wastage and associated costs of infertility treatment. *Human Fertility*. 2018;21(4):275–280.
79. Niskanen L. A clinical and health economic review of a prefilled insulin pen. *Curr Med Res Opin*. 2010;26(10):2431–2439. doi: <https://doi.org/10.1185/03007995.2010.512447>
80. Imthurn B, McVeigh E, Stiller R, Arnold M, Pringle F, Irps C, Rettenbacher M. (2014). Evaluation of the use and handling of three different pen systems considered for in vitro fertilization treatment. *Expert Opin Drug Deliv*. 2014;11(12):1859–1864. doi: <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.965676>
81. Hay JW, Smeeding J, Carroll NV, Drummond M, Garrison LP, Mansley EC. Good research practices for measuring drug costs in cost effectiveness analyses: issues and recommendations: The ISPOR Drug Cost Task Force Report – Part I. *Value Health*. 2010;13(1):3–7.
82. Fasola G, Aprile G, Marini L, Follador A, Mansutti M, Miscoria M. Drug waste minimization as an effective strategy of cost-containment in oncology. *BMC Health Serv Res*. 2014;14:57. doi: <https://doi.org/10.1186/1472-6963-14-57>
83. de Mora F. Commentary on the Orvieto and Seifer Editorial on Biosimilar "rFSH-bearing" Medicines in Reproductive Biology and Endocrinology. *J Reproductive Endocrinol Infert*. 2017;2:1.
84. Landfeldt E, Jablonowska B, Norlander E, i sur. Patient preferences for characteristics differentiating ovarian stimulation treatments. *Hum Reprod*. 2012;27:760–9.

ŽIVOTOPIS

Bukovačka 181 | Zagreb | +385 95 890 5368 | stipe.dumancic@gmail.com | 20. 12. 1992. (Split)

EDUKACIJA

2011. - 2019. | Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

Integrirani studij medicine

2007. - 2011. | 4. gimnazija "Marko Marulić", Split

2008. - 2010. | Hrvatsko-francuska alijansa, Split

Tečaj francuskog jezika

STRUČNA EDUKACIJAI IZLAGANJA

2019. | **CROSS 15th International Biomedical Croatia Student Summit** – aktivni sudionik

Dumančić S, Smajo A, Čuk M. Can Genetic counseling and Preimplantation Genetic Diagnosis prevent fatal infantile-onset Pompe disease. *Liječ Vjesn.* 2019;141(Supl. 1):S46. (case report, abstract)

Smajo A, Dumančić S, Čuk M. Inborn metabolic disorders in differential diagnosis of cyclic syndrome in children. *Liječ Vjesn.* 2019;141(Supl. 1):S46. (case report, abstract)

2018. | **ZIMS 18th Zagreb International Medical Summit** – aktivni sudionik

Dumancic S. New dimension of 'Teddy Bear Hospital' project – opportunity for medical students to develop managerial skills. *Liječ Vjesn.* 2018;S21. (case report, abstract)

2017. | Radionica *Vodič za praćenje razvoja djeteta / Guide for Monitoring Child Development* (GMCD)

2014. | **KPR/AVD studMEF** – tečaj ERC-a

PROJEKTI I STUDENTSKI ANGAŽMAN

2019. - | **Epidemiologija Arterijske Hipertenzije u Hrvatskoj (EH-UH)** – suradnik na projektu

2018. - 2019. | Studentska sekcija za ginekologiju i porodništvo - član

Moderiranje journal club-a na temu "Utjecaj vitaminskog statusa na karcinom cerviksa"

2018. - 2019. | **Klinika za pedijatriju KBC-a Zagreb** – student-demonstrator

2017. - 2019. | EMSA Zagreb (*European Medical Students' Association*) – član

projekt **Bolnica za medvjediće Zagreb** – koordinator projekta

2016. - 2019. | **Medicinar**, časopis Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu – urednik

2013. - 2016. | CroMSIC Zagreb (Croatian Medical Students' International Committee) – **mRak kampanja**; edukator

NAGRADE

2014. | **Posebna rektorova nagrada**, područje humanističkih znanosti: „Koncert W. A. Mozart: Velika misa u c-molu, KV 427“, Zagrebački orkestar mladih i Akademski zbor Filozofskog fakulteta „Concordia discors“ (2014./2015.)

DRUGA ZNANJA I VJEŠTINE

- Engleski jezik – aktivno u govoru i pismu
 - Talijanski i francuski jezik – pasivno u govoru i pismu
- Rad s Microsoft Office™ alatima (Word™, Excel™ i PowerPoint™)