

TERAPIA

NUMER SPECJALNY, LUTY 2013

Leki generyczne
– tajemnice ich rejestracji

www.terapia.com.pl

Grzegorz Cessak
Jacek Sptawiński
Zofia Ulz

Leki generyczne
– tajemnice ich rejestracji

Rada Naukowa

Przewodniczący:

prof. dr hab. n. med. Tadeusz Tołłoczko, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Witold Bartnik, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Borkowski, Warszawa

Prof. dr hab. Lidia B. Brydak, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Ryszarda Chazan, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Anna Członkowska, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gaciong, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Janczewski, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Januszewicz, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Tadeusz Kępcik, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Ida Kinalska, Białystok

Prof. dr hab. n. med. Jan Kochanowski, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Piotr Kuna, Łódź

Prof. dr hab. n. med. Ryszard Kurzawa, Rabka Zdrój

Prof. dr hab. n. med. Artur Mamcarz, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Longin Marianowski, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Grzegorz Opolski, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Rafał Pawliczak, Łódź

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Steciwko, Wrocław

Prof. dr hab. n. med. Irena Zimmermann-Górska, Poznań

Redakcja

Redaktor naczelny:

prof. dr hab. n. med. Tadeusz Tołłoczko

Dyrektor ds. publikacji:

Barbara Milczarek, tel. 22 335 97 43

Z-ca dyrektora ds. publikacji:

Anna Harazińska, tel. 22 335 97 40

Sekretarz redakcji: Anna Bogdańska, tel. 22 335 97 44

Skład i tamanie: Teresa Olszewska, tel. 22 335 97 16

Wydawca WARSAW VOICE S. A.

Prezes: Andrzej Jonas

Dyrektor Generalny: Juliusz Kłosowski

Dyrektor ds. produkcji: Stanisław Mazur

© Copyright by Warsaw Voice SA

Adres redakcji:

ul. Księcia Janusza 64, 01-452 Warszawa

tel. 22 335 97 43, 22 335 97 44

fax 22 335 97 50, 22 335 97 10

e-mail: terapia@warsawvoice.pl

<http://www.terapia.com.pl>

Kolportaż i prenumerata:

Anna Mazurek, tel. 22 335 97 22; 25

e-mail: distribution@warsawvoice.pl

Reklama: tel. 22 335 97 32, 22 335 97 43

Nakład do 15 000 egz.

Druk: Zakłady Graficzne TAURUS, www.drukarniataurus.pl

Stanisław Roszkowski, Kazimierów 13, 05-074 Halinów

Regulamin dla autorów na stronie www.terapia.com.pl

W związku z równoległym publikowaniem czasopisma w wersji papierowej i elektronicznej informujemy, że wersją pierwotną jest wersja papierowa.

Redakcja nie ponosi odpowiedzialności za treść ogłoszeń.

Publikacja ta jest przeznaczona tylko dla osób uprawnionych do wystawiania recept oraz osób prowadzących obrót produktami leczniczymi w rozumieniu przepisów ustawy z dnia 6 września 2001 r. - Prawo farmaceutyczne (Dz.U. Nr 126, poz. 1381, z późn. zmianami i rozporządzeniami)

Przedmowa.....5

Grzegorz Cessak

Biorównoważność – jeden z podstawowych warunków dopuszczania do obrotu produktów leczniczych odtwórczych.....6–8

Jacek Sptawiński

Leki generyczne: znaczenie badania biorównoważności9–24

Zofia Ulz

System zarządzania jakością w przemyśle farmaceutycznym.....25–26

Jacek Sptawiński

Podsumowanie27–28

Jacek Sptawiński

Leki generyczne – biorównoważność zapewnienia wymienności terapeutycznej. Streszczenie29–30

Przedmowa

Wstęp do książki ma uzasadnić konieczność jej napisania i pisze się go z czterech powodów. Po pierwsze, by podziękować wszystkim tym, którzy pomogli napisać książkę, po drugie, żeby podziękować bliskim, nawet bez podawania powodu, po trzecie, aby podziękować wydawcy za drukowanie, oraz po czwarte, by zachęcić do przeczytania. Przejdźmy od razu do czwartego powodu. Zadanie to nie jest łatwe, bo trzeba udowodnić potencjalnemu czytelnikowi, że znajomość zawartości publikacji jest mu nieodzownie potrzebna zarówno w pracy, jak i dla uzupełnienia erudycji. Wykazać mu, że wiedzy tej po prostu „nie posiada”. Czy wystarczy zapewnienie, że nie mógł jej zdobyć na studiach? Być może ów czytelnik dalby się przekonać, gdyby mu pokazać, że nawet najwięksi koryfeusze farmacji czy medycyny nie mają pełnej wiedzy na temat leków-odpowiedników (generyków) i publicznie twierdzą, że leki te są gorsze od swoich pierwowzorów, czyli leków referencyjnych. Oczywiście to nieprawda, ale częstotliwość z jaką jest głoszona sugeruje bardzo silne zaplecze farmaceutyczne. Można więc sądzić, że tym zapleczem są wielkie firmy farmaceutyczne produkujące oryginalne leki innowacyjne. Chyba jednak tak nie jest, bowiem właśnie te wielkie koncerny w swoich fabrykach-córkach same produkują leki-odpowiedniki po wygaśnięciu patentu. Z punktu widzenia rynku jest to bardzo dobre posunięcie, ponieważ w ten sposób potencjalny pacjent może zakupić lek oryginalny, do którego jest przyzwyczajony, lub dużo tańszy generyk, jeśli posiada zaufanie do urzędów, które go zarejestrowały. I właśnie w treści naszej publikacji znajdują się zasady, wyłożone

w przystępny sposób, którymi kieruje się Urząd Rejestracji przy wprowadzaniu na rynek leków-odpowiedników.

Potencjalny czytelnik może zainteresować się tymi zasadami po prostu z czystej ciekawości, by np. sprawdzić, jakie może mieć sam w przyszłości zaufanie do leków zarejestrowanych zgodnie z zasadami. Każdy z nas jest lub będzie pacjentem i warto wiedzieć, jakie możliwości daje zamiana leku oryginalnego na jego znacznie tańszy odpowiednik. Innymi słowy, czy przeprowadzane badania z lekiem-odpowiednikiem są wystarczające do uznania, że lek ten działa tak samo jak lek oryginalny.

Potencjalny czytelnik, jeśli jest studentem farmacji, powinien znać zasady rejestracji generyku, gdyż zasady te są oparte o potężne zaplecze naukowe i właściwie stanowią najważniejszy owoc zastosowania nauk farmaceutycznych w praktyce. Najbardziej prosta prawda jest taka: leki-odpowiedniki ratują budżet wielu państw na całym świecie i z punktu widzenia życia społeczeństw trudno o lepszy przykład na służbę nauki obywatelowi. Jednak, by leki te spełniły swoje zadanie, obok niskiej ceny, muszą spełniać warunki równoważności z lekami oryginalnymi. Warunki te i sposób przeprowadzania odpowiednich badań są przedstawione w naszej publikacji.

Potencjalny czytelnik może także być zaangażowany w prace przemysłu generycznego (produkującego leki-odpowiedniki) lub przemysłu leków oryginalnych. W obydwu wypadkach wiedza, jaką posługują się urzędy rejestracji leków przy wprowadzeniu odpowiedników na rynek jest nieodzowna.

Autorzy

Biorównoważność – jeden z podstawowych warunków dopuszczania do obrotu produktów leczniczych odtwórczych

Grzegorz Cessak
Prezes Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych,
Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych

Zapotrzebowanie na przełamywanie monopolu leków oryginalnych przez bardziej dostępne leki odtwórcze, ułatwiające dostęp do podstawowej farmakoterapii większości masowo występujących chorób oraz chęć pokrywania takiego zapotrzebowania przez rządy i organizacje międzynarodowe, stworzyły przed dziesięcioleciem podwaliny dla zaistnienia leków generycznych na rynku farmaceutycznym. Idea wprowadzania do obrotu tańszych leków-odpowiedników dojrzewała, rozwijała się i ewoluowała, a wraz z jej praktycznymi owocami powstawały i doskonaliły się wymagania i przepisy określające zakres badań gwarantujących tzw. zasadnicze podobieństwo generyku do leku oryginalnego. Bardzo wczesnie zwrócono uwagę, że dla skutecznego i bezpiecznego stosowania leku generycznego we wskazaniach, w postaci, mocy i dawkowaniu analogicznym jak dla leku oryginalnego, konieczne jest zapewnienie tego samego stopnia wchłaniania i/lub oddziaływania leku na docelowe struktury organizmu. By tego dowiedzieć, zaczęto stosować badania porównawcze, wśród których, zgodnie z powszechnie uznanym przekonaniem o ścisłej zależności działania od stężenia leku, szczególnie uprzywilejowaną pozycję zajęły specyficzne badania farmakokinetyczne określane mianem badań biorównoważności.

Biorównoważność

Biorównoważność to nie tylko porównawcze badania farmakokinetyczne. Istnieją leki i grupy leków, których równoważności nie można wykazać poprzez oznaczanie stężeń w organizmie. W takich wypadkach biorównoważność wykazuje się w porównawczych badaniach farmakodynamicznych, oceniając nie stężenia, ale efekty działania porównywanych produktów. Wystarczającym sposobem wykazania biorównoważności mogą niekiedy być też same badania *in vitro*, nie wymagające podawania leku człowiekowi.

Z historycznego punktu widzenia, do głównych animatorów i inicjatorów prowadzenia badań biorównoważności należy zaliczyć Światową Organizację Zdrowia (WHO), stawiającą sobie za cel promowanie i ułatwianie dostępu do tanich leków generycznych, identyfikowanych za pomocą międzynarodowych nazw powszechnie stosowanych (*International Nonproprietary Names*, INN). To właśnie ta instytucja, chcąc wprowadzić zakres wymagań minimalnych dla badań biorównoważności generyków, opublikowała na początku lat 90. ubiegłego wieku wytyczną poświęconą wykazywaniu biorównoważności.

Unia Europejska od lat doceniała potrzebę wykazywania biorównoważności leków generycznych i tworzyła dotyczące jej przepisy. Dla krajów członkowskich kamieniem milowym stało się wejście w życie Dyrektywy 2001/83/WE, w której art. 10 ust. 2 (b) definiuje generyczny produkt leczniczy, a następnie w styczniu 2002 r. wytycznej CPMP/EWP/QWP/1401/98, stanowiącej zbiór podstawowych zasad wykazywania biorównoważności i omawiającej przypadki, w których jest ono konieczne bądź nieobowiązkowe. Wyrazem rozwoju wiedzy na temat biorównoważności, wypracowywanej przez wszystkie kraje członkowskie, stało się opublikowanie znowelizowanej wytycznej (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1), która weszła w życie 1 sierpnia 2010 r. Obecnie, wytyczna ta jest kluczowym narzędziem dla regulatorów oceniających badania biorównoważności, a dla firm farmaceutycznych – niezbędnym przewodnikiem po sposobie ich planowania. Należy jednocześnie stwierdzić, iż w dobie globalizacji, która nie omija także uregulowań rejestracyjnych, kodeks wymagań i zaleceń zawarty w wytycznej CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1 jest w bardzo dużym stopniu zbliżony z analogicznymi przepisami wypracowanymi przez kraje pozaeuropejskie, mające nowoczesne systemy rejestracyjne (m.in. USA, Kanada, Japonia, Republika Południowej Afryki). Zatem, podróżując po świecie, mamy dużą szansę stosować leki generyczne, których biorównoważność wykazano podobnie, jak w wypadku generyków dostępnych w Unii Europejskiej – to m.in. załuga wytycznej CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1.

Nowa wytyczna kompleksowo definiuje wymagania dotyczące planowania, sposobu przeprowadzenia i oceny wyników badań biorównoważności produktów leczniczych o normalnym uwalnianiu i o działaniu ogólnym. W dokumencie uwzględniono też w szerszym niż dotychczasowy zakresie możliwość wykorzystania badań *in vitro* wybranych produktów leczniczych dla dokumentowania ich biorównoważności, bez konieczności prowadzenia badań *in vivo*, czyli korzystania z tzw. biowaivera.

W wypadku niemożności wykazania biorównoważności produktu leczniczego za pomocą pomiaru stężeń substancji czynnej w organizmie (badań farmakokinetycznych), wytyczna daje przyzwolenie na przeprowadzanie w charakterze badań biorównoważności innych badań porównawczych, oceniających właściwości farmakodynamiczne i/lub skuteczność kliniczną porównywanych produktów, którym poświęcono odrębne przepisy.

Wytyczna wymienia w pierwszym rządzie standardowy, najczęściej stosowany schemat badań biorównoważności, polegający na porównaniu dwóch produktów podawanych w dawkach jednorazowych, w układzie skrzyżowanym, randomizowanym, dwuokresowym i dwuse-

kwencyjnym. Podanie obu porównywanych produktów winno odbywać się z zachowaniem przerwy, koniecznej do pełnej eliminacji substancji czynnej z organizmu, za którą uznaje się okres co najmniej 5 czasów półtrwania tejże substancji w fazie eliminacji.

Zgodnie ze znowelizowaną wytyczną dopuszcza się również prowadzenie badań biorównoważności w innych, alternatywnych układach, takich jak np. układ równoległy (dla substancji czynnych o bardzo długim okresie półtrwania) czy układ z powtórzeniem (substancje o dużej zmienności parametrów farmakokinetycznych). Dla postaci o niemodyfikowanym uwalnianiu jest też dopuszczalne prowadzenie badań po podaniu wielokrotnym u pacjentów (ale nie u zdrowych ochotników), jeśli – ze względu na bezpieczeństwo – badań nie można prowadzić na osobach zdrowych, a podanie w dawce pojedynczej nie może być zastosowane u chorych. Innym, częściej spotykanym powodem uzasadniającym prowadzenie badań po podaniu wielokrotnym jest niedoskonałość metod analitycznych i/lub specyfika farmakokinetyczna substancji czynnej, które uniemożliwiają uzyskanie wystarczającej liczby wiarygodnych pomiarów stężeń, niezbędnych dla wyznaczenia parametrów farmakokinetycznych. Zastosowanie podania wielokrotnego zamiast podania dawki pojedynczej zawsze jednak musi być uzasadnione przez wnioskodawcę.

Wytyczna stawia określone wymagania dotyczące wyboru produktu referencyjnego, który powinien spełniać dwie zasadnicze cechy: mieć aktualny rejestr na terenie Unii Europejskiej (niekoniecznie w państwie, w którym składany jest wniosek) oraz dopuszczenie do obrotu na podstawie pełnej dokumentacji zgodnej z art. 8 Dyrektywy 2001/83/WE. Co ważne, wybór produktu referencyjnego należy do wnioskodawcy i on też odpowiada za konsekwencje tego wyboru; uzasadnienie wyboru produktu referencyjnego winno być umieszczone w Module 1.5.2 dokumentacji dołączonej do wniosku.

Istotny aspekt wyboru produktu referencyjnego stanowi potwierdzenie przez wnioskodawcę jego mocy (zgodności zawartości substancji czynnej oznaczonej w produkcie z deklarowaną) na podstawie przeprowadzonych przez siebie badań. Zawartość substancji czynnej w seriach produktu badanego i referencyjnego nie powinna się różnić o więcej niż 5%.

W wyborze produktu badanego użytego do badań biorównoważności ważna jest wielkość jego serii; dla stałych, doustnych postaci farmaceutycznych powinna stanowić co najmniej 1/10 wielkości serii produkcyjnej lub 100 000, o ile 1/10 wielkości serii produkcyjnej jest liczbą mniejszą niż 100 000. Jeżeli badany produkt ma być wytwarzany w niewielkich seriach produkcyjnych (mniejszych niż 100 000 jednostek), do przeprowadzenia badań biorównoważności wymaga się wytworzenia pełnej serii produkcyjnej. By wyniki badania biorównoważności mogły być w pełni odnieszone do produktu wytwarzanego masowo po dopuszczeniu do obrotu, konieczne jest zapewnienie przez wnioskodawcę identyczności serii produktu wykorzystanej do badań z seriami produkcyjnymi; ważnym narzędziem wymaganym dla realizacji tego celu są porównawcze badania dostępności farmaceutycznej (tzw. badania dissolution) przeprowadzane w warunkach *in vitro*.

Wybór liczby ochotników uczestniczących w badaniu biorównoważności winien opierać się na odpowiednich wyliczeniach, uwzględniających wiedzę o spodziewanej zmienności parametrów farmakokinetycznych badanego produktu i/lub jego substancji czynnej. Liczba ta nie powinna być nigdy mniejsza niż 12.

Kryteria doboru ochotników opisane w znowelizowanej wytycznej są ogólnie zgodne z wcześniej akceptowanymi i wymaganymi przez europejskie agencje rejestracyjne; opierają się na koncepcji stworzenia bezpiecznych dla uczestników i wiarygodnych dla regulatorów warunków badania. Preferuje się udział zdrowych ochotników, o ile ryzyko związane z podaniem danego leku osobom zdrowym nie budzi kontrowersji z etycznego punktu widzenia. Kryteria włączenia i wyłączenia, które muszą zostać wymienione w protokole badania, obejmują m.in. wiek co najmniej 18 lat oraz wskaźnik BMI w zakresie 18,5–30 kg/m². Ochotnicy uczestniczący w badaniach biorównoważności mogą być przedstawicielami obu płci pod warunkiem zapewnienia ochrony kobiet w wieku rozrodczym przed działaniem leku w okresie ciąży i karmienia piersią.

Im większa standaryzacja warunków badania, tym większa szansa na uzyskanie wiarygodnych wyników, opisujących faktyczne podobieństwa lub ewentualne różnice między porównywanymi produktami, a nie różnice wynikające z wpływu czynników od produktów niezależnych. Tę powszechnie znaną prawdę, od lat przekładaną na wymogi praktyczne, uwzględnia także ostatnio nowelizowana wytyczna, wskazując m.in. na konieczność jednolitej pory przyjmowania produktów, warunków dietetycznych (czas spożywania posiłków i napojów względem czasu przyjmowania leku, skład posiłków i napojów itp.), stosowanie żywienia czy aktywność fizyczną uczestników badań.

W planowaniu badania biorównoważności bardzo duże znaczenie ma właściwy dobór czasu pobierania próbek tak, by oznaczenia wszystkich substancji czynnych, uzyskane z pobranego materiału, były najbardziej przydatne dla wierniejszego odwzorowania farmakokinetyki porównywanych produktów. Podstawowe zasady pobierania próbek obejmują m.in. odpowiednio częste pobieranie w czasie zbliżonym do spodziewanej wartości T_{max} , uwzględniającym fazę narastania stężenia, jeszcze przed uzyskaniem wartości C_{max} i objęcie oznaczeniami stężeń co najmniej 80% krzywej $AUC_{0-\infty}$. Ten drugi warunek zyskał jednak w znowelizowanej wytycznej modyfikację: przestał być bezwzględnie wymagany dla leków o długim okresie półtrwania, dla których nawet na podstawie próbek pobieranych w ciągu 72 godzin nie daje się wyznaczyć AUC_{0-t} stanowiącego co najmniej 80% $AUC_{0-\infty}$. W takich wypadkach dopuszcza się wykorzystanie do obliczeń wartości AUC_{0-72h} w charakterze AUC_{0-t} . Ten sam przywilej, pozwalający na zaprzestanie pobierania (a ściślej zbierania) próbek po upływie 72 godzin, dotyczy badań biorównoważności, w których badanym materiałem jest moczu.

Metody badań analitycznych służących oznaczeniom stężeń w płynach ustrojowych muszą być zgodne ze standardami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (*Good Laboratory Practice*, GLP), dobrze opisane, zwalidowane, a uzyskane za ich pomocą wyniki właściwie dokumentowane i przechowywane. Do badań biorównoważności muszą być stosowane metody analityczne, które umożliwiają uzyskiwanie wiarygodnych oznaczeń z odpowiednio szerokim marginesem stężeń w stosunku do stężeń spodziewanych; ich dolna granica oznaczalności musi wynosić co najmniej 1/20 C_{max} , a zdolność do wykrywania stężeń przed podaniem leku na poziomie nie mniejszym niż 5% C_{max} .

Stosowanie metod analitycznych nie uwzględniających chiralności oznaczanych substancji jest ogólnie akceptowane, ale tylko wtedy, gdy poszczególne enancjomery nie różnią się od siebie farmakokinetyką i właściwościami farmakodynamicznymi. Substancje endogenne, stanowiące jednocześnie substancje czynne badanych produktów leczniczych, wymagają takie-

go sposobu przeprowadzania badań, który pozwoli odróżnić stężenia pochodzące od leku od stężeń stanowiących tło fizjologiczne.

Zasadniczym celem każdego farmakokinetycznego badania biorównoważności jest uzyskanie parametrów farmakokinetycznych dla związków macierzystych (w tym także nieaktywnych substancji prekursorowych, o ile ich niskie stężenia nie uniemożliwiają wykonania oznaczeń), czyli substancji czynnych, które już uległy wchłonięciu do organizmu, ale nie zostały zmienione w procesach metabolicznych. Przyjmuje się bowiem, że wyznaczone w ten sposób parametry są bardziej czułym narzędziem do wykrywania ewentualnych różnic między porównywanymi produktami, niż parametry uzyskane dla metabolitów. Wyznaczanie parametrów farmakokinetycznych dla metabolitów i wnioskowanie o biorównoważności produktu na ich podstawie dopuszcza się tylko w wyjątkowych wypadkach, uzasadnionych niemożnością oznaczenia (obecnie – za sprawą postępów w chemii analitycznej – występują coraz rzadziej).

W wypadku potrzeby wykazania biorównoważności produktu o tej samej postaci farmaceutycznej, dostępnego w kilku mocach, wytyczna pozwala odstąpić od obejmowania wszystkich mocy porównawczymi badaniami farmakokinetycznymi na rzecz jednej lub dwóch z nich. O zastosowaniu takiej możliwości przesądza spełnienie przez poszczególne moce produktu określonych warunków, do których należą: liniowość farmakokinetyki, identyczność jakościowa i ilościowa proporcjonalność składów (z wyłączeniem niektórych substancji pomocniczych o śladowej zawartości oraz poza przypadkami produktów o małym, mniejszym niż 5% udziale wagowym substancji czynnej w masie całej postaci farmaceutycznej), a także uzyskanie w odpowiednich badaniach *in vitro* dowodów na równoważność farmaceutyczną wszystkich mocy produktu.

Parametry farmakokinetyczne, które muszą być wyliczane w badaniach biorównoważności po podaniu jednorazowym to: AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, AUC szczytkowe lub alternatywnie AUC_{0-72h} oraz C_{max} i T_{max} ; w badaniach po podaniu wielokrotnym zastępują je: $AUC_{0-\infty}$, $C_{max,ss}$ i $T_{max,ss}$. W wypadku oznaczeń w moczu: zamiast AUC wyznacza się Ae_{0-t} , a zamiast C_{max} – R_{max} .

Po podaniu jednorazowym, zasadniczym kryterium uznania porównywanych produktów za biorównoważne jest zmieszczenie się 90% przedziału ufności dla ilorazu wartości ich parametrów AUC_{0-t} lub AUC_{0-72h} i C_{max} w zakresie 80–125%. Ten sam zakres procentowy dotyczy też badań po podaniu wielokrotnym (w stanie stacjonarnym), ale odnosi się do parametrów $AUC_{0-\tau}$ i $C_{max,ss}$, zaś w wypadku oznaczeń w moczu – do Ae_{0-t} i R_{max} .

Dla leków o wąskim przedziale terapeutycznym (*Narrow Therapeutic Index*, NTI) przewiduje się możliwość zawężania opisanego powyżej zakresu do 90–111%, zaś dla leków o dużej zmienności parametrów farmakokinetycznej (*Highly Variable Drug Product*, HVDP) wytyczna dopuszcza rozszerzenie zakresu dla C_{max} do maksymalnie 69,84–143,19%.

Niezwykle ważnym składnikiem dokumentacji biorównoważności są dane uzyskane w badaniach *in vitro*. Rola tych badań może być pomostowa (gdy uzupełniają badania *in vivo*), jak i zasadnicza dla wnioskowania o biorównoważności (gdy całkowicie zastępują badania *in vivo*). Znowelizowana wytyczna w bardzo szerokim zakresie omawia sposób wykonywania badań równoważności farmaceutycznej do doku-

mentowania biorównoważności produktów leczniczych, uwzględniając rolę tych badań w zastępowaniu nimi badań *in vivo*. Temu zagadnieniu poświęcono specjalny załącznik wytycznej, opisujący zasady zastępowania badań biorównoważności badaniami równoważności farmaceutycznej na podstawie tzw. systemu klasyfikacji biofarmaceutycznej (*BCS-based Biowaiver*).

Warto przypomnieć wymagania, jakie musi spełniać produkt leczniczy, by obowiązek wykazania jego biorównoważności mógł zostać zrealizowany wyłącznie za pomocą badań *in vitro*. Jest to bowiem, z punktu widzenia wnioskodawców produktów leczniczych, bardzo atrakcyjna perspektywa uniknięcia kosztownego badania lub badań klinicznych na rzecz prostszych i tańszych badań laboratoryjnych połączonych z analizą teoretyczną.

Pierwszym, zasadniczym kryterium jest przynależność substancji czynnej do klasy I BCS (charakteryzującej się wysoką rozpuszczalnością i całkowitym wchłanianiem z przewodu pokarmowego) lub ewentualnie do klasy III BCS (wysoka rozpuszczalność i ograniczone wchłanianie z przewodu pokarmowego). Drugim – bardzo szybkie lub podobnie szybkie uwalnianie z postaci farmaceutycznej (odpowiednio ponad 85% w ciągu 15 minut lub 85% w ciągu 30 minut dla klasy I i ponad 85% w ciągu 15 minut dla klasy III). Trzecim – dla klasy I: taka sama (jakościowa i ilościowa) zawartość substancji pomocniczych mogących wpływać na biodostępność, a dla klasy III: taka sama (jakościowa i ilościowa) zawartość substancji pomocniczych mogących wpływać na biodostępność wraz z identyczną jakościową zawartością pozostałych substancji pomocniczych i bardzo podobną ich zawartością ilościową.

Znowelizowana wytyczna CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1, choć dedykowana głównie lekom o ogólnym działaniu, występującym w stałych, doustnych postaciach farmaceutycznych o natychmiastowym uwalnianiu substancji czynnej, uwzględnia też w skróconym zakresie przypadki leków w innych postaciach farmaceutycznych; należą do nich m.in. tabletki ulegające rozpadowi w jamie ustnej, roztwory doustne i przeznaczone do podawania pozajelitowego (zwykle zwolnione z obowiązku przeprowadzania klinicznych badań biorównoważności), postacie farmaceutyczne do podawania doodbytniczego, parenteralne postacie farmaceutyczne do podawania dożylnego w formie liposomalnej, micelarnej lub emulsyjnej, doustne postacie o modyfikowanym uwalnianiu, postacie do podawania przezskórnego, parenteralne postacie o modyfikowanym uwalnianiu oraz produkty lecznicze do podawania miejscowego, działające miejscowo.

Podsumowanie

Przedstawiona powyżej prezentacja zagadnienia biorównoważności produktów leczniczych, związana z niedawnym wejściem w życie wytycznej CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1, jest tylko zasygnalizowaniem wybranych wątków tego niezwykle obszernego tematu. Zainteresowani czytelnicy, chcąc szerzej poznać złożoność wymagań rejestracyjnych odnoszących się do wykazywania biorównoważności (w tym równoważności terapeutycznej) produktów leczniczych, mogą skorzystać z wielu innych wytycznych europejskich, dostępnych na stronie Europejskiej Agencji Leków (www.ema.europa.eu).

Leki generyczne: znaczenie badania biorównoważności

Prof. dr hab. n. med. Jacek Sptawicki

Zastosowanie leków generycznych szybko rośnie, ponieważ w Polsce, Europie i USA leki generyczne są dla wielu chorych warunkiem dostępności do leczenia, bowiem leki te, nie różniące się od oryginalnych (co będzie przedstawione poniżej), są znacznie od nich tańsze. Jednakże podstawowym warunkiem rejestracji leku generycznego jest badanie biorównoważności, bez którego generyk nie jest generykiem. Dlatego, zrozumienie podstaw i zasad biorównoważności jest niezbędne w praktyce lekarskiej i farmaceutycznej.

1. Historia i wprowadzenie

Od niepamiętnych czasów ludzie stosują leki. Były to jednak metody leczenia oparte na anegdotycznych dowodach, tradycji pamiętającej jeszcze czasy szamanów lub bezpodstawne zalecenia jakiś prehistorycznych autorytetów. Dopiero w pierwszej połowie XIX wieku Lewis udowodnił, że praktyka upustów krwi stosowana przez 2000 lat! nie pomaga w leczeniu chorób (1); w tym samym czasie Gavaret położył fundamenty pod stosowanie statystyki w badaniach medycznych (2), otwierając tym samym drogę do badań klinicznych nowych leków. Takie nowoczesne badanie po raz pierwszy przeprowadzono w Anglii w 1948 r. (streptomycyna versus ekspozycja słoneczna chorych na gruźlicę) (3) i od tego czasu dziesiątki tysięcy badań o przeróżnych akronimach opublikowano w setkach magazynów naukowych.

Pierwszym aktem prawnym o wielkiej doniosłości dotyczącym leków była ustawa o czystości żywności i leków uchwalona w USA w 1906 r. (4). Wtedy – po raz pierwszy na świecie – został nałożony na producentów leków obowiązek posługiwania się stałą recepturą i podawania na opakowaniu składników danego leku. W tym samym akcie prawnym administracja państwowa została zobowiązana do nadzoru i badania produktów farmaceutycznych. Kolejnym znaczącym aktem w tej dziedzinie był Food, Drugs, and Cosmetics Act z 1938 r., który rodził się już od 1933 r., a został uchwalony dopiero po śmiertelnych skutkach stosowania w USA syropu zawierającego sulfanilamid (zgon ponad 100 leczonych). Przed 1938 każdy mógł wprowadzić lek do obrotu, zaś po – wszystkie leki obowiązkowo rejestrowano w FDA (*Food and Drug Administration*), która to instytucja testowała je od tego czasu przed dopuszczeniem na rynek (4). Leki stały się – jak na

ówczesne czasy – względnie bezpieczne, ale nadal większość z nich była nieskuteczna.

Przez cały wiek XIX i niemal do połowy XX przemysł farmaceutyczny nie produkował gotowych leków, ale wytwarzał surowce, które sprzedawano aptekarzom – ci zaś przygotowywali leki. Każdy lekarz mógł zapisać dowolną substancję czynną, nieomal w dowolnej dawce i składzie z innymi substancjami, pod warunkiem, że aptekarz taką substancją dysponował. W czasach, kiedy pojawiły się patenty na leki nie wykorzystywano ich po to, by zapewnić sobie wyłączność na wytwarzanie, dystrybucję i cenę produktu, lecz by możliwie szeroko odsprzedawać licencje (4). Stopniowo, najpierw w USA, sytuacja uległa zmianie. Przepisywanie wszystkich leków wyłącznie na receptę, ograniczenie licencji i uniemożliwienie – w pewnych okresach – zastępowania leków innowacyjnych generykami doprowadziło do wysokich cen leku. Lata 40.–60. XX wieku to złoty okres dla przemysłu farmaceutycznego, zarówno w USA, jak i w Europie; leki musiały być bezpieczne – na tyle na ile w badaniach przedrejestracyjnych można bezpieczeństwo sprawdzić, ale nikt nie badał ich skuteczności w tak rygorystyczny sposób jak obecnie. Skuteczność leków pozostawała pod znakiem zapytania. W tym czasie kwitł przemysł generyczny – nie było kłopotu z wprowadzeniem generyku na rynek. Uznawano, iż skoro produkt generyczny zawiera identyczną substancję czynną co lek oryginalny, to nie wymaga żadnych badań i może być stosowany wymiennie, pod warunkiem, że odpowiednie przepisy dotyczące zapisywania leków tego nie zabraniają (4).

Olbrzymi problem stanowiły w tym czasie nazwy leków. Prawo patentowe stanowi, iż ochrona znaku towarowego (nazwy handlowej) jest wieczysta. Ponieważ nie istniały nazwy powszechnie stosowane, międzynarodowe („generyczne”), każdy nowy lek oryginalny czy generyk miał swoją zastrzeżoną nazwę, a popularne leki miały nawet do 200 odpowiedników o różnych nazwach! (5). Taka mnogość nazw niosła niebezpieczeństwo pomyłek i prawdziwych niespodzianek dla pacjentów i lekarzy, szczególnie gdy nazwy różnych leków były bardzo podobne. Kiedy wycofano talidomid (lek odpowiedzialny za fokomelię u noworodków), był on nadal w obrocie w kilku krajach, zanim zorientowano się, że różne nazwy kryją ten sam groźny teratogen.

Początkowo państwa wprowadziły w swoich krajach obowiązek dopuszczania leku do obrotu pod warunkiem, że producent – obok nazwy handlowej – zaproponuje nazwę potoczną, „generyczną”. Tworzenie tych nazw w każdym kraju nadal prowadziło do zamętu. Stąd popularny w Europie paracetamol, w USA określa się terminem ace-

taminofen, a takich przykładów jest więcej. Porządek wprowadziła, istniejąca od 1948 r., Światowa Organizacja Zdrowia (WHO). Już od 1952 nadaje ona nazwę „generyczną” (*International Nonproprietary Name, INN*). *Nonproprietary* oznacza, że nazwa nie może być zastrzeżona, „nie jest własna” i żaden urząd patentowy nie może jej przypisać jakiegokolwiek osobie fizycznej lub prawnej (5).

Poprawka Harrisa-Kefauvera i *Drug Price Competition Act*

Przełomu na rynku farmaceutycznym, szczególnie generyków, dokonała pracująca od 1954 r. Antytrustowa i Antymonopolowa Podkomisja Senatu USA, kierowana przez senatorów Kefauvera i Harrisa (6). Początkowo miała za zadanie zahamować wprowadzanie na rynek nowych leków minimalnie różniących się od istniejących, tylko po to, by przedłużyć patent, jednak prace Komisji poszły dużo dalej. Ostatecznie poprawkę Harrisa-Kefauvera do ustawy o lekach uchwalono dopiero w 1962 r., co zbiegło się z europejską tragedią związaną z talidomidem. W wyniku tej poprawki producenci zostali zmuszeni – po raz pierwszy na świecie – do wykazania, że ich produkty są skuteczne, jeśli są podawane zgodnie z zarejestrowanymi wskazaniami do stosowania. Innymi słowy, można było zarejestrować wskazanie pod warunkiem, że udowodniono, iż lek jest w tym wskazaniu skuteczny (7). Poprawka Harrisa-Kefauvera zobowiązywała FDA do przeprowadzenia przedrejestracyjnego badania leku, stawiała firmom farmaceutycznym wymóg wytwarzania leku w warunkach GMP (Dobrej Praktyki Wytwarzania), wprowadzała kontrolę zakładów produkcyjnych i wreszcie określała wymagania dotyczące leków generycznych. Pod wpływem tej poprawki, WHO w 1969 r. uchwaliła dwie rezolucje, z których pierwsza (*Certification Scheme on the Quality of Pharmaceutical Products*) zabraniała produkcji niepełnowartościowych leków w krajach wysoko rozwiniętych (np. Szwajcarii) na potrzeby krajów biednych, Trzeciego Świata (trudno to sobie dzisiaj wyobrazić, że w Szwajcarii produkowano leki, których nie stosowano w ...Szwajcarii). Druga rezolucja obligowała kraje do produkcji leków według standardów GMP. Obie stosowały się zarówno do produkcji leków oryginalnych, jak i generyków.

Dla generyków poprawka Harrisa-Kefauvera miała olbrzymie znaczenie – jej uchwalenie zahamowało produkcję tych leków. Stało się tak dlatego, że o ile przed poprawką leki generyczne wchodziły na rynek bez badań, o tyle po jej wprowadzeniu producent leku generycznego był zobowiązany do powtórzenia wszystkich badań przeprowadzonych przez wynalazcę, łącznie z kosztownymi badaniami klinicznymi.

Polski przedwojenny przemysł farmaceutyczny ograniczał się do produkcji licencyjnej. W Polsce przed wojną i po niej respektowano ochronę patentową, a znacjonalizowany przemysł farmaceutyczny produkował wiele wartościowych generyków, ponieważ w tym czasie ochrona patentowa dotyczyła sposobu procesu syntezy i nie obejmowała końcowego produktu. Polscy uczeni wyspecjalizowali się w wynajdywaniu nowych dróg syntezy leków (prym wiódł prof. Supniewski z Krakowa), dzięki temu w kilka lat po wprowadzeniu leku oryginalnego na świat, w Polsce pojawiał się generyk. Badania jakościowe leku przeprowadzano początkowo w zakładach naukowych akademii medycznych, a następnie w Instytucie Leków w Warszawie. Badania skuteczności klinicznej przeprowadzano w oddziałach szpitalnych i klinikach. O biorów-

noważności nikt w tych czasach, chociaż tak bliskie, nie wspominał. Można powiedzieć, że w tym pierwszym i ważnym dla chorych okresie w powojennej Polsce, skuteczność leków generycznych była oparta na ocenie skuteczności klinicznej, najczęściej odnoszonej do kontroli historycznej (czyli do wyników w grupie kontrolnej uzyskanych w innym doświadczeniu, w innym miejscu, w przeszłości), rzadziej do placebo, a prawie nigdy do leku oryginalnego, który był niedostępny.

O ile więc poprawka Harrisa-Kefauvera odegrała ważną rolę w rozwoju leków oryginalnych – po raz pierwszy prawo domagało się, by leki były skuteczne, o tyle dla rozwoju leków generycznych, które też musiały wykazać skuteczność w badaniach klinicznych, była bardzo niekorzystna. Spowodowało to zastój w produkcji leków generycznych, a także – przez zwiększenie wymagań – wydłużenie (ok. 5-krotne) czasu rejestracji leku oryginalnego. Co więcej, spadek produkcji generyków paradoksalnie był także przyczyną zahamowania produkcji leków oryginalnych, prawdopodobnie dlatego, że zahamował inicjatywę firm produkujących leki oryginalne – zabrakło bodźca do poszukiwania nowych, lepszych rozwiązań (brak konkurencyjnego generyku umożliwiał przedłużanie eksploatacji starych pomysłów [4] z zachowaniem wysokiej ceny i zysku). Dopiero ustawa Kongresu USA z 1984 r. ułatwiła produkcję generyków, a jej zasady zostały następnie przyjęte na całym świecie.

Ustawa ta (*Drug Price Competition and Patent Term Restoration Act*) wprowadziła podstawy rejestracji generyków w skróconym procesie rejestracji (*Abbreviated New Drug Application, ANDA*) (4,7). Po jej wejściu w życie producenci leków generycznych nie musieli przeprowadzać już kosztownych i długotrwałych badań klinicznych dowodzących skuteczności leczniczej ich produktów. Zamiast tego zostali zobowiązani do dostarczenia dowodów, że ich produkt jest biorównoważny z oryginalnym.

Oznaczało to kolosalną zmianę. Odstąpiono od testowania na chorych skuteczności leków generycznych, a przyjęto, że istotą rejestracji jest dowód podobieństwa, jeśli nie identyczności (ocena statystyczna wyników biorównoważności nie pozwala na odróżnienie podobieństwa od identyczności) z lekiem oryginalnym. Takie podejście oznacza, że przez stwierdzenie biorównoważności leku generycznego z oryginalnym „przenosi” się wszystkie cechy kliniczne (skuteczność i bezpieczeństwo) leku oryginalnego na generyk. W badaniu biorównoważności chodzi wyłącznie o bezpośrednie porównanie dwóch leków (badanego i referencyjnego) i jeśli wypada ono pozytywnie (biorównoważność zostaje dowiedziona), uznaje się, że lek generyczny jest równie skuteczny jak referencyjny (nieomal zawsze oryginalny). Stąd przy stwierdzeniu biorównoważności urząd rejestrujący nie wymaga badań skuteczności, a dokumentacja kliniczna generyku jest skrócona do badań biorównoważności. W miejsce badań na tysiącach chorych, przeprowadza się badania na dziesiątkach ochotników (stąd „skrócony wniosek”, „abbreviated [...] application”).

Wprowadzenie ustawy z 1984 r. spowodowało, że na rynku amerykańskim (a także i europejskim) znalazły się leki, potencjalnie nie-biorównoważne (wprowadzone przed 1984) i biorównoważne. W związku z licznymi pytaniami kierowanymi do FDA i różnymi listami leków, jakie tworzone w różnych stanach, FDA postanowiła ujednolici-

cić informacje dotyczące biorównoważności gwarantującej wymiennalność między lekami; powstał spis zarejestrowanych leków w formie książki (od jej koloru tzw. Orange Book), podzielonych na kategorie w zależności od równoważności (wymienialności) terapeutycznej. Wszystkie leki kategorii A są wymiennalne terapeutycznie (albo korzystnie zakończone badania biorównoważności, albo zwolnione z takich badań, lub biorównoważne z definicji), a niewymiennalne terapeutycznie należą do kategorii B (badanie biorównoważności nie jest zakończone, nie było przeprowadzone lub wypadło negatywnie) (8). Ponad 75% leków należy do kategorii A. W Europie takiego wykazu nie sporządzono. Od 1991 obowiązują ścisłe reguły prowadzenia badań biorównoważności, a szczegółowe wymagania dotyczące tych badań w Unii Europejskiej przedstawiono w nowo opublikowanych zaleceniach CHMP (*Committee for Medicinal Products for Human Use* – Komitet ds. Spraw Leków Stosowanych u Ludzi) z 2010 r. zmieniających poprzednie zalecenia opublikowane w 2001 (9). Według ostatnich zaleceń CHMP, dwa produkty lecznicze uważa się za biorównoważne, jeśli są równoważne farmaceutycznie, a ich biodostępność po podaniu identycznej dawki molarnej leży w granicach wcześniej przyjętych odchyłań (11). Od 1 stycznia 2009 wszystkie leki generyczne zarejestrowane w Polsce spełniają wymagania rejestracyjne określone przez prawo farmaceutyczne UE. Podstawą ich rejestracji jest badanie biorównoważności.

Ekonomia i etyka

Przed 1984 r. do rejestracji każdego leku generycznego agencje rejestracyjne na świecie wymagały pełnych badań klinicznych, na setkach czy tysiącach pacjentów, takich jak w wypadku leków oryginalnych. Były to pełne badania skuteczności klinicznej, stanowiące powtórzenie badania III fazy leku oryginalnego. Ci, którzy są adwokatami klinicznych badań generyków nie zdają sobie sprawy, że takie badania musiałyby dzisiaj kosztować tyle samo co badania III fazy leku oryginalnego (setki milionów dolarów). Liczba ochotników w badaniu równoważności w porównaniu generyku z oryginałem, opartym na ocenie klinicznych punktów końcowych (np. zgon, zawał serca, udar) musiałaby bowiem wyrażać się w tysiącach chorych (takie badanie nie mogłoby być prowadzone na zdrowych ochotnikach!). Co więcej, takie badanie musiałoby dotyczyć każdego wskazania z osobna, wymagałoby ustalenia, o ile badany generyk może w zakresie badanych zmiennych (twarde: zgony, zawały serca, udary, utrata wzroku itd.; surogaty: ciśnienie krwi, poziom cholesterolu) różnić się od oryginału, by uznać go za równoważny, i byłoby wyzwaniem dla obowiązujących zasad etycznych. Obowiązująca zasada, tzw. equipoise (10) stanowi, że pacjent może być podany badaniu tylko wtedy, kiedy według najlepszej wiedzy badającego istnieje równorzędna szansa na pozytywny skutek w obu porównywanych grupach (to powód, dla którego Deklaracja Helsińska z 2000 r. zabrania badań leku w stosunku do placebo), a przecież w grupie z generykiem trudno założyć, że skutek działania będzie korzystny, gdyż niezarejestrowany generyk to nowy lek dotychczas nie przebadany. Nastąpiłby ogromny wzrost kosztów wprowadzenia na rynek leku generycznego, za który zapłaciłby pacjent i ubezpieczy-

ciel (NFZ). W okresie 1962–1984, kiedy wymagano pełnych badań klinicznych dla generyków, produkcja tych leków praktycznie zamarła. Długoletnia dyskusja nad takim stanem rzeczy doprowadziła do wniosku, że dobrobyt społeczeństw uległ obniżeniu, a firmy farmaceutyczne wytwarzające nowe leki wcale na tym „eldorado” nie zyskały – liczba rejestrowanych nowych leków spadła z 51 w 1961 r. do 20 w 1967 (4).

Podstawy naukowe

W latach 60. XX wieku nastąpił olbrzymi rozkwit nauki o receptorach, z którymi wiążą się leki. Wiązanie z receptorem na powierzchni komórki powoduje zmiany biochemiczne w jej wnętrzu i odpowiedź na bodziec. Bodziec jest zależny od stężenia leku w tzw. biofazie, co z kolei jest zależne od stężenia leku we krwi. Bez względu na to, jak skomplikowany jest związek między liczbą receptorów, stopniem powinowactwa do leku, obecnością receptorów zapasowych, aktywnością wewnętrzną leku itp. a stężeniem leku we krwi nie ulega wątpliwości, że „x” cząsteczek leku, które znajdują się w krwiobiegu, wywoła zawsze, z uwzględnieniem zmienności biologicznej, tę samą odpowiedź organizmu. Receptory są zwykle (poza receptorami np. na skórze, w przewodzie pokarmowym) niedostępne z zewnątrz i podanie leku dożylnie, do krwiobiegu, skąd lek przechodzi do biofazy, oznacza pełną, 100% biodostępność leku. Stwierdzenie to wynika z definicji biodostępności, określanej jako część niezmienną substancji aktywnej, która dostała się do krążenia ogólnego. Ponieważ po podaniu dożylnym niezmienną substancją aktywną dostaje się w całości do krążenia ogólnego, biodostępność wynosi 100%. Ta sama substancja aktywna pochodząca z dwóch różnych leków podanych dożylnie w tej samej dawce i z tą samą szybkością będzie działać tak samo, a jej biodostępność jest w obu przypadkach jednakowa (100%). W takiej sytuacji obydwa leki są biorównoważne. Stąd też dla rozróżnienia dwóch leków zawierających tę samą substancję aktywną, w tej samej dawce, np. leku oryginalnego i generycznego, nie wykonuje się badań biorównoważności.

Definicja leku generycznego

Powyższe rozważania doprowadziły do definicji produktu odtwórczego (generycznego). Definicja ta została zamieszczona w Dyrektywie 2001/83/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w art. 10 (2)(b). „Odtwórczy produkt leczniczy (tzw. generyk) to lek posiadający ten sam ilościowy i jakościowy skład substancji czynnych oraz tę samą postać farmaceutyczną jak referencyjny produkt leczniczy oraz którego biorównoważność względem produktu referencyjnego została udowodniona”. Fundamentalną rolę badania biorównoważności w dopuszczaniu do obrotu odtwórczych produktów leczniczych podkreśla Dyrektywa 2001/83/WE w art. 10 (1). Ta sama dyrektywa określa, w jakich sytuacjach nie są wymagane badania biorównoważności, przywołując kryteria określone szczegółowo w odpowiednich wytycznych. Także według zaleceń CHMP dwa produkty lecznicze uważa się za biorównoważne, jeśli są równoważne farmaceutycznie, a ich biodostępność po podaniu identycznej dawki molarnej leży w granicach wcześniej przyjętych odchyłań (11).

Piśmiennictwo:

1. Szumowski W.: Historia Medycyny. Warszawa, San-media, 1994.
2. Wulff H.R., Gotsche P.C.: Racjonalna Diagnostyka i Leczenie. Łódź, Aktis, 2005.
3. Spławiński J.: Receptariusz Szpitalny. Jaworzno, Unimed, 1998.
4. Getz T.E.: Ekonomia Zdrowia. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2000.
5. Szuba T.: Nazwy leków – problem międzynarodowy. Farmacja Polska 1982, 38: 489–493.
6. Kefauver E.: Study of Administrated Prices in the Drug Industry. US Senate. Report No. 448 (1961).
7. Katzung B.G. (red.): Basic & Clinical Pharmacology. New York, Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2004.
8. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: Approved Drug Product with Therapeutic Equivalence Evaluations. 25th ed., 2005.
9. Guideline on the Investigation of Bioequivalence, CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1/Corr. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). London, 2010.
10. Fries J.F., Krishnan E.: Equipoise, design bias, and randomized controlled trials: the elusive ethics of new drug development. Arth Res Ther 2004, 6: R250–R255.
11. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, CPMP/EWP/QWP/1401/98, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). London 2001.

2. Badanie biorównoważności

Zarówno elementy farmacji, nieodzowne w badaniu biorównoważności, jak i zasady prawne, sposób i rodzaj badania są wynikiem wieloletnich dyskusji naukowych, artykułów naukowych i podręczników. Ukoronowaniem prawie 20-letnich badań było przyjęcie zasad, które od 1984 r. stały się niepodważalne w USA i Unii Europejskiej. W Polsce ukazały się dwie publikacje, które dokładnie opisują sposób wykonania badania biorównoważności (1,2). Obecny tekst – pisany z punktu widzenia lekarza – ma owe publikacje uzupełnić przez położenie nacisku na wyjaśnienie podstaw i udzielenie odpowiedzi na wątpliwości wyrażane w różnych miejscach przez lekarzy i farmaceutów.

Wchłanianie leku: transport przez ścianę jelita

Ogólnie, biodostępność leku zależy od trzech czynników:

- szybkości i wielkości uwalniania substancji aktywnej z tabletki lub kapsułki (badanej w teście uwalniania – *dissolution test*);
- przenikania (*permeability*) przez ścianę jelita;
- metabolizmu w komórkach, przez które lek jest transportowany (komórki ściany jelita i hepatocyty), o ile taki istnieje (większość leków przenika przez ścianę jelita na zasadzie dyfuzji biernej).

Gdy lek podaje się doustnie, jego biodostępność w najlepszym razie może tylko zbliżyć się do 100%, zależnie od procesu wchłaniania. Proces ten nie może prowadzić do 100% dostępności, ponieważ, by ulec wchłonięciu, substancja czynna musi zostać przetransportowana przez ścianę jelita do krwi, w żyłę portalną,

a następnie – jeśli lek nie został podany w czopku dla ominięcia wątroby – przejść przez wątrobę, żeby dostać się do krążenia ogólnego. Innymi słowy, proces wchłaniania leku zaczyna się w komórce nabłonka jelitowego i kończy w hepatocycie, chyba że lek nie stanowi w ogóle substratu dla enzymów wątrobowych. Przy przechodzeniu przez komórki nabłonka jelitowego i podczas przechodzenia przez hepatocyty jakaś część substancji aktywnej zostaje zatrzymana, co zmniejsza dostępną ogólną leku.

Przewód pokarmowy, szczególnie jelita, służy do trawienia i wchłaniania pokarmu, ale także stanowi barierę dla toksyn, antygenów czy mikroorganizmów. Przejście leku doustnego przez barierę ściany jelita do krwi (ewentualnie też przez komórki wątrobowe) stanowi warunek jego działania w organizmie. Liczne czynniki fizjologiczne i biochemiczne kontrolują przenikalność cząsteczek przez ścianę jelita, a substancje pomocnicze obecne w tabletkach (kapsułkach) leku mogą mieć wpływ na proces przenikania substancji czynnej (Aneks: Wchłanianie leku: transport przez ścianę jelita).

Wspomniane składniki pomocnicze mogą zmieniać stopień wchłaniania z przewodu pokarmowego w zależności od wpływu tych składników na mechanizm transportu cząsteczek leku lub oddziaływanie na struktury biochemiczne ściany jelita i śródbrzońka. Jeśli budowa ściany jelita będzie odbiegała od normy (np. zmieniona chorobowo), może dojść do zamaskowania hamującego (lub pobudzającego) wpływu składnika pomocniczego, ponieważ brak pewnego enzymu czy transportera w błonie (wynikający z choroby) nie pozwoli na wykrycie interakcji składnika pomocniczego z brakującym elementem budowy ściany i wynik badania biorównoważności będzie zafałszowany. Stąd dużą wagę w badaniu biorównoważności przypisuje się prawidłowej budowie ściany jelita, gdyż podstawą tego badania jest możliwość dyskryminacji między wchłanianiem leku oryginalnego i generycznego. Dlatego tak ważne jest, by struktura ściany jelita była możliwie najbliższa fizjologicznej z zachowaniem wszystkich części składowych. Najkorzystniej byłoby odtworzyć *in vitro* strukturę ściany ze wszystkimi jej składnikami, enzymami, transporterami itp. i w tym jednym, niezmiennym, modelu badać przechodzenie tej samej substancji aktywnej z dwóch różnych tabletek, zawierających różne składniki pomocnicze. W takim układzie łatwo wykryć najmniejsze różnice pomiędzy przechodzeniem przez ścianę leku generycznego i referencyjnego, a celem badania biorównoważności jest właśnie wykrycie tych różnic. Gdyby taki teoretyczny model zmieniano w trakcie badania przechodzenia leków, tzn. stosowano do każdego eksperymentu inny model, różnice pomiędzy wchłanianiem substancji aktywnej z dwóch preparatów mogłyby zostać zatarte. Uwagi te mają służyć zrozumieniu, że najbliższe owego teoretycznego modelu są jelita zdrowych, młodych ludzi. W takich warunkach, nieomal identycznej budowy ściany jelita u 20–40 zdrowych osób, najłatwiej wykryć nawet subtelne różnice we wchłanianiu między dwoma preparatami, zawierającymi tę samą substancję czynną. Różnice te nie będą maskowane różnicami wynikającymi z różnic w budowie ściany jelita. Trzeba pamiętać, że w badaniu równoważności nie chodzi o określenie działania substancji aktywnej zawartej w dwóch różnych preparatach,

ale o wykrycie różnic we wchłanianiu, w jej przechodzeniu ze światła jelita do krążenia. Proponuje się, by badanie biorównoważności generyków stosowanych w chorobie Alzheimera przeprowadzać na osobach starszych (4). Jednakże jest kilka powodów przemawiających przeciwko takiemu pomysłowi. Istnieje prawdopodobieństwo, że u osób starszych, inaczej niż u młodych, występują większe różnice między osobnikami w budowie ściany jelita i składu komórek nabłonka. Z jednej strony, błony ściany jelita i śródbłonka u osób w zaawansowanym wieku mogą być mniej „wymagające” dla przechodzących cząsteczek leku, a z drugiej różnice między pojedynczymi starszymi osobnikami w budowie ściany jelita są z pewnością większe, niż te różnice między młodymi, zdrowymi osobami. W ten sposób zwiększałyby się różnice międzyosobnicze, które w końcu mogłyby być tak duże, że zamaskowałyby różnice (jeśli takie występują) pomiędzy wchłanianiem substancji aktywnej z leku oryginalnego i generycznego. Pomysłodawcy badania biorównoważności u osób starszych twierdzą – i słusznie – że farmakokinetyka u tych osób jest inna aniżeli u młodych. Zapominają jednak, że w badaniu biorównoważności nie chodzi o badanie farmakokinetyczne, ale wyłącznie o porównanie procesu wchłaniania tej samej substancji aktywnej z dwóch różnych tabletek; chodzi wyłącznie o wykrycie różnic między przechodzeniem ze światła jelita do krążenia substancji z leku oryginalnego a przechodzeniem tej samej substancji z leku generycznego. Po wchłonięciu, dalsze losy (dystrybucja, metabolizm, eliminacja) owej substancji identycznej w dwóch produktach będą takie same. Stąd wniosek, że technika badania musi być możliwie najbardziej czuła na wykrywanie różnic we wchłanianiu tej samej substancji, a nie na ich zacieranie. Jeśli badanie nie spełnia tego warunku – nie nadaje się do zastosowania. I tak, gdy po podaniu doustnym stężenie substancji aktywnej pochodzącej z dwóch różnych leków osiągnie ten sam poziom w krążeniu ogólnym, w tym samym czasie, bez względu na różne składniki pomocnicze (które po wchłonięciu substancji aktywnej „przestają się” liczyć), leki te będą działać tak samo (z uwzględnieniem praw odpowiedzi biologicznej – patrz niżej). W wypadku formy doustnej pomiar wielkości i szybkości zmian stężenia leku (obecnie nie wymaga się biorównoważności w zakresie aktywnego metabolitu, chyba że pomiar macierzystego leku nie jest możliwy) w surowicy, osoczu lub w pełnej krwi stanowi podstawę badania biorównoważności. Dla biorównoważności nie są istotne procesy dystrybucji, metabolizmu czy eliminacji leku, bo przy tej samej substancji muszą być takie same. Rola składników pomocniczych tabletek kończy się na poziomie wchłaniania leku i składniki te nie mają wpływu na dalsze jego losy w ustroju. Więcej na ten temat – Aneks: Wchłanianie leku: transport przez ścianę jelita.

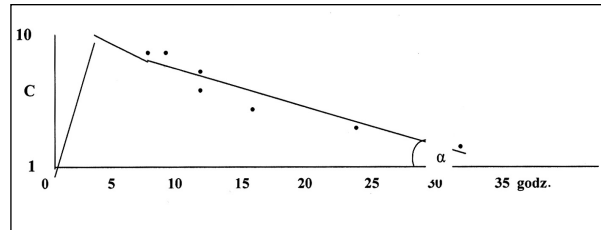
Piśmiennictwo:

1. Janicki S., Sznitowska M., Zieliński W.: Dostępność Farmaceutyczna i Dostępność Biologiczna. Warszawa, OIN „Polfa” Sp. z o.o., 2001.
2. Marzec A. (red.): Badania Dostępności i Równoważności Biologicznej. Warszawa, OIN OINPHARMA Sp. z o.o., 2007.

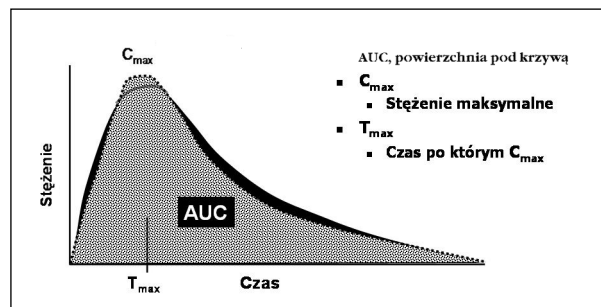
3. Stańczak A., Sońta K.: Leki oryginalne i leki generyczne: czy i kiedy możliwy jest konsensus? Almanach 2008, 3: 61–77.

3. Wchłanianie leku: charakterystyka procesu

Dwie wartości farmakokinetyczne (PK) charakteryzują wchłanianie: (a) AUC (*Area Under the Curve*), czyli powierzchnia pod krzywą, wykresu stężenia we krwi (surowicy, osocza lub pełnej krwi) względem czasu, i (b) stężenie maksymalne we krwi (C_{max}) (ryciny 1 i 2).



Rycina 1. Wyznaczenie stałej eliminacji, K_{el} . Na osi „y” stężenie leku (skala logarytmiczna!), na osi „x” – czas. Prosta opisująca krzywą eliminacji jest wynikiem zastosowania metody najmniejszych kwadratów – chodzi o to, by była przeprowadzona możliwie najdokładniej pomiędzy eksperymentalnie otrzymanymi punktami. Tangens kąta alfa jest równy K_{el} . C – stężenie



Rycina 2. AUC dwóch leków: referencyjnego (kropki) i badanego (ciągła linia). Rycina pochodzi z Orange Book (3)

Bezpośrednio po podaniu doustnym, poziom leku należy oznaczać możliwie często (np. co 10–15 minut), by możliwie najdokładniej uchwycić C_{max} . C_{max} jest najwyższym stężeniem leku we krwi jaki udało się oznaczyć, a czas w którym to zostało dokonane określa się terminem T_{max} . Wartości te nie stanowią wartości bezwzględnych, a ich względność polega na tym, że w dużym stopniu zależą od badającego. Jeśli próbki krwi są pobierane rzadko, np. co godzinę, można sobie wyobrazić, iż rzeczywista wartość C_{max} i T_{max} dla danej substancji aktywnej jest różna od oznaczonej. W wypadku badania biorównoważności nie ma to wielkiego znaczenia, ponieważ próbki krwi zarówno po podaniu leku badanego, jak i referencyjnego są pobierane zawsze w tym samym czasie – pokazuje to jednak, że staranność wykonania (częste pobieranie krwi) zbliża badającego do wartości rzeczywistych.

Wielkość AUC określa dokładnie ilość leku, która została wchłonięta i jest dla badania biorównoważności, szczególnie gdy lek stosuje się chronicznie i raz dziennie, wielkością najważniejszą. Powierzchnię pod krzywą stężenia leku

w czasie trzeba oznaczyć możliwie najdokładniej, co jest uwarunkowane dość długim pobieraniem krwi. Chodzi o to, że jeśli chcemy wykryć różnice we wchłanianiu leku generycznego w porównaniu z oryginalnym (istota badania biorównoważności), to trzeba porównać całkowite ilości wchłoniętego leku generycznego z oryginalnym. Czyli AUC – przy podaniu jednorazowym – powinno być oznaczone do nieskończoności. Jednak czułość metody analitycznej, stosowanej do pomiaru stężenia substancji aktywnej, jest zawsze ograniczona, co ogranicza nieskończenie długie oznaczanie leku w osoczu (surowicy, krwi). Wobec tego badający wykorzystuje następującą metodę: mierzy stężenia leku we krwi od czasu zero do ostatniego pobrania (tzw. AUC_{0-t}), a wartość AUC od zera do nieskończoności ($AUC_{0-\infty}$) otrzymuje, sumując wartość AUC_{0-t} z ilorazem stężenia ostatniego pomiaru (C_t) przez stałą eliminacji K_{el} : $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/K_{el}$. Odpowiednie programy komputerowe w sekundach po wprowadzeniu danych podają wartości: AUC_t , K_{el} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} i $t_{0,5}$.

Pierwszorzędowymi parametrami farmakokinetycznymi charakteryzującymi wielkość i szybkość wchłaniania po podaniu jednorazowym są: AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} i T_{max} . Parametrami drugorzędowymi są: T_{max} , K_{el} i $t_{0,5}$. Oznaczając powyższe parametry dla leku oryginalnego i generycznego, w tym samym doświadczeniu (patrz niżej) po podaniu jednorazowym, oceniamy biorównoważność.

Wymóg, by AUC_{0-t} stanowiło co najmniej 80% $AUC_{0-\infty}$ wynika po prostu z konieczności bardzo dokładnego wyznaczenia fazy eliminacji, która umożliwia obliczenie K_{el} (Aneks: Wchłanianie leku: charakterystyka procesu); gdyby wykres stężenia względem czasu nie obejmował co najmniej 3–4 punktów z fazy eliminacji, można by sobie prostą określającą fazę eliminacji ustawić pod dowolnym kątem i w ten sposób przez fałszywe oznaczenie K_{el} manipulować wielkością $AUC_{0-\infty}$ (patrz rycina 1: założmy, że pobieranie krwi kończymy w 10. godzinie, wtedy prosta określająca fazę eliminacji przebiega bardziej równoległe do osi „x”, aniżeli ta znaleziona po pomiarach we krwi do godziny 33. i tangens kąta alfa jest różny). Czułość badania po podaniu jednorazowym jest właśnie uzależniona od konieczności dokładnego wyznaczenia fazy eliminacji. W modelu wielokrotnego podania leku, w którym zwykle nie oznacza się $AUC_{0-\infty}$ (najbardziej wrażliwym parametrem jest różnica między stężeniem maksymalnym i minimalnym podzielona przez średnie stężenie leku, w procentach) nie uzyskuje się tak dużej czułości i możliwości dyskryminacji między dwoma badanymi produktami. W badaniu w stanie równowagi redukuje się zmienność i dlatego przy lekach o dużej zmienności, stosuje się model wielokrotnego podania. Odpowiedni wybór modelu badania, szczegółowy sposób postępowania, dyskusja na temat GCP (*Good Clinical Practice* – dobra praktyka kliniczna), a szczególnie wyjaśnienie równoważności farmaceutycznej (bez której nie można przystąpić do badania biorównoważności) są przedstawione w pozycjach piśmiennictwa (1) i (2), a także omówione w Rozdziale 5 (patrz też Aneks: Protokół badania). Za najważniejsze należy uznać zrozumienie, że w biorównoważności porównuje się wchłanianie tej samej substancji z dwóch różnych źródeł, a nie działanie tej substancji czy jej pełny profil farmakokinetyczny, i że badanie ma sens tylko wtedy, gdy umożli-

wi rozróżnienie stopnia wchłaniania, czyli jeśli jest wystarczająco czułe w tym zakresie. Jeśli bowiem badanie nie jest wystarczająco czułe, niewielkie różnice we wchłanianiu leku oryginalnego i generyku mogą zostać zamaskowane. Stąd urzędy rejestracyjne przykładają olbrzymią wagę do oceny czułości badania.

Piśmiennictwo:

1. Janicki S., Sznitowska M., Zieliński W.: Dostępność Farmaceutyczna i Dostępność Biologiczna. Warszawa, OIN „Polfa” Sp. z o.o., 2001.
2. Marzec A. (red.): Badania Dostępności i Równoważności Biologicznej. Warszawa, OIN OINPHARMA Sp. z o.o., 2007.
3. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: Approved Drug Product with Therapeutic Equivalence Evaluations. 25th ed., 2005.

4. Farmakodynamiczna/kliniczna ocena biorównoważności

Badania biorównoważności są oparte na ocenie surogatów zastępujących twarde punkty końcowe. Po pojedynczym podaniu leku niemożliwa jest ocena twardych punktów końcowych takich jak zgon, zawał, udar. Najczęściej wykorzystuje się parametry farmakokinetyczne (PK) (AUC_t , $AUC_{0-\infty}$, C_{max}) jako surogaty, co omówiono powyżej. Jednak, w pewnych okolicznościach (np. niemierzalne stężenie leku we krwi) niemożliwe jest wykonanie badania biorównoważności opartego na surogatach farmakokinetycznych (PK). Wykonuje się wtedy badanie oparte na odpowiedziach farmakodynamicznych (PD) (np. poziom glukozy czy agregacji płytek krwi) lub klinicznych (liczba stolców, zawartość tłuszczu w stolcu itp.). Trzeba pamiętać, że punkty końcowe, które nie ulegają zmianie bezpośrednio po podaniu leku (poziom cholesterolu, poziom hemoglobiny glikowanej itp.) nie nadają się do oceny biorównoważności.

Badanie biorównoważności oparte na farmakodynamicznym punkcie końcowym, czyli na określonym działaniu biologicznym leku jest przyjętym sposobem postępowania w zaleceniach EMA (Europejskiej Agencji Leków). Możliwe są różne efekty farmakodynamiczne (EMA nie precyzuje ich istoty), a wybór nie jest łatwy i zawsze musi być dobrze uzasadniony. Nadrzędnym celem jest wymiennosc kliniczna dwóch badanych leków, stąd reakcja farmakodynamiczna, na której oparta jest ocena, winna charakteryzować się następującymi cechami:

- powinna wiązać się z ostatecznym działaniem klinicznym (np. w wypadku leku zapobiegającemu zakrzepom żylnym powinno to być działanie skierowane na czynnik krzepnięcia krwi);
- winna być ściśle określona;
- powinna być mierzalna;
- winna charakteryzować się małą zmiennością;
- powinna umożliwić dyskryminację ilościową pomiędzy produktami;
- winna podlegać łatwej walidacji, tj. potwierdzeniu wyniku inną metodą.

Ogólnie wybór punktu końcowego jest trudny, ponieważ związek pomiędzy wchłanianiem leku a odpowiedzią jest skomplikowany i nie tak prosty jak między wchłanianiem a stężeniem leku we krwi. W badaniu PK bezpośrednio porównuje się wchłanianie leku oparte na poziomie leku we krwi, zaś w badaniu PD lub klinicznym antycypuje się wielkość wchłaniania na podstawie odpowiedzi końcowej; innymi słowy, w pierwszym badaniu wchłoniętą ilość leku podaje bezpośrednio wielkość AUC, w drugim końcowa odpowiedź biologiczna ma świadczyć o ilości wchłoniętego leku.

W badaniu farmakokinetycznym ilość leku we krwi (AUC) można mierzyć od chwili podania (dawka leku jest oparta na danych dla leku oryginalnego) i ilość ta wzrasta wraz z wchłanianiem leku do krwi. Jeśli więc w leku generycznym obecność jakiegoś składnika tabletki hamuje wchłanianie, wtedy mniej cząsteczek leku przejdzie do krwiobiegu i z wykresu stężenie leku w czasie odczyta się mniejszą wartość AUC. Tymczasem w badaniu farmakodynamicznym lub klinicznym punktem końcowym w zakresie odpowiedzi poniżej 25% i powyżej 85% odpowiedzi maksymalnej (na krzywej logarytm dawki vs odpowiedź) nie można zróżnicować stężenia, które je powodują. Jeśli krzywa dawka-odpowiedź jest płaska (tzn. kiedy zwiększenie dawki, na osi „x”, nie powoduje wzrostu odpowiedzi, na osi „y”), co ma miejsce w zakresie odpowiedzi od 0 do 25% i powyżej 85% odpowiedzi maksymalnej, nie można znaleźć różnic w wielkości odpowiedzi PD i wykrycie różnic we wchłanianiu leku staje się niemożliwe. Dlatego w badaniu biorównoważności, opartym na surrogacie PD lub klinicznym, należy wybrać dawki leku, które dają odpowiedzi w zakresie 25–85% odpowiedzi maksymalnej.

Rozróżnienie między dwoma lekami jest również niemożliwe u osobników: (a) u których nie można wywołać reakcji PD; zdarza się np. że ochotnik w ogóle nie reaguje agregacją na dany czynnik agregacyjny (jeśli zmienną badaną jest wielkość agregacji płytek) stosowany w metodzie badania, lub (b) którzy należą do osób w ogóle nie reagujących na badany lek antyagregacyjny (by badać efekt antyagregacyjny *ex vivo* trzeba najpierw wywołać agregację płytek krwi). Wprawdzie u takich osób lek może się wchłaniać (i dawać mierzalne stężenie we krwi), jednak z różnych powodów może nie wywoływać odpowiedzi biologicznej. Wszystkie te czynniki powodują, że przystępując do badania opartego na farmakodynamicznych punktach końcowych, należy przeprowadzić selekcję ochotników, by: (a) wybrać poziom badanej odpowiedzi (25–85% maksymalnej), (b) odrzucić wszystkich nie reagujących na czynnik wywołujący określoną reakcję PD oraz (c) odrzucić ochotników, którzy nie reagują na badany lek (1). Taka selekcja nie jest konieczna w wypadku farmakokinetycznych surogatów, wystarczy jeśli ochotnicy spełniają warunki pełnego zdrowia, abstynencji itp. (2,3), bowiem możliwość wykrycia leku we krwi nie zależy od indywidualnych cech badanych (np. wrażliwości na badany lek), ale od czułości zastosowanej metody do oznaczania leku we krwi.

Zgoda agencji rejestrujących na genotypowanie oznacza, że można przeprowadzać preselekcję ochotników, by uzyskać jednorodny materiał badawczy (patrz wyżej – uwagi na temat transportu leku przez ścianę jelita). Genotypowanie (4,5) może być zbyt kosztowne i wtedy można je zastąpić jednorazowym podaniem badanego leku generycznego i jednorazowym pobraniem krwi w czasie odpowiadającym C_{max} leku referencyjnego (znanego z litera-

tury). Można wtedy wykluczyć z badania ochotnika, u którego stężenie substancji aktywnej odbiega od wartości wskazanej w literaturze leku referencyjnego (ochotnik ten mógłby zafałszować całą statystykę stanowiącą podstawę populacyjnego podejścia do biorównoważności).

W omówionych wyżej badaniach, opartych na farmakodynamicznych punktach końcowych, należy zastosować układ krzyżowy (każdy ochotnik otrzymuje w losowo dobranej kolejności obydwa leki oddzielone właściwym – zwykle 5 razy $t_{0,5}$ – czasem wyplukiwania); niekiedy jest to układ niemożliwy do zastosowania – wtedy należy się posłużyć układem z równoległymi grupami ochotników.

Możliwe są również badania biorównoważności przeprowadzone na zwierzętach lub w wybranych modelach *in vitro*. Badania takie muszą być jednak bardzo dobrze uzasadnione, a ich walidacja może pochłonąć więcej czasu i wysiłku, niż proste badanie oparte na farmakokinetycznych surogatach.

Piśmiennictwo:

1. Spławiński J., Kuźniar J., Kurianowicz R., Wanczura P.: Bioequivalence of two preparations of ticlopidine evaluated by pharmacodynamics of platelet aggregation. *Int J Clin Pharmac Ther* 2005, 43: 452–456.
2. Janicki S., Sznitowska M., Zieliński W.: Dostępność Farmaceutyczna i Dostępność Biologiczna. Warszawa, OIN „Polfarm” Sp. z o.o., 2001.
2. Marzec A. (red.): Badania Dostępności i Równoważności Biologicznej. Warszawa, OIN OINPHARMA Sp. z o.o., 2007.
4. www.imm.ki.se/CYPalleles
5. Exploring pharmacogenetics in drug discovery and development. w: *Pharmacogenetics*. red. Shah R. Geneva, Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS), 2005.

5. Protokół badania

Najważniejszą częścią badania biorównoważności jest odpowiednie zaplanowanie badania przygotowane w formie protokołu badania. Koniecznie trzeba pamiętać, że protokół ten może być „szerszy” od samego badania; np. zaplanowanie większego marginesu dla C_{max} – o ile zezwalają na to właściwości leku – jest właściwym postępowaniem i stawia badającego po bezpiecznej stronie: jeśli bowiem C_{max} w wyniku badania zmieści się w granicach 0,8–1,25 łatwo wytłumaczyć nie wykorzystanie większego marginesu, w przeciwnym wypadku (C_{max} znalazł się poza marginesem, a w protokole nie zaplanowano takiej możliwości) agencja odrzuci wynik badania. Szersze omówienie tematu – patrz Aneks: Protokół badania.

6. Statystyczna ocena uzyskanych wyników (punkt widzenia lekarza)

Porównanie biodostępności tej samej substancji aktywnej pochodzącej z dwóch różnych leków nie jest zadaniem łatwym, ponieważ nie jest możliwe, by biodostępność substancji pochodzącej z dwóch różnych tabletek była taka sama. Tylko w drodze wyjątkowego przypadku

może się zdarzyć, że biodostępność będzie identyczna po dwóch podaniach leku, nawet wtedy, kiedy bada się (przykład teoretyczny) dwie tabletki zawierające tę samą substancję aktywną, tego samego producenta i pochodzące z tego samego opakowania. Dwie średnie AUC dla tego samego leku, otrzymane w dwóch grupach ochotników, będą praktycznie zawsze różne (1). Powodów jest kilka: nieuchronna obecność błędu przypadkowego (jeśli waży się kilka razy ten sam przedmiot, to za każdym razem otrzymuje się nieco różne wagi), błąd wynikający z błędów instrumentu pomiarowego i, najważniejszy powód, zmienność wewnątrzosobnicza. W biologii nie ma „tej samej” odpowiedzi i u każdego z nas ten sam lek będzie się nieco inaczej (inne AUC i C_{max}) wchłaniał rano, a inaczej wieczorem, decyduje o tym tzw. zmienność wewnątrzosobnicza (patrz niżej). W badaniu biorównoważności listę błędów uzupełnia jeszcze zmienność międzypersoniczna, czyli między badanymi ochotnikami, chociaż w badaniu z wykorzystaniem układu „na krzyż” jest ona znacznie ograniczona. Oczywiście, do różnicy między średnimi AUC będzie się „dokładać” różnica między dwoma produktami: oryginalnym i generycznym. Tak więc różnica między lekiem referencyjnym a generycznym obejmuje: błąd przypadkowy, błąd instrumentów, zmienność wewnątrzosobniczą i międzypersoniczną oraz, najważniejszą, różnicę pomiędzy badanymi lekami.

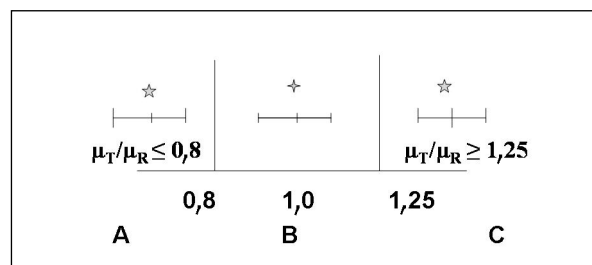
Statystyka nie może rozstrzygnąć kwestii, czy biodostępność substancji aktywnej z dwóch różnych leków jest identyczna, może natomiast odpowiedzieć na pytanie, czy biodostępność leku testowanego różni się znamienne od biodostępności leku referencyjnego. Jeśli między dwoma średnimi wartościami (np. wartości AUC) pochodzącymi z dwóch różnych leków nie stwierdzi się różnicy ze znamiennej wartością p, nie oznacza to, że biodostępność dwóch leków jest identyczna! Brak znamienności może wynikać z: (a) za małej liczebności badanych lub/i (b) małej mocy badania (w ocenie badania biorównoważności zarówno liczba badanych, jak i moc badania muszą być kontrolowane – patrz niżej). Oznacza to, że nie wolno uznać za biorównoważne dwa leki, dla których w odpowiednim badaniu nie wykazano znamiennej różnicy w zakresie AUC i C_{max} . Jeśli jednak porównanie zmiennej (AUC) w dwóch grupach badanych wykaże znamiennej ($p < 0,05$) różnicę, wtedy można powiedzieć, że dwa leki różnią się w zakresie AUC, czyli znamienne różnią się w ilości wchłoniętej substancji, ale – uwaga! – nadal mogą wykazywać biorównoważność (mimo znamiennej różnicy), która zależy od przyjętych granic 0,8–1,25 (patrz niżej). Znamiennej różnicy w ilości wchłoniętej substancji można zawsze otrzymać, zwiększając znacznie liczbę ochotników, ale biorównoważność może być nadal zachowana (patrz niżej). W statystyce obowiązuje zasada, że nawet minimalna różnica może stać się znamienne statystycznie, jeśli grupa badanych będzie zwiększana w nieskończoność. Tak więc, podając ten sam lek temu samemu osobnikowi, możemy doprowadzić do znamiennej różnicy we wchłanianiu, a przecież nie można zakwestionować biorównoważności!

Testy statystyczne wykorzystywane do oceny biorównoważności zakładają, że badane zmienne są rozłożone normalnie w obrębie każdej grupy, a ponadto, że wariancja (miara rozproszenia wyników) pomiarów jest jednakowa w grupach (tzw. homogeniczność wariancji). Wymagania

te można uzyskać po logarytmicznym przekształceniu danych, gdy ich rozkład przyjmuje kształt rozkładu normalnego i można przeprowadzać operacje opisane poniżej (2).

Podejście oparte na mocy badania (power approach)

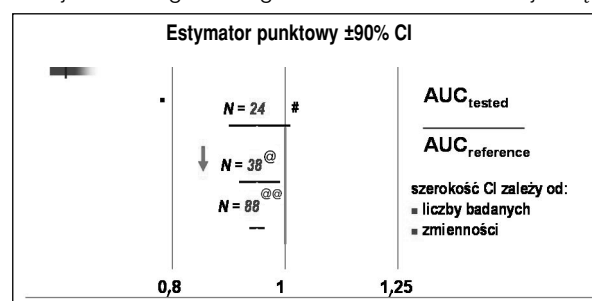
Z uwag zawartych w części „Statystyczna ocena uzyskanych wyników” wynika, że w naukach biologicznych niemożliwe jest wykazanie, iż pomiędzy dwoma rodzajami leczenia czy procedur nie ma różnicy i są one identyczne. Nigdy nie można bowiem wykazać, że dwie metody analityczne dają dokładnie tę samą odpowiedź. Ponieważ nie można wykazać idealnej równoważności, można określić, jakie różnice są tak małe, że nie mają żadnego znaczenia praktycznego. W tym celu ustala się zakres równoważności ($\pm 20\%$ lub $\pm 10\%$), a następnie sprawdza, czy 90% przedział ufności mieści się w tym zakresie (rycina 3).



Rycina 3. Stosunek μ_T do μ_R (μ – średnia, np. średnia AUC; T – testowany; R – referencyjny) łącznie z 90% przedziałem ufności w przykładzie B oznacza, że T jest biorównoważny z R. Ani w A, ani w C badane T i R nie są biorównoważne

Załóżmy, że przez środek litery „B” przechodzi pionowa linia, określająca idealny stosunek T do R, równy jeden. W takim wypadku przedział ufności obejmuje „1”. Teoretycznie, zmieniając wielkość liczby uczestników, N, można otrzymać wyniki takie jak pokazano na rycinie 4: wraz z wzrostem N – przy niezmięionej wartości estymatora punktowego (np. średniej AUC) i zmienności – zmienia się wielkość CI (przedział ufności) i przy N równej 88 występuje wysoka znamienne różnica, chociaż nadal biorównoważność jest dowiedziona, ponieważ estymator punktowy $\pm 90\%$ CI mieści się w granicach 0,8–1,25.

Innymi słowy, wartość AUC testowanego jest znamienne różna od referencyjnego, ale nadal lek jest biorównoważny (przedział mieści się w granicach $\pm 20\%$). Zasada jest następująca: najmniejsza różnica (w przypadku produkcji nawet tego samego leku taka różnica istnieje między



Rycina 4. Hipotetyczne badania, w których zwiększono liczbę uczestników z 24 do 88. N – liczba badanych; CI – przedział ufności; #Nie ma znamiennej różnicy między lekiem badanym i referencyjnym; @ $p < 0,05$; @@ $p < 0,01$

dzy seriami) stanie się znamieną statystycznie po zwiększeniu liczby badanych w nieskończoność. W praktyce jednak taki wynik się nie zdarza, być może dlatego, że liczba badanych jest zawsze ograniczona (z przyczyn etycznych – patrz Ekonomia i etyka). Niektóre agencje (Nowa Zelandia) arbitralnie ograniczają liczbę możliwych ochotników do 44.

Kiedy badanie biorównoważności upoważnia do wniosku, że stosunek danej zmiennej (np. AUC) leku generycznego do zmiennej (AUC) leku referencyjnego nie różni się znamienne od 1, czyli nie ma między nimi różnicy, należy przekonać się, czy uzyskany rezultat nie wynikał ze zbyt małej liczby badanych lub z niedostatecznej mocy badania. Gdyby np. badanie wykonano na niewielkiej grupie ochotników (powiedzmy 4), wtedy z dużym prawdopodobieństwem stosunek zmiennej leku badanego do referencyjnego nie różniłby się znamienne od 1, bowiem grupa badanych była za mała (patrz powyżej: przy istnieniu minimalnej różnicy zwiększanie liczby badanych zawsze doprowadzi do znamienego wyniku). Stąd ogólna zasada – dotycząca wszystkich badań – że brak znamiennej różnicy między dwoma estymatorami punktowymi nie oznacza, że taka różnica nie występuje. *Absence of evidence is not the evidence of absence*. Dopiero sprawdzenie, czy badanie posiadało odpowiednią moc pozwala na zweryfikowanie otrzymanego wyniku. I właśnie wymóg sprawdzenia mocy badania jest konieczny w metodzie statystycznej o nazwie *power approach* (Aneks: Statystyczna ocena uzyskanych wyników).

Możliwe są dwa rodzaje błędów w badaniu: błąd typu I (wynik fałszywie dodatni, w wypadku biorównoważności oznacza znalezienie znamiennej różnicy między lekami i odrzucenie badania) i błąd typu II (wynik fałszywie ujemny, w wypadku biorównoważności oznacza przyjęcie biorównoważności, chociaż powinna być odrzucona). Błąd typu II oznacza, że nie uchwycono prawdziwej różnicy między badanymi zmiennymi. Innymi słowy, badanie wskazuje na biorównoważność, ponieważ popełniono błąd typu II. Błąd ten kontroluje się przez ocenę mocy badania: jeśli błąd wynosi 10%, to moc 90%; jeśli błąd wynosi 20%, to moc 80%. Moc to pomiar możliwości wykrycia różnicy między estymatorami (średnimi charakteryzującymi zmienne obu leków). Moc określa, czy badanie było wystarczająco czułe do wykrycia różnicy; jeśli jest niska (< 80%), wtedy biorównoważność będzie „wychodzić”; naraża się wtedy pacjenta na ryzyko zastosowania leku generycznego, nie-równoważnego (taki błąd często określa się mianem „ryzyko konsumenta”). Ponieważ jest to ryzyko, które należy zminimalizować, obliczenie mocy badania jest jedną z najważniejszych jego cech; wysoka moc oznacza dużą szansę na wykrycie nie-biorównoważności. Stąd wynik badania wskazujący na biorównoważność przy wysokiej mocy badania jest bardziej wiarygodny od takiego, w którym tej wysokiej mocy nie można wykazać. Moc badania zależy od 3 czynników: (a) od wielkości różnicy między średnimi parametrów farmakokinetycznych (np. AUC) dla dwóch badanych leków, (b) od liczby badanych – im większa liczba, tym większa moc, (c) od wariacji (zmienności, rozproszenia wyników) w obu badanych grupach (3).

Kolejnym ważnym czynnikiem jest liczba wymaganych ochotników. Liczbę tę należy zawsze obliczyć dla konkret-

nego badania, nie może być „dana” przez jakiś przepis czy zwyczaj. Liczba wymaganych ochotników zależy od: (a) mocy badania – wymagana jest moc co najmniej 80%, (b) wariacji (zmienności) w obu badanych grupach – im większa wariacja, tym większa liczba ochotników jest wymagana, (c) wielkości różnicy między estymatorami punktowymi (najczęściej średnie AUC obu leków). Odpowiednia liczba gwarantuje wystarczającą moc do wykrycia nie-biorównoważności. Najczęściej oblicza się tę liczbę na podstawie badania uprzednio przeprowadzonego – niestety, nie zawsze jest takie dostępne. Pomocne są wzory lub tablice, w których można znaleźć przewidywaną liczbę koniecznych ochotników do badania, pod warunkiem, że zna się (w przybliżeniu) możliwą wariację (opartą na CV [*Coefficient of Variation*]) i prawdopodobny stosunek μ_T do μ_R (4,5).

Powyższy opis pokazuje jak mocno obwarowana musi być metoda statystyczna, w której zasadniczym punktem jest wątpliwość dotycząca błędu typu II. Informacje o metodach oceny statystycznej uzyskiwanych wyników w badaniach biorównoważności przedstawiono w Aneksie: Statystyczna ocena uzyskanych wyników.

Piśmiennictwo:

1. Jackson A.J. (red.): Generics and Bioequivalence. Library of Congress, 1994.
2. Ferguson G.A., Takane Y.: Analiza Statystyczna w Psychologii i Pedagogice. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2003.
3. Rowe P.: Essential Statistics for the Pharmaceutical Sciences. West Sussex, John Wiley & Sons, 2007.
4. Diletti E. i wsp.: Sample size determination: extended tables for the multiplicative model and bioequivalence ranges of 0.9 to 1.11 and 0.7 to 1.43. *Int J Clin Pharm Ther Tox* 1992, 30 (Suppl 1–1992): S59?S62.
5. Chow S.-C., Wang H.: On sample size calculation in bioequivalence trials. *J Pharmacokin Pharmacodyn* 2001, 28: 155–169.

7. Zakres biorównoważności

Dla uznania biorównoważności w badaniu po jednorazowym podaniu opartym na pomiarze farmakokinetycznych punktów końcowych (AUC_{0-t} , AUC_{0-inf} , C_{max} , dane zlogarytmowane) stosunek leku testowanego do referencyjnego wraz z 90% przedziałem ufności musi się zmieścić w zakresie: powyżej 80,00% (po zaokrągleniu do dwóch miejsc po przecinku) i poniżej 125% (po zaokrągleniu do dwóch miejsc po przecinku). Kiedy przeprowadza się badanie w stanie stacjonarnym analizuje się zmienne: AUC_{0-t} , C_{max} , i stosuje taki sam zakres jak podano powyżej. Nie wymaga się statystycznej analizy dla wartości T_{max} (ta wartość jest bardzo zależna od eksperymentatora), z wyjątkiem sytuacji, gdy szybkość wchłaniania leku ma kliniczne znaczenie (1).

W pewnych okolicznościach możliwy jest szerszy zakres aniżeli 80–125, ale tylko dla C_{max} i tylko wtedy, gdy zostanie uzasadniony w protokole badania. Uzasadnieniem jest stwierdzenie zmienności wewnątrzsobniczej przekraczającej wartość 30%. Taką wysoką zmienność wewnątrzsobniczą wykazują leki o wysokiej zmienności (*Highly Variable Drug Product*, HVDP). Badanie biorównoważności leków HVDP musi być przeprowadzone w układzie z po-

wtórzeniem w czterech okresach (każdy badany otrzymuje produkt referencyjny i badany w dwóch okresach), co pozwala na określenie wielkości zmienności wewnątrzsobniczej. Przy współczynniku zmienności (CV) równym 35% zakres C_{max} można poszerzyć do 77,23–129,48%, a maksymalnie – przy CV równym ponad 50% – można przyjąć zakres od 69,84% do 143,19% (1).

W wypadku leków o wąskim indeksie terapeutycznym (*Narrow Therapeutic Index*, NTI), tzn. w sytuacji, kiedy poziom leczniczy leku we krwi jest bliski poziomu toksycznego, zakres możliwy do akceptacji dla AUC musi się zmieścić w granicach 90,00–111%. Podobnie zakres dla C_{max} , szczególnie gdy wymagają tego względy bezpieczeństwa. Wytyczna badania biorównoważności z 2010 r. (1) nie podaje definicji leku NTI i panuje przekonanie, że należy o tym zdecydować zależnie od przypadku, a podstawą do zaszeregowania leku do grupy NTI jest stosunek dawki LD50 (dawka śmiertelna u 50% poddanych działaniu) do dawki ED50 (dawka skuteczna u 50% poddanych działaniu) (2).

Leki NTI często służą przeciwnikom leków generycznych jako argument przemawiający za niewymienialnością terapeutyczną generyków z lekami oryginalnymi. Tymczasem jest to nieporozumienie. Dopuszczenie generyków do rynku w wypadku leków NTI miało na celu obniżenie cen tych leków, szczególnie że w tej grupie znajdują się bardzo drogie leki stosowane w transplantologii. Jednak w grupie NTI nie należy zamieniać leku oryginalnego na jego odpowiednik generyczny lub generyku (jeśli został zastosowany jako pierwszy) na oryginalny tylko dlatego, że w terapii lekami NTI nie powinno się w ogóle zmieniać leku, którym rozpoczęto leczenie (niezależnie od tego, czy jest to lek referencyjny, czy jego generyk). Jeśli jednak konieczna jest zamiana, wolno ją wykonać jedynie pod warunkiem ścisłego monitorowania stężenia we krwi.

Liniowość

Szybkość wchłaniania leku zależy od kinetyki tego procesu, która może być pierwszego lub zerowego rzędu. Kinetyką pierwszego rzędu określaną jest proces, w którym lek jest wchłaniany z szybkością proporcjonalną do ilości możliwej do przeniesienia, czyli ilości znajdującej się w świetle jelita. Zgodnie z definicją kinetykę pierwszego rzędu obserwuje się wtedy, gdy proces przebiega z szybkością proporcjonalną do stężenia jednego z reaktantów. Kiedy stężenie leku na początku procesu wchłaniania jest wysokie, szybkość przechodzenia przez błony jest duża, gdy zaś stężenie maleje dochodzi do zmniejszenia szybkości transportu biernego leku. Tak przedstawia się wchłanianie w procesie dyfuzji biernej dotyczącej większości wchłanianych leków. Zachowana jest proporcjonalność między dawką a wyznaczonym polem AUC. Transport (dyfuzja) bierny odbywa się zgodnie z gradientem stężeń i dotyczy niezjonizowanej cząsteczki leku (3,4).

Niektóre leki wymagają obecności nośnika w błonie komórkowej nabłonka jelitowego. Wtedy, dopóki cząsteczki leku nie wysycą możliwości nośnika, szybkość przechodzenia przez błonę przebiega zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. Kiedy jednak dochodzi do wysycenia nośnika, wtedy szybkość przechodzenia jest stała i bez względu na wielkość stężenia leku nie ulega zmianie, ponieważ nośnik „pracuje” na swoich

maksymalnych obrotach. To kinetyka zerowego rzędu. Z taką samą szybkością (zerowego rzędu) przebiega reakcja enzymatyczna po wysyceniu enzymu – jest ona niezależna od stężenia substratu. Ogólnie uważa się, że kiedy stężenie substratu znajduje się poniżej stałej Michaelisa-Menten, szybkość reakcji enzymatycznej przebiega zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu, a gdy stężenie substratu przekracza wartość tej stałej, szybkość zbliża się do kinetyki zerowego rzędu. Kiedy kinetyka pierwszego rzędu zmienia się w kinetykę zerowego rzędu, mówi się o kinetyce zależnej od dawki. I rzeczywiście, w wypadku transportu aktywnego lub dyfuzji ułatwionej (tj. tam gdzie we wchłanianiu pośredniczy nośnik), kiedy transporter (enzym) jest wysycony, wzrost stężenia leku na powierzchni nabłonka jelitowego (np. przez zwiększenie dawki) nie prowadzi do proporcjonalnego wzrostu stężenia we krwi (4). Podobnie, jeśli transporter pośredniczy w wydalaniu leku i zostanie wysycony, wtedy zwiększenie dawki leku może prowadzić do znacznego wzrostu stężenia leku we krwi.

Jeśli po zwiększeniu dawki leku, AUC wzrasta nieproporcjonalnie, w planowanym badaniu biorównoważności należy zastosować najwyższą moc leku, jeśli – z kolei – po zwiększeniu dawki następuje mniejszy niż proporcjonalny przyrost AUC, badanie należy wykonać przy najniższej i najwyższej mocy leku. Do leków charakteryzujących się nieliniową farmakokinetyką należą: salicylany, fenytoina, karbamazepina, dizopiramid, glikokortykoidy, lewodopa, propranolol, ryfampicyna, werapamil, fluorouracyl i kwas walproinowy.

Badanie dwuetapowe

Nowe wytyczne (1) po raz pierwszy dopuszczają możliwość wykonania badania w dwóch etapach, pod warunkiem przedstawienia takiego planu w protokole badania. Można więc zbadać najpierw grupę probantów o liczebności np. 12, wyniki zanalizować i przy braku biorównoważności, równocześnie posiadając dane sugerujące, że badanie biorównoważności powinno wypaść pozytywnie, wykonać następnie badanie u np. 12 probantów i wyniki połączyć. By zastosować ten wygodny model (pozwała zaoszczędzić czas i pieniądze) trzeba spełnić kilka warunków: dokładnie określić liczbę probantów, po której zatrzymuje się badanie i wykonuje pierwsze wyliczenie biorównoważności, przedstawić metody adiustacji błędów i rodzaju błędów oraz – po konsultacji ze statystykiem – wprowadzić wszystkie zamierzenia (w tym wykonanie badania w dwóch etapach) do protokołu. Doświadczenie uczy, że zaplanowanie wszystkich możliwości w protokole badania jest później podstawą do ich wykorzystania. Warto pamiętać, że zarzuty ze strony agencji rejestracyjnych, iż zaplanowane np. rozszerzenie granic biorównoważności dla C_{max} (w miejsce 0,8–1,25 planowane 0,77–1,29) było niepotrzebne (bo wyniki C_{max} zmieściły się w granicy 0,8–1,25), można skwitować jednym zdaniem komentarza: gdyby C_{max} w badaniu wypadło poza granice 0,8–1,25, a poszerzenie granic nie było planowane w protokole, wtedy całe badanie jest do odrzucenia. Umiejętność przewidywania niekorzystnych wyników badania biorównoważności i wprowadzenie odpowiednich zapisów w protokole nadzwyczaj ułatwia otrzymanie pożądanego efektu.

Jakość badań biorównoważności

Jak w każdym badaniu, także i w badaniu biorównoważności, możliwe są fałszerstwa. O ile producenci leków innowacyjnych są pod kontrolą całego świata naukowców i klinicyстів (a i tak od czasu do czasu media są wstrząsane wiadomościami o świadomych nieprawidłowościach w badaniach nowych leków), o tyle producenci leków generycznych są pod kontrolą wyłącznie agencji rejestracyjnych. Dzieje się tak dlatego, że badania fazy III służące do rejestracji leków innowacyjnych są publikowane, dostępne dla wszystkich, jeśli badanie zostało przedstawione w FDA. EMA obiecuje, że pracuje nad znalezieniem środków umożliwiających dostęp do danych z planowanych i przeprowadzonych badań klinicznych (5). Podobny sposób postępowania już jakiś czas temu przyjęła FDA, która wymaga tzw. *Premarket Approval* – dokumentu zawierającego informacje na temat badania klinicznego, do użytku przez naukowców, lekarzy, a nawet pacjentów (6). W czerwcu 2009 FDA zaanonsowała *FDA Transparency Initiative*, która oznacza szeroki dostęp do dokumentów posiadanych w biurze i która jest odpowiedzią na memorandum prezydenta Obamy i ogłoszenie tzw. *Open Government Directive* (7). Jawność dokumentacji klinicznej składanej w agencjach rejestracyjnych jest znaczna, ale nie obejmuje (jeszcze?) badań biorównoważności, które są znane wyłącznie tejże agencji. Pełny dostęp do wyników tych badań mógłby korzystnie wpłynąć na jakość badań, a także zniechęcić do fałszerstw (8).

Prowadzona przez 10 lat kontrola badań biorównoważności przez agencję francuską na czterech kontynentach i w 20 krajach wykazała, że mniej lub bardziej świadome nieścisłości w badaniach zdarzają się często i dotyczą (w kolejności stopnia niebezpieczeństwa):

- identyfikacji produktów zastosowanych w badaniu (brak właściwych opakowań, brak pośrednictwa firmy CRO, brak protokołu użycia);
- dokumentacji serii leków;
- jakości badań laboratoryjnych ochotników (ochotnicy są zdrowi i zdarza się, że badający nie przykładają wagi do wyników laboratoryjnych);
- zapisywania i interpretacji wyników w części analitycznej (najczęściej: walidacja metody nie jest właściwa);
- odrzucania odstających (niewygodnych) wyników;
- (rzadko): błędów w obliczeniach AUC, błędów w zastosowanych stężeniach standardu.

W rezultacie agencja francuska w ciągu 10 lat wycofała 3 leki i 3 wnioski rejestracyjne oraz nakazała korektę danych w 6 przypadkach.

Jednocześnie, analiza 2070 badań przeprowadzonych w latach 1996–2007 wykazała, że średnia różnica we wchłanianiu leku generycznego i oryginalnego wynosiła 3,5% (9). W 1999 r. oceniono 127 badań biorównoważności umieszczonych (w 1997 r.) w aktach rejestracyjnych produktów odtwórczych w USA (10). Stwierdzono, że różnice między lekiem odtwórczym a referencyjnym w parametrze AUC_{0-t} wynosiły średnio +3,25%. Podobna analiza przeprowadzona w 2005 r., obejmująca 1636 badań biorównoważności, wykazała różnicę w AUC_{0-t} między lekiem odtwórczym i referencyjnym +3,19% (10). Stwierdzono wówczas, że analiza retro-

spektywna wszystkich aplikacji leków generycznych wykazała, że jeżeli wartość C_{max} i AUC_{0-t} mieściły się w przedziale 0,8–1,25, to wówczas różnice w dostępności obu leków mieściły się w granicach $\pm 5\%$ (10). Ponadto, w analizie 38 opublikowanych badań, w których porównano działanie oryginalnych leków krążeniowych z ich generykami nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnic (11). Podobną identyczność działania opisano dla leków stosowanych w schizofrenii (12). Należy więc z całą stanowczością podkreślić, że dopuszczane produkty odtwórcze w oparciu o aktualny stan wiedzy, w tym w oparciu o aktualne zalecenia EMA, FDA, Health Canada, są dobrej jakości, bezpieczne i skuteczne. Dopuszczenie do obrotu produktu odtwórczego opiera się na identycznej jakości produktu jak lek referencyjny (w tym odnośnie części zamkniętej DMF) i udowodnionej biorównoważności. Można więc powiedzieć, że kolejna odpowiedź terapeutyczna po zamianie leku oryginalnego na generyczny (z wyjątkiem leków NTI – patrz wyżej) będzie taka jakby tego leku w ogóle nie zamieniono.

Piśmiennictwo:

1. Guideline on the Investigation of Bioequivalence. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). London, 20 January 2010.
2. Bourne H.R., von Zastrow M.: Drugs Receptors & Pharmacodynamics. w: Basic & Clinical Pharmacology. red. Katzung B.G. New York, McGraw-Hill, 2004: 11.
3. Benet L.Z. i wsp.: Pharmacokinetics. w: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. red. Hardman J.G., Limbird, J.E. New York, McGraw-Hill, 1996.
4. Notari R.E.: Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. New York, Marcel Dekker, 1971.
5. Minutes of the 67th Meeting of the Management Board, London, 10 June 2010.
6. www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/PublicDisclosure
7. FDA Transparency Initiative: Draft proposals for public comment regarding disclosure policies of the U.S. Food and Drug Administration. Transparency Task Force U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, May 2010. <https://www.trialstransformation.org>
8. Marzo A., Fibbioli M.: Could publication of bioequivalence data discourage frauds on bioequivalence trials? Clin Res Reg Affairs 2002, 19: 63–66.
9. Davit B.M. i wsp.: Comparing Generic and Innovator Drugs: A Review of 12 Years of Bioequivalence Data from the United States Food and Drug Administration. Ann Pharmacother 2009, 43: 1583–1597.
10. Peters J.R. i wsp.: Generic drugs – safe, effective, and affordable. Dermatol Ther 2009 May, 22 (3): 229–240.
11. Kesselheim A.S. i wsp.: Clinical Equivalence of Generic and Brand-Name Drugs Used in Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA 2008, 300: 2514–2526.
12. Olorunfoba O. i wsp.: Does Therapeutic Equivalence Follow Bioequivalence? A Randomized Trial to Assess Clinical Effects After Switching From Clozaril to Generic Clozapine (Gen-Clozapine). J Clin Pharm 2010, 50: 531–535.

8. Dyskusja

Porównanie dwóch produktów leczniczych zawierających tę samą substancję leczniczą wymaga wykonania badań równoważności terapeutycznej, by móc w leczeniu chorego zastąpić jeden produkt drugim. W praktyce regulacyjnej uważa się, że dla tych samych substancji czynnych wystarczy wykonać badanie biorównoważności. Pogląd ten opiera się na fundamentalnym założeniu, że u tej samej osoby podobne krzywe stężenia substancji leczniczej w czasie prowadzą do bardzo podobnych efektów klinicznych (identycznych efektów nie obserwuje się nawet wtedy, gdy temu samemu choremu podajemy ponownie ten sam lek). Zatem dane farmakokinetyczne mogą zastąpić równoważność terapeutyczną.

Mimo wszystkich argumentów przedstawionych powyżej, coraz częściej kwestionuje się zasadność i tryb dopuszczania do obrotu produktów odtwórczych (generyków) (1,2). Jest to zjawisko niepokojące, podważa bowiem zaufanie do powszechnie obowiązujących zasad dopuszczania do obrotu produktów leczniczych, a zarazem ogranicza powszechną dostępność farmaceutyków dla społeczeństwa.

Pierwsze prace nad wykorzystaniem badań biorównoważności i określeniem ich standardów wykonania pochodzą z wczesnych lat 70. XX wieku. W 1986 r. w USA pojawiły się głosy podważające możliwość zamiany biorównoważnych produktów w procesie leczenia. Na skutek tych obaw powołano grupę roboczą oceniającą dotychczas stosowane procedury i analizy statystyczne w porównywaniu produktów leczniczych w postaci stałej.

Od tego czasu doszło do ogromnego postępu w zasadach dopuszczania do obrotu produktów leczniczych przez narodowe i ponadnarodowe organy (FDA, EMA). W wielu przypadkach doszło do standaryzacji metod badawczych. Wyniki wielu badań i metaanaliz (patrz wyżej) dowiodły, że badanie biorównoważności zapewnia pełną wymienną terapeutyczną między lekiem oryginalnym a odtwórczym, z wyjątkiem leków o wąskim indeksie terapeutycznym (NTI; patrz wyżej), ponieważ w tych wypadkach wymienną terapeutyczną musi być połączona z monitorowaniem stężenia leku w osoczu.

Piśmiennictwo:

1. Woroń J., Kostka-Trąbka E., Korbut R.: Leki oryginalne czy generyczne w farmakoterapii kardiologicznej? Jak dokonać racjonalnego wyboru? *Terapia* 2010, 1: 79–81.

2. Splawiński J.: Komentarz do artykułu „Leki oryginalne czy generyczne w farmakoterapii kardiologicznej? Jak dokonać racjonalnego wyboru?”. *Terapia* 2010, 4, 2: 67–68.

9. Podsumowanie

Wprowadzenie „skróconej” rejestracji leków-odpowiedników (generycznych) na podstawie badania biorównoważności było wielkim osiągnięciem farmaceutycznym, które umożliwiło zaoszczędzenie olbrzymich funduszy bez zmniejszenia jakości produktów leczniczych i jakości leczenia. Równocześnie, prawo własności intelektualnej – ochrona patentowa, dodatkowa ochrona patentowa oraz

przedłużenie ochrony patentowej w wyniku prowadzenia dodatkowych wskazań, a także wyłączność danych rejestracyjnych stanowią korzystne zabezpieczenie interesów firm innowacyjnych, bez których trudno sobie wyobrazić dzisiejszy dynamiczny rozwój medycyny. Innymi słowy, obecne regulacje rejestracyjne upoważniające do wprowadzenia leku na rynek wydają się być w pełni zadowalające i bezpieczne. Zdarzają się napaści na leki generyczne, ale jak to ujął Kesselheim i wsp. (1) są one oparte na anegdotycznych przekazach, a nie klinicznym doświadczeniu i prawdopodobnie wynikają z *financial relationships of editorialists with brand-name pharmaceutical companies*. Nie ma lepszej kontroli (a na kontrolę państwową stale zmniejszają się fundusze) aniżeli konkurencja, stąd postulowana wcześniej jawność wszystkich badań mogłaby się przyczynić do łatwiejszego wykrywania uchybień. Obecnie wszystkie produkty generyczne (osobny rozdział to leki NTI – patrz powyżej) są w pełni wymienne z oryginalnymi, a przedstawione wyżej elementy medycznej oceny leków generycznych powinny być znane każdemu lekarzowi wypisującemu receptę.

Piśmiennictwo:

1. Kesselheim A.S. i wsp.: Clinical Equivalence of Generic and Brand-Name Drugs Used in Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA* 2008, 300: 2514–2526.

ANEKS

Wchłanianie leku: transport przez ścianę jelita

Ogólnie, biodostępność leku zależy od 3 czynników: szybkości i wielkości uwalniania substancji aktywnej z tabletki lub kapsułki, przenikania przez ścianę jelita oraz metabolizmu w komórkach, przez które lek jest transportowany, o ile taki istnieje.

Przenikanie leku przez kilka błon i cytozol komórki nabłonka jelitowego (oraz śródbłonek naczyń) może stanowić: (a) dyfuzję bierną niezjonizowanej cząsteczki leku (zgodnie z różnicą stężeń), przy czym dyfuzja ta nie może zostać wysycona (tzn. im więcej cząsteczek leku dotrze do ściany jelita, tym więcej przedostanie się do krwi) i nie jest hamowana przez obecność cząsteczek innych leków; (b) dyfuzję ułatwioną, która przebiega zgodnie z różnicą stężeń, bez konieczności dostarczenia energii, ale cząsteczki leku są przenoszone za pomocą białkowego nośnika, którego zdolność do przenoszenia może zostać nasycona – dyfuzja ta może być hamowana przez obecność innych cząsteczek posiadających powinowactwo do nośnika; (c) aktywny transport (tak jak dyfuzja ułatwiona, ale „pod górę” stężeń i wymaga dostarczenia energii).

Najłatwiej przechodzą przez błony cząsteczki niezjonizowane i rozpuszczalne w tłuszczach, które jednak muszą być również rozpuszczalne w wodzie, by „przebić się” przez warstwę wody znajdującą się na kosmkach jelitowych. Własności te zależą od natury leku (leki mogą być kwasami, zasadami itd.), jak i od pomocniczych składników tabletki, kapsułki czy zawiesiny. W komórcie nabłonka znajdują się enzymy metabolizujące leki należące do grupy cytochromu P450 (CYP3A4) i białko glikoprote-

ina P (P-gp), którego funkcja polega na zawracaniu cząsteczek z powrotem do światła jelita (podobne układy znajdują się w hepatocytach), oraz inne białka o znanej i nieznannej jeszcze funkcji w transportowaniu cząsteczek leku. Oznacza to, że cząsteczka może wielokrotnie przechodzić ze światła jelita do komórki nabłonka i z powrotem do światła, a równocześnie w komórce może być narażona na działanie enzymu. Znanych jest wiele substancji (w tym leków), które nasilają bądź hamują enzym CYP3A4 lub białko P-gp w komórce nabłonka jelitowego lub w hepatocytach. Takie substancje, np. te, które hamują P-gp, ale nie wpływają na CYP3A4, mają dwukierunkowy wpływ na AUC: zwiększają AUC na poziomie jelita (zwiększa się przechodzenie leku do krwi), ale zmniejszają na poziomie hepatocytów (zwiększa się ekstrakcja w wątrobie). Stąd prosty wniosek, że składniki pomocnicze leków nie są dla procesu wchłaniania obojętne (mogą zwalniać lub przyspieszać wchłanianie); wobec tego dwa leki pochodzące z różnych firm zawierające tę samą substancję czynną, w tej samej formie tabletki i w tej samej dawce mogą działać z różną szybkością i siłą, ponieważ składniki pomocnicze np. w tabletkach mogą opóźniać lub zmniejszać wchłanianie aktywnej substancji. Właśnie badanie biorównoważności i tzw. *dissolution test* ma wykazać, czy zastosowane składniki pomocnicze nie wpływają na wchłanianie aktywnej substancji.

Wchłanianie leku: charakterystyka procesu

AUC, czyli pole pod krzywą opisującą stężenie leku w czasie, oznacza się metodą trapezów, tj. zsumowania pól trapezów i trójkątów znajdujących się pod krzywą – pracę wykonuje odpowiedni program komputerowy. K_{el} oblicza się ze wzoru: $0,693/t_{0,5}$, gdzie $t_{0,5}$ to czas półtrwania (0,693 pochodzi z wyrażenia $\ln 0,5$, ponieważ czas półtrwania to czas po którym stężenie leku spadnie o połowę, czyli $C_t/C_0 = 0,5$). Jeszcze łatwiej znaleźć K_{el} , przedłużając na wykresie liniowym prostą opisującą fazę eliminacji i odczytując tangens alfa (stosunek odcinka a do b), a $t_{0,5}$ przez znalezienie na osi „y” wartości stężenia o połowę mniejszego od dowolnie wybranego na tej osi i odczytanie odpowiadających im wartości t_1 i t_2 z osi „x”; różnica: $t_2 - t_1$ to właśnie $t_{0,5}$.

AUC jest parametrem podstawowym (określa ilość cząsteczek w krążeniu) i dlatego muszą być spełnione określone warunki pomiaru. Konieczne jest tak długie pobieranie leku, by otrzymany wykres stężenia w czasie obejmował znaczną część fazy eliminacji, wytyczne żądają, żeby AUC_{0-t} stanowiło nie mniej niż 80% $AUC_{0-\infty}$. Takie żądanie wynika z prostego stwierdzenia: kiedy AUC_{0-t} stanowi mniej niż 80% $AUC_{0-\infty}$, np. tylko 40% (jak na rycinie 1, w przypadku zakończenia pobierania krwi po 10 godzinach), wtedy nie wiadomo, jak wygląda faza eliminacji, jak położona jest prosta opisująca tę fazę, a jakkolwiek zmiana kąta nachylenia tej prostej dramatycznie zmienia wartość K_{el} i przez to najważniejszy parametr: $AUC_{0-\infty}$. By wyznaczyć wystarczająco długi czas pobierania próbek krwi, należy kierować się czasem półtrwania leku: po okresie czasu równym 5 okresom półtrwania, poziom leku nie przekracza 4%. Gdy w najczęściej stosowanym, krzyżowym modelu badania biorównoważności przy drugim podaniu obserwuje się wyższy, niż przy pierwszym podaniu poziom leku, należy sądzić, że lek z pierwszego podania nie został do końca „wypłukany”

i dlatego niektórzy zalecają, by okres wypłukiwania był równy 8 czasom półtrwania. Kiedy czas wypłukiwania jest bardzo długi (bo czas półtrwania leku jest długi: tygodnie, miesiące), plan badania musi być odpowiednio zmodyfikowany i albo oznacza się lek w moczu (o ile jest wydalany w postaci niezmienionej), albo przeprowadza badanie w grupach równoległych (patrz dalej). Warto pamiętać, że odpowiedni, a nawet przesadzony czas wypłukiwania może uchronić przed niekorzystnymi interakcjami (Aneks: Anova i interakcje).

Farmakodynamiczna/kliniczna ocena biorównoważności

Ostatnio popularne (i dozwolone) jest genotypowanie ochotników. Chodzi o to, że ok. 50% leków jest metabolizowanych w ścianie jelita i w wątrobie przez enzymy cytochromu P450 (CYP). Prawdopodobnie wszystkie enzymy CYP wykazują polimorfizm, ponieważ zmiany w sekwencji DNA kodujących te enzymy są bardzo częste. Klasyczny polimorfizm dotyczy enzymów CYP2D6 i CYP2C19 i może prowadzić do powstania nieaktywnego białka lub syntezy dwóch cząsteczek białka; w rezultacie wśród badanych ochotników mogą się znaleźć osoby, które zupełnie odmiennie od pozostałych metabolizują (w ścianie jelita lub w wątrobie) badany lek (np. fenotyp z brakiem aktywności lub fenotyp z bardzo nasiloną aktywnością enzymatyczną), a tym samym odmiennie wchłaniają lek. W konsekwencji badana populacja ochotników jest niejednorodna z punktu widzenia budowy struktur, które musi pokonać lek zanim dojdzie do krążenia ogólnego – to może prowadzić do dużych zmian we wchłanianiu między osobnikami i znacznych różnic w AUC (lub odpowiedzi farmakodynamicznej – zależnie od rodzaju badania) wśród badanych. Oczywiście, lek oryginalny i generyczny będzie zachowywał się tak samo, ale znaczne różnice we wchłanianiu mogą być przyczyną znacznej zmienności międzyosobniczej i – w mniejszym stopniu – wewnątrzosobniczej. Utrudnia to badanie, bo duża zmienność powoduje, że zwiększa się wymagana liczba ochotników do badania, a tym samym rosną koszty. Znajdąc charakterystykę metabolizmu badanego leku (a badający zawsze posiada pełną wiedzę o leku oryginalnym), można za pomocą genotypowania (a nawet fenotypowania) odrzucić przed badaniem osoby, u których występuje polimorfizm CYP. Jeśli zmienność międzyosobnicza (a także i wewnątrzosobnicza) będzie niewielka – a temu ma służyć genotypowanie czy preselekcja ochotników (przy farmakodynamicznych punktach końcowych) – to będzie większa szansa na wykrycie różnic we wchłanianiu tej samej substancji aktywnej z dwóch różnych leków, a różnice międzyosobnicze czy wariacje wewnątrzosobnicze nie będą maskowały różnic pomiędzy formulacjami.

Protokół badania

Standardowym badaniem biorównoważności dla oceny dwóch produktów jest badanie o charakterze próby podwójnie skrzyżowanej. Badanie takie wyklucza w największym stopniu wpływ zmienności międzyosobniczej na ostateczny wynik. Okresy podawania ocenianych produktów powinny być poprzedzone okresem wypłukiwania produktu z wyjątkiem specjalnej formy badania z podaniem wielokrotnym (patrz niżej).

Planując badanie na podstawie leku referencyjnego (jego wybór musi być bardzo krytycznie rozważony; zdarza się, że na rynku europejskim jest obecnych kilka leków referencyjnych tego samego producenta i dlatego zaleca się konsultację z agencją rejestracyjną), należy określić:

- ogólne informacje (tytuł, numer, nazwiska, miejsce, adresy);
- opis badanego produktu (dane istotne dla badania, szczególnie bezpieczeństwa);
- oświadczenie dotyczące GCP;
- rodzaj pierwszo- i drugorzędowych punktów końcowych (omówione powyżej);
- rodzaj badania;
- podstawy etyczne badania;
- stan zdrowia probantów, czyli:
 - zdrowi ochotnicy czy
 - pacjenci (bardzo toksycznych leków z przyczyn etycznych nie można podawać osobom zdrowym – np. cytostatyków);
- kryteria włączenia i wyłączenia uczestników (także w trakcie badania): badane grupy winny składać się z osobników obu płci, w wieku 18–55 lat, o średniej budowie ciała (wskaźnik masy ciała BMI 18,5–30 kg/m²); zaleca się, by ochotnicy nie palili papierosów i nie nadużywali alkoholu ani innych środków odurzających; dla ograniczenia zmienności, zachowania bezpieczeństwa, jak również określenia farmakokinetyki może być konieczne przeprowadzenie doboru ochotników w oparciu o kryteria fenotypowe/genotypowe (patrz Rozdział 4);
- sposób selekcji uczestników do badania (patrz Rozdział 4);
- punkty końcowe:
 - farmakokinetyczne (oparte na pomiarze biodostępności),
 - farmakodynamiczne (oparte na pomiarze odpowiedzi farmakodynamicznych, np. poziomu glukozy, agregacji płytek krwi, liczby stolców, zawartości tłuszczu w stolcach itp.);
- konieczną liczbę badanych (z zastosowaniem określonych wzorów): wybór liczebności badanej grupy musi być oparty na obliczeniach statystycznych, niemniej grupa nie powinna być mniejsza niż 12 osób; ochotnicy winni być dobrani w taki sposób, by różnice międzyosobnicze były jak najmniejsze i by jednocześnie spełnione były kryteria włączenia (patrz wyżej);
- sposób postępowania z wynikami „odstającymi”;
- sposób postępowania z uczestnikami, którzy – z różnych powodów – wypadają z badania;
- procedury badania:
 - na czczo, po posiłku (standaryzacja posiłku);
 - badanie biorównoważności wykonuje się u ochotników będących na czczo; pozwala to na eliminację czynników wpływających na wchłanianie produktu leczniczego; gdy charakterystyka produktu referencyjnego zaleca przyjmowanie leku po posiłku, badanie również należy wykonać w takich samych warunkach; trzeba wówczas zapewnić standardowy posiłek, pod względem objętości, zawartości tłuszczu, białka i węglowodanów; z kolei, gdy produkt należy do grupy leków o zmodyfikowanym uwalnianiu, badanie należy wykonać na czczo, jak i po spożyciu posiłku; jeśli w charakterystyce produktu referencyjnego znajduje się zapis o zażywaniu leku po posiłku, to każde badanie biorównoważności wykonane na czczo zostanie

przez agencję rejestrującą odrzucone (badanie na czczo w takich okolicznościach może być tylko badaniem uzupełniającym);

- substancję, która ma być oznaczana we krwi;
- częstość pobierania krwi (AUC_{0-t} musi przekraczać 80% AUC_{0-∞}); dobór czasowych parametrów pobierania krwi do oznaczeń jest bardzo istotny dla prawidłowego przeprowadzenia badania biorównoważności; należy unikać doboru punktów czasowych powodujących, że pierwszym pomiarem staje się wartość zbliżona do wartości C_{max} dla danego produktu; z reguły badanie projektuje się tak, by na tzw. ramieniu wstępującym były 3–4 punkty pomiarowe; istotnym czynnikiem jest miarodajne określenie czasu maksymalnej ekspozycji dla badanej substancji czynnej; czas dokonywanych pobrań winien również objąć fazę eliminacji substancji czynnej z krwioobiegu; wydłużenie pobrań powyżej 72 godzin od podania produktu nie jest konieczne dla produktów szybko uwalniających się substancji czynnych;
- metodę oznaczania substancji (czułość, powtarzalność, dokładność i precyzja), z uwzględnieniem procesu walidacji: w badaniach biorównoważności należy mierzyć stężenie substancji macierzystych, a nie metabolitów tych substancji; dotyczy to też nieaktywnych „proleków”; jedynym wyjątkiem może być substancja, której stężenie jest zbyt małe do oznaczenia (wówczas zalecenia zezwalają na pomiar metabolitów substancji macierzystej lub na przeprowadzenie badania biorównoważności opartego na odpowiedzi farmakodynamicznej); w każdym wypadku musi być przedstawione wyczerpujące uzasadnienie wyboru metody postępowania;
- podanie leku:
 - pojedyncze (najlepiej dyskryminujące między produktami, preferowane przez urzędy rejestracji, łatwe do przeprowadzenia),
 - wielokrotne (mniej czule od podania jednorazowego, konieczne w wypadku leków o dużej zmienności, nie zawsze wymaga wyplukiwania leku);
- metody statystyczne do oceny wyników;
- model dwuetapowy (nawet gdyby okazał się niepotrzebny).

Należy uwzględnić wszystkich elementów, które wynikają z planu badania, np. poszerzenie limitu poza 0,8–1,25 (nawet gdyby w praktyce okazało się to niepotrzebne).

Statystyczna ocena uzyskanych wyników (punkt widzenia lekarza)

Power approach

Wykorzystując zmienne PK oznaczone w badaniu biorównoważności: AUC_{0-t}, AUC_{0-inf}, C_{max}, dane logarytmowane (przy podaniu jednorazowym) wyznacza się stosunek zmiennej, np. AUC_{0-t} leku generycznego do AUC_{0-t} leku referencyjnego oraz 90% przedział ufności. (Oczywiście oznaczamy jeszcze parametry drugorzędowe: T_{max}, K_{el} i t_{0,5}, a przy podaniu wielokrotnym, w stanie stacjonarnym: AUC_{0-t}, C_{av} [średnie], PTF [procent fluktuacji w stanie równowagi] i współczynnik wahania [swing] oraz C_{max}; obliczenia statystyczne zaczyna się od testu Anova, który przez określenie wartości F wskaże, czy między badanymi zbiorami występują znamienne różnice.)

Zgodnie z założeniem leki są biorównoważne, jeśli wynik z 90% przedziałem ufności mieści się w granicach 0,8–1,25. Wynik taki można przyjąć tylko pod warunkiem, że badanie miało odpowiednią moc. Wysoka moc badania chroni nas przed błędem II typu (nie uchwycenie prawdziwej różnicy między badanymi zmiennymi, chociaż istnieje). Błędnie można uznać – przy niewystarczającej mocy – że leki są biorównoważne. Moc określa, czy badanie było wystarczająco czułe do wykrycia różnicy. Za minimalną dopuszczalną moc badania przyjmuje się 80%. Jeśli moc jest niska (< 80%), wtedy biorównoważność będzie „wychodzić” (tzw. ryzyko konsumenta, naraża pacjenta na zastosowanie leku generycznego, który nie jest biorównoważny z referencyjnym). Moc badania zależy od: (a) wielkości różnicy między średnimi parametrów farmakokinetycznych (np. AUC) dla dwóch badanych leków; (b) liczby badanych, (c) wariancji (zmienności, rozproszenia wyników) w obu badanych grupach. Moc wyznacza się ze wzoru lub odczytuje z gotowych tabel.

Test Schuirmana

Odmienne podejście do testowania biorównoważności, oparte na dwóch jednostronnych testach t-Studenta, zaproponował Schuirman, uznając, że brak różnicy między dwoma średnimi z badanych zmiennych, nigdy nie może zostać udowodniony; dlatego nie nadaje się do oceny biorównoważności (1). Opisany wyżej *power approach* jest właśnie oparty na próbie wykazania braku różnicy i sprawdzeniu, czy badanie było dostatecznie czułe. Chociaż z punktu widzenia testowania hipotez metoda ta wydaje się mniej właściwa niż test Schuirmana, to właśnie *power approach* jest metodą standardową wymaganą przez EMA i krajowe agencje zlokalizowane w Unii. Test Schuirmana (preferowany przez FDA) jest zgodny z zasadami testowania hipotez, łatwiejszy do przeprowadzenia (zwykle programy statystyczne są wyposażone w ten test) i rozwiązuje większość problemów związanych z *power approach*. Test Schuirmana stosuje się, podobnie jak *power approach*, do wyników uzyskanych w badaniu skrzyżowanym, zrównoważonym, w dwóch okresach i dla podania jednorazowego. Składa się z dwóch jednostronnych testów, które opisują następujące hipotezy zerowe:

- H_{01} : $\mu_T - \mu_R < \text{dolnej granicy równoważności (0,8)}$;
- H_{02} : $\mu_T - \mu_R > \text{górną granicy równoważności (1,25)}$.

Tak postawiona hipoteza zerowa mówi, że badany lek generyczny (uwaga!) nie jest biorównoważny z oryginałem, ponieważ różnica średnich badanych zmiennych jest poniżej dolnej granicy (0,8) i równocześnie powyżej górnej granicy (1,25) przyjętego przedziału równoważności (0,8–1,25). Jeśli uzyskane wyniki nakazują odrzucić hipotezę zerową, wtedy należy przyjąć alternatywną hipotezę (HA), która oznacza, że różnica między średnimi mieści się w pożądanym przedziale 0,8–1,25 i wobec tego lek jest biorównoważny.

- H_A : $0,8 < \mu_T - \mu_R < 1,25$: program stosowany w teście Schuirmana wylicza zmienność wewnątrzsobniczą, można ją też uzyskać z literatury bądź z analizy Anova (suma kwadratów odchyłeń podzielona przez liczebność minus 2, MSE).

Test Schuirmana oferuje kilka korzyści: kiedy uzyskane wyniki nie pozwalają na odrzucenie hipotezy zerowej ($p > 0,05$), to nie oznacza, że przyjmuje się nie-biorównoważność

ważność dwóch formułacji (H_0 nie można udowodnić), ale stwierdza się, że biorównoważność obu leków nie została dowiedziona. W tym teście nie jest ważna moc badania, gdyż wynik badania, w którym obserwuje się znamiennej różnicę między estymatorami ($p < 0,05$), jest wystarczającym warunkiem do odrzucenia H_0 , co równocześnie oznacza, że badanie było wystarczająco czułe (2).

Anova i interakcje

Analiza wariancji (Anova) jest odmianą testu t-Studenta, odpowiada wersji testu t przy równych wariancjach i opiera się na teście zwanym ilorazem wariancji, teście F. W teście tym porównuje się wariancje różnych rozkładów, wynik znamienno oznacza, że te wariancje się różnią. W badaniu biorównoważności, by prawidłowo porównać np. $AUC_{0-\infty}$ otrzymane po podaniu leku referencyjnego z $AUC_{0-\infty}$ generyku trzeba uwzględnić więcej niż dwa rozkłady. Zwykłym testem t statystyka posługuje się przy porównaniu dwóch grup (rozkładów) badanych. Kiedy eksperymentator porównuje więcej niż dwie grupy wtedy przeprowadzenie testu t między wszystkimi grupami może prowadzić do błędu. Analiza wariancji umożliwia porównanie kilku rozkładów.

Najbardziej prostym (i zwykle najbardziej czułym) typem badania jest jednorazowe podanie w układzie krzyżowym, AB/BA; po okresie wypłukania leku ochotnicy dostają drugi lek, czyli ten sam ochotnik dostaje w pierwszym okresie generyk (lub lek referencyjny), a w drugim lek referencyjny (lub generyk – zależnie od tego, co wylosował w pierwszym okresie). W ten sposób u tego samego ochotnika zostanie zbadany lek referencyjny i generyczny. Wszyscy biorący udział w badaniu zostają w sposób losowy! podzieleni na dwie grupy. Grupa 1 otrzyma lek referencyjny, A-B, grupa 2 lek generyczny, B-A, i w piśmiennictwie anglosaskim oznacza się je jako *treatments*. Ponieważ podanie A i B następuje w różnym czasie, to nazywa się je sekwencjami (*sequences*). Wobec tego badanie jest *two-treatments* i *two-sequence*. Równocześnie, w tym samym czasie wykonuje się dwa okresy (*period*) badania, tj. na początku 50% otrzymuje *treatment* A (lub B) i 50% *treatment* B (lub A). W sumie badanie w układzie krzyżowym jest *two-treatment*, *two-sequence*, *two-periods* i tak często jest zapisane w tytule badania biorównoważności. Układ krzyżowy redukuje zmienność między osobnikami (*intersubject*) i w badaniu dominuje zmienność wewnątrzsobnicza (*intrasubject*), co znacznie zmniejsza liczbę badanych niezbędnych do wykonania badania. Zdarza się jednak, że zmienność wewnątrzsobnicza jest bardzo duża – wtedy korzyść z układu krzyżowego jest mniejsza; ma to miejsce w wypadku leków o dużej zmienności (HVDP), np. nifedypiny i acyklowiru.

Analiza wariancji umożliwia zbadanie wpływu okresu, sekwencji, kolejności, leku i ochotników na mierzone parametry: AUC, C_{max} i T_{max} , tj. stwierdzenia, czy zachodzą znamienne interakcje (znamienne wtedy, kiedy otrzymane F przekracza graniczną wartość podaną w tabelach rozkładu F). Teoretycznie, jeśli ochotnicy są „homogenni” a lek generyczny wchłania się nadzwyczaj podobnie do oryginalnego nie należy oczekiwać interakcji: ani okres, ani sekwencja, ani podanie nie powinny mieć wpływu znamienno na mierzone parametry (powie o tym wielkość F). Przy znamiennym wpływie okresu, sekwencji lub podania badanie należy powtórzyć. Najczęściej jednak –

ze względu na trudności w analizie tych interakcji – po prostu się je ignoruje albo próbuje zanalizować znalezionej interakcję.

Interakcje

Znamienny efekt leku (*treatment*)

Znamienny wpływ leku (statystycznie znamienny efekt leku) może być rezultatem bardzo małego odchylenia standardowego w zakresie samych pomiarów badanych parametrów. Jeśli w tablicy wynikowej Anovy tzw. *treatment mean square* (programy są w jęz. angielskim) jest mały, czyli zmienność jest niewielka i/lub liczba ochotników jest wysoka, można uzyskać znamienny wpływ leku (patrz rycina 4). Oznacza to, że leki wykazują znamiennej różnicę ale nadal są biorównoważne – o ile wyniki mieszczą się w zakresie biorównoważności 0,8–1,25 i analiza miała odpowiednią moc. W takich warunkach można tę znamiennej interakcję zignorować.

Znamienny efekt okresu (*period*)

Znamienny wpływ okresu oznacza, że w pierwszym (częściej w drugim) okresie stężenie w osoczu (AUC itp.) jest wyższe niż w pozostałym. Na rycinie 5 pokazano *spaghetti plot*, tj. wyniki uzyskane w I i II okresie badania. W wypadku idealnym, wartości AUC w okresie I powinny być takie same jak w okresie II. Z ryciny 5 wynika, że nie są takie same. Przyczyny mogą być różne, np. spożycie między I a II okresem badania soku grejfrutowego, który hamuje metabolizm wielu leków, a tym samym zmienia ich poziom we krwi, za krótki okres wyplukiwania między podaniami w I i II okresie czy wreszcie prawdziwą interakcję między lekiem a ochotnikiem. Uważa się, że jeśli wyniki po obu podaniach są zmienione równoległe (jak na rycinie 5A), wtedy porównanie jest wiążące i obecność znamiennej wpływu okresu nie ma wpływu na wynik biorównoważności. Wynik przedstawiony na rycinie 5B oznacza, że prawdopodobnie występuje prawdziwa interakcja między okresem podania a ochotnikiem i przeprowadzonemu badaniu nie można ufać (wyniki nie mogą być wiążące).

Znamienny efekt kolejności (sekwencji)

By ocenić ten efekt należy określić różnicę w AUC w obu sekwencjach: A-B i B-A. Jeśli różnice się znoszą (np. A-B = -1,0 i B-A = 1,0) wtedy można tę interakcję zignorować. Zdarza się jednak, że różnice się nie znoszą (np. obie są dodatnie). Ponieważ różnica między A i B zależy od kolejności podania, być może odpowiedzialne za

różnicę jest „przeniesienie” („zaciągnięcie”, *carryover*) obecności leku A na B (lub odwrotnie). Jest też prawdopodobne, że znamiennej efekt kolejności oznacza naprawdę interakcję między podaniem i okresem (*treatment by period*) i wtedy badanie należy powtórzyć, zwiększając liczbę badanych i okres wyplukiwania. Niektórzy ignorują znamiennej efekt kolejności pod kilkoma warunkami, które musi spełniać badanie: (a) jednorazowe podanie, (b) normalni zdrowi ochotnicy, (c) okres wyplukiwania równy lub większy od 5-krotnego czasu półtrwania, (d) wyniki mieszczą się w zakresie biorównoważności 0,8–1,25 i test Schuirmana też wskazuje na biorównoważność.

Znamienny wpływ ochotników (*significant subject effect*)

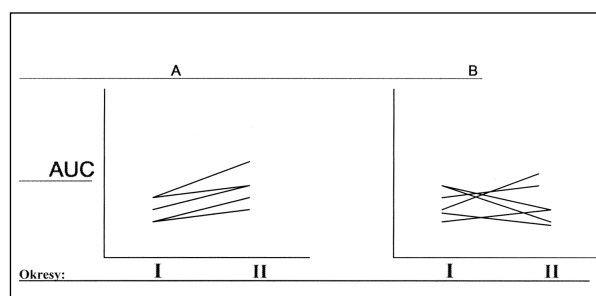
Wystąpienie tego efektu oznacza tylko tyle, że w badaniu brali udział różni ochotnicy i efekt ten można zignorować. Gdyby badanie przeprowadzono na identycznych ochotnikach, otrzymanych w wyniku klonowania, wpływ ochotników nie byłby widoczny.

Inne testy i układy doświadczalne

Celem obecnego opracowania było przekazanie punktu widzenia lekarza, nie statystyka. Do oceny biorównoważności mogą także służyć inne testy (np. nie-parametryczne) i inne układy doświadczalne, np. układ równoległy, który jest niezbędny, gdy okres wyplukiwania (wynikający z czasu półtrwania) badanego leku jest długi. W najnowszych zaleceniach EMA w dokumencie dotyczącym pytań i odpowiedzi podgrupy ds. farmakokinetyki z 22 lipca 2010 r. wymieniono te wyjątkowe sytuacje (3).

Piśmiennictwo:

1. Schuirman D.J.: A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokin Biopharm* 1987, 15: 657–680.
2. Hills M., Armitage P.: The two-period cross-over clinical trial. *Br J Clin Pharmac* 1979, 8: 7–20.
3. CHMP Efficacy Working Party Therapeutic subgroup on Pharmacokinetics (EWP-PK): Questions and answers: Positions on specific questions addressed to the EWP therapeutic subgroup on Pharmacokinetics, EMA/618604/2008 Rev. 2, CHMP. London, 2010.



Rycina 5. *Spaghetti plot* wartości AUC w okresie I i II: w A wzrost jest równoległy

System zarządzania jakością w przemyśle farmaceutycznym

Zofia Ulz
Główny Inspektor Farmaceutyczny

Niewiele jest dziedzin życia, w których relacje klienta i wytwórcy są tak bardzo oparte na zaufaniu do jakości produktu jak w farmacji. Pacjent w większości przypadków nie jest w stanie rozpoznać ryzyka związanego z jakością produktów leczniczych. Odpowiedzialność za zarządzanie jakością leków i procesów związanych z ich wytwarzaniem spada na wytwórców, którzy wykorzystują coraz nowsze technologie, by w sposób ciągły poprawiać jakość wytwarzanych leków i bezpieczeństwo chorego.

Dobra Praktyka Wytwarzania (GMP)

Pierwsze regulacje przyszły z USA już w 1938 r. po wycofaniu z obrotu „eliksiru sulfanilamidu” (1), który zawierał w swoim składzie trujący glikol dietylenowy i był testowany przed wprowadzeniem do obrotu m.in. ze względu na odpowiedni zapach, ale nie pod względem bezpieczeństwa. Po spożyciu tego produktu zmarło 107 osób, w większości dzieci. Tragedia ta była bezpośrednią przyczyną wydania w USA pierwszych regulacji GMP (*Good Manufacturing Practice*) zawierających m.in. wymóg wykazania, że leki wprowadzane na rynek są bezpieczne, dopuszczalne limity dla substancji szkodliwych oraz pierwsze standardy dotyczące tożsamości i jakości leków.

Współczesne wymagania GMP w Polsce są zgodne z obowiązującymi dyrektywami unijnymi i europejskimi wytycznymi. W Polsce wymagania są opisane w Ustawie Prawo Farmaceutyczne (2) i rozporządzeniach Ministra Zdrowia, szczególnie w rozporządzeniu, które dotyczy Dobrej Praktyki Wytwarzania (3).

Zarządzanie jakością w produkcji leków

Główne aspekty dotyczące projektu i funkcjonowania obiektów produkcyjnych, procesów wytwarzania i badania leków, a także ich magazynowania i dystrybucji są szczegółowo opisane w regulacjach Dobrej Praktyki Wytwarzania; mają one na celu zapewnienie, że produkowane leki są bezpieczne i efektywne. Przepisy te odnoszą się szczególnie do zapewnienia powtarzalnej jakości leku oraz prewencji przed błędami trudnymi do wykrycia w ramach rutynowej kontroli jakości opartej na badaniu losowo pobranych próbek produktu. Europejskie przepisy GMP wprowadziły wymóg powołania w firmie farmaceutycznej tzw. Osoby Wykwalifikowanej, czyli osoby zarejestrowanej przez organa nadzoru farmaceutycznego i odpowiedzialnej za kluczowe aktywności dotyczące zapewnienia jakości wytwarzanych leków oraz za ich zwalnianie do obrotu.

Kontrola surowców od dostawców

Surowce używane do produkcji leków są kupowane od skwalifikowanych i zatwierdzonych dostawców, coraz częściej pochodzących z odległych krajów Dalekiego Wschodu. Ten fakt oraz nowe wymagania dotyczące systematycznych audytów jakości dostawców w sposób znaczący wpłynął na podniesienie wymaganych kompetencji pracowników działu zarządzania jakością. Wytwórca substancji aktywnej musi być uwzględniony w dokumentacji rejestracyjnej leku, a zgodność wytwarzania substancji aktywnej z przepisami GMP musi być potwierdzona przez Osobę Wykwalifikowaną wytwórcy leków gotowych. Substancje czynne, przed użyciem ich do produkcji, poddaje się badaniom analitycznym przeprowadzanym przez kontrolę jakości, łącznie z badaniem tożsamości surowca z każdego dostarczonego pojemnika.

Wspieranie jakości przez zaawansowane technologie

Chociaż tradycyjne formy leków od lat pozostają niezmiennie, do ich wytwarzania stosuje się coraz bardziej zaawansowane technologie. W instalacjach klimatyzacyjnych obiektów produkcyjnych rutynowo montuje się wysokosprawne filtry HEPA, zapewniając w ten sposób specjalnie przygotowane, oczyszczone powietrze, które okresowo monitoruje się pod kątem zgodności z ustalonymi wymaganiami dotyczącymi ilości cząstek stałych oraz mikroorganizmów. Wchodząc do pomieszczeń produkcyjnych, pracownicy stosują odpowiednio do danej strefy ubiory i zabiegi higieniczne mające na celu ochronę wytwarzanego produktu. Strefy produkcyjne są od siebie oddzielone śluzami oraz kaskadą ciśnień, która często jest nadzorowana przez system komputerowy inicjujący alarmy w przypadku wystąpienia przekroczeń.

Współczesne urządzenia produkcyjne są nie tylko coraz bardziej zautomatyzowane, ale też pozwalają na wprowadzenie zdalnego sterowania oraz zintegrowanie z innymi systemami wspomagającymi produkcję i logistykę, jak np. system MES (*Manufacturing Execution System*) czy systemy ERP (*Enterprise Resource Planning*): SAP, Oracle. Linie pakujące są wyposażone w kamery on-line i czytniki kodów paskowych, których zadaniem jest zmniejszanie ryzyka błędów na materiałach zadrukowanych.

Metody analityczne stosowane w rutynowym badaniu leków są coraz bardziej precyzyjne i dokładne, pozwalając nawet na analizę śladów zanieczyszczeń. Do ich wykonywania często wykorzystuje się skomplikowane systemy skomputeryzowane. Nowym trendem w przemyśle staje się instalowanie na liniach produkcyjnych urządzeń typu PAT (*Process Analytical Technologies*), które zapewniają wykonywanie badań i odczyt w czasie rzeczywistym, już w trakcie prowadzenia procesu produkcyjnego. Takie roz-

wiązanie w przyszłości może wyeliminować potrzebę badania produktu gotowego.

Cały system zarządzania jakością musi zapewnić możliwość dokumentowania procesu. Tu również wkraczają nowe technologie, zapisy i podpisy elektroniczne, które w wypadku firm posiadających liczne lokalizacje stanowią ważne rozwiązanie systemowe.

Zarządzanie ryzykiem jakości

Zamiast teoretycznego wywodu, warto przytoczyć dwa dobrze udokumentowane zdarzenia (4). W jednej z firm wytwarzającej urządzenia do dializ wprowadzono zmianę w procesie produkcji, bez pełnego uwzględnienia jej wpływu, wskutek czego śmierć poniosło 50 osób korzystających z urządzeń do dializ tej firmy. Drobną zmianą w metodzie usuwania środka czyszczącego spowodowała, że niewielka ilość środka czyszczącego wciąż pozostawała na filtrach i kiedy krew przepływała przez filtry, jej temperatura powodowała odparowanie tego środka, skutkując powstaniem pęcherzyków gazowych, które blokowały arterie u niektórych chorych. Drugie zdarzenie doprowadziło do śmierci dzieci z powodu niewłaściwej oceny ryzyka dotyczącego odchyleń w procesie produkcyjnym. Firma wycofała 59 mln opakowań leku na astmę po zgonach wielu dzieci, które, jak się okazało, używały produktu bez składnika aktywnego. Przyczyna defektu była związana z niewłaściwym połączeniem plastikowego węża łączącego zbiornik zawierający składnik aktywny z urządzeniem napelniającym. Wąż odłączył się co jakiś czas wskutek wibracji urządzenia. Obsługa, która widziała wąż leżący na podłodze, podłączyła go ponownie, bez dokumentowania tego odchylenia. Laboratorium kontroli jakości podczas badań próbek produktu nigdy nie stwierdziło niezgodności, które miały miejsce w trakcie procesu.

Niewłaściwe zarządzanie ryzykiem w produkcji leków przynajmniej częściowo było konsekwencją braku wymagań prawnych. W ostatnich latach weszły w życie regulacje dotyczące zarządzania ryzykiem jakości (5). Regulacje te wprowadzają systematyczny proces identyfikacji i kontroli ryzyka dotyczącego jakości produktów.

Projektowanie jakości w badaniach i rozwoju

Zarządzanie jakością obejmuje także pracę laboratoriów badawczych. Zdefiniowano koncepcję *Quality by Design* (6), która w sposób rewolucyjny wpływa na metodologię rozwoju leków – wprowadza ona zmiany w organizacji metod badawczych, narzędziach analitycznych i komputerowych wspierających produkcję rozwój leków spełniających najwyższe wymagania jakościowe.

Zintegrowane zarządzanie jakością

Zarządzanie jakością we współczesnej firmie farmaceutycznej stanowi część modelu funkcjonowania firmy, a procesy jakościowe są zintegrowane z procesami biznesowymi. To nie tylko teoria. Jeżeli dział zakupów chce zmienić dostawcę, musi zainicjować zmianę, która pozwoli na przeprowadzenie audytu jakości u nowego dostawcy, przygotowanie dokumentacji wymaganej do wprowadzenia zmiany, przeprowadzenie niezbędnych badań i prób dotyczących produktu oraz zgłoszenie do urzędu nowego dostawcy. Tylko materiał od skwalifikowanego dostawcy zostanie następnie zbadany i zwolniony do produkcji przez laboratorium kontroli jakości. Jeśli w procesie wytwarzania wystą-

pią jakieś odstępstwa, to muszą być one wyjaśnione przed wprowadzeniem danej serii do obrotu.

Proces wprowadzania zmian w procesie wytwarzania produktu jest jednym z najbardziej krytycznych procesów jakościowych i biznesowych. To być albo nie być dla firmy produkującej leki generyczne. Ten proces nie tylko determinuje to, że zmiany zostaną wprowadzone w taki sposób, by miały pozytywny wpływ na produkt, ale również jest krytycznym elementem pozwalającym na sprawne wprowadzanie produktów do dystrybucji. Zintegrowane zarządzanie jakością oraz spójność procesów biznesowych i jakościowych w firmach farmaceutycznych nie stanowią opcji, lecz warunek sprawnego funkcjonowania firmy na rynku.

Agencje leków – parasol ochronny państwa

We wszystkich krajach rozwiniętych istnieje co najmniej jeden urząd odpowiedzialny za kontrolę jakości leków i bezpieczeństwo pacjenta. W Polsce występują dwa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych oraz Główny Inspektorat Farmaceutyczny (GIF). Głównym zadaniem powyższych urzędów jest rejestracja leków przed ich wprowadzeniem na rynek oraz zapewnienie, że firmy farmaceutyczne przestrzegają wymagań prawa farmaceutycznego i Dobrej Praktyki Wytwarzania oraz nadzór nad jakością leków na rynku. GIF odgrywa kluczową rolę w zapewnieniu bezpieczeństwa chorego oraz leków odpowiedniej jakości na rynku; podstawowe narzędzia jakim się posługuje obejmują: inspekcje w miejscach wytwarzania leków, badania losowych prób produktów z rynku, a także wydawanie zezwoleń na wytwarzanie i podejmowanie decyzji o wycofaniu lub wstrzymaniu serii w obrocie, gdy zachodzi podejrzenie złej jakości leku.

Podsumowanie

System zarządzania jakością w firmie farmaceutycznej ma kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa pacjenta oraz rozwoju biznesu firmy. System ten w dużej mierze jest oparty na wymaganiach Dobrej Praktyki Wytwarzania szczegółowo opisanych w rozporządzeniu Ministra Zdrowia. System zarządzania jakością jest silnie wspierany przez wprowadzanie do przemysłu nowych technologii opartych w dużej mierze na systemach automatycznych i systemach komputerowych w sposób ciągły poprawiających jakość wytwarzanych leków i tym samym bezpieczeństwo chorego. Nowe trendy zarządzania jakością efektywnie wprowadziły do przemysłu tematykę zarządzania ryzykiem jakości, projektowanie jakości na etapie rozwoju produktów oraz nowoczesne formy badań analitycznych, coraz częściej już na etapie produkcji. Obecnie firmy farmaceutyczne posiadają zintegrowane systemy zarządzania jakością, których wynikiem jest ściśle powiązanie procesów jakościowych i biznesowych.

Piśmiennictwo:

1. The 1937 Elixir Sulfanilamide Incident. www.fda.gov
2. Ustawa Prawo Farmaceutyczne. Dz.U. 2001 nr 126 poz. 1381.
3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 1 października 2008 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania. Dz.U. 2008 nr 184 poz. 1143.
4. Anisfeld M.H.: Deaths by GMP. *Journal of Validation Technology*, Winter 2008: 7–10.
5. ICH Q9, Quality Risk Management, November 9, 2005.
6. ICH Q8, Pharmaceutical Development, August 2009.

Podsumowanie

Prof. dr hab. n. med. Jacek Sptawinski

Mam przed sobą artykuł opublikowany w TERAPII, napisany przez dwoje profesorów medycyny i doktora farmacji, w którym autorzy krytykują zastępowanie leków oryginalnych generycznymi i dochodzą do wniosku, że „każda zamiana leku oryginalnego na generyczny może wiązać się ze zmianą skuteczności i bezpieczeństwa farmakoterapii”. Ponadto twierdzą, że w literaturze fachowej trwa dyskusja „czy udowodnienie biorównoważności jest wystarczające... do zamiany leków”, czy też „rozstrzygającym jest przeprowadzenie badań klinicznych, które udowodnią bądź nie równoważność terapeutyczną leków oryginalnych i generycznych”. Tymczasem stanowisko etyków i klinicystów wyklucza badania kliniczne w celu porównania leku generycznego z oryginalnym ze względu na logikę i zdrowy rozsądek. Takie pełne badania byłyby powtórzeniem badań III fazy leku oryginalnego. Musiałoby dotyczyć każdego wskazania z osobna i wymagałyby najpierw ustalenia, o ile badany generyk – w zakresie badanych zmiennych (twarde: zgon, zawały serca, udary; surowe: ciśnienie krwi, poziom cholesterolu, cukru we krwi) – może się różnić od oryginału. I tu jest sedno sprawy, które pominęli cytowani autorzy. Nie istnieje badanie, w którym jest możliwe udowodnienie identyczności dwóch leków! Każde badanie kliniczne, nawet z tym samym lekiem i w tych samych warunkach i u tych samych chorych, da inny wynik, bo w biologii, żadna odpowiedź nie jest „taka sama”. A to dlatego, iż każda reakcja i każdy pomiar jest obciążony błędem i średnia wyników także zawiera błąd.

Na błąd w takim badaniu nakładałaby się zmienność pomiędzy badanymi osobami (tzw. zmienność zewnątrzsobnicza), a gdyby badanie to powtórzyć u tych samych pacjentów – zmienność wewnątrzsobnicza. Ten sam lek, w tej samej dawce, zastosowany u tego samego chorego przy innej okazji prowadzi do innego stężenia we krwi substancji aktywnej aniżeli przy pierwszym podaniu. Obserwując wiele takich eksperymentów, dochodzimy do wniosku, że trzeba – skoro nie można uzyskać identycznego stężenia substancji aktywnej we krwi – ustalić granice, w których dwa wyniki uznamy za wystarczająco podobne, by powiedzieć, że nie różnią się między sobą. Na podstawie znajomości chorób i działania leków arbitralnie ustalono owe granice i w badaniu biorównoważności (BE) przyjęto, że jeśli stosunek wielkości wchłaniania substancji aktywnej z leku T (testowany) do wielkości wchłaniania tej samej substancji aktywnej z leku R (referencyjny) mieści się, łącznie z 90% przedziałem ufności, w granicach $\pm 20\%$, wtedy uznajemy, że BE została dowiedziona. Granice $\pm 20\%$ (czasem agencje żądają granic $\pm 10\%$) wynikają z przyczyn podanych powyżej i nie oznaczają, że generyk różni się od leku oryginalnego o 20%!

Cytowani autorzy wprowadzają nowe pojęcie: „prawdziwej biorównoważności, która oznacza, że 2 różne leki zawierające tę samą substancję leczniczą wywierają ten sam wpływ na konkretnego pacjenta”. W literaturze naukowej przedmiotu nie ma pojęcia „prawdziwej biorównoważności”, ponieważ w nauce nie ma wirtualnych bytów, a takim jest „ten sam wpływ na konkretnego pacjenta”, czyli ten sam efekt, skoro – jak to przedstawiono wyżej – nigdy nie można go osiągnąć.

Na koniec, względy etyczne. Otóż pełne badanie generyku musiałoby być przeprowadzone na setkach lub tysiącach pacjentów (tak jak badanie III fazy) w stosunku do leku oryginalnego. Połowa z tych tysięcy pacjentów otrzymałaby lek generyczny, a przecież jest to lek dotychczas nie badany (badanie BE jest badaniem fazy I); w ten sposób badający narażałby połowę (setki) pacjentów na działanie leku, który może być nieskuteczny! Oznaczałoby to pogwałcenie etycznej zasady *uncertainty principle*, która stanowi, że badanie (każde badanie!) można rozpocząć tylko wtedy, gdy według najlepszej wiedzy badającego istnieje równorzędna szansa na pozytywny skutek w obu porównywanych (np. generyk vs oryginalny) grupach. A przecież badający testuje generyk (po raz pierwszy!) i nie wie, czy jest on skuteczny, wie natomiast, że lek referencyjny na pewno działa skutecznie.

Jest wiele przykładów nakazujących pokorę w stosunku do naszych – wydających się nadzwyczajnymi – wniosków wynikających z logicznych przesłanek. Wszystko można zakwestionować, łącznie z opisaną tu ideą biorównoważności. Jednakże słuszność naukowych podstaw badania BE wynika nie tylko z przesłanek podanych powyżej, ale jest ona potwierdzona badaniami. I tak, analiza 2070 badań przeprowadzonych w latach 1996–2007 wykazała, że średnia różnica we wchłanianiu leku generycznego i oryginalnego wynosiła zaledwie 3,5% (1)! W analizie 38 opublikowanych badań, w których porównano działanie oryginalnych leków krążeniowych z ich generykami nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic (2). Zasadnicze podobieństwo działania opisano dla leków stosowanych w schizofrenii (3). Kesselheim i wsp. twierdzą, że negatywne opinie o substytucji generykami są oparte na: „*anecdotal experience or other non-clinical trial settings*” i że mogą być wypaczone przez „*financial relationships of editorialists with brand-name pharmaceutical companies*”.

Za każdym razem, gdy ludzie z racji swego wykształcenia i pozycji naukowej kwestionują wymiennosc generyków z lekami oryginalnymi, nasuwa się podejrzenie, że robią to pod dyktando producentów tych ostatnich. Dlatego warto przypomnieć, że wielkie koncerny farmaceutyczne, produkujące leki oryginalne i zapewniające postęp w medycynie!, bardzo często są właścicielami mniejszych firm produkujących leki generyczne. Taką produkcję dyktuje amerykański rynek leków: wielkie koncerny farmaceutyczne dostarczają ubezpieczycielom swoje produkty w pa-

kietach, a zysk zależy od wielkości pakietów. Można wybranemu ubezpieczycielowi obniżyć cenę blockbusteru nawet o 50%, jeśli ów ubezpieczyciel zakupi dodatkowo 100 generyków pochodzących od siostrzanej (czytaj: własnej) firmy.

Zasady dotyczące badań biorównoważności wprowadzono przez wiele lat, napisano kilkadziesiąt prac naukowych i kilkanaście podręczników, a całość zamknięto w prawie europejskim wypracowanym w ciągu kilku dziesięcioleci. Nie miejsce tu na powtarzanie wszystkich elementów badania BE, najważniejsze dla zrozumienia zasad jest kilka kardynalnych prawd:

- istotą badania BE jest porównanie wchłaniania tej samej substancji aktywnej (leczniczej) z dwóch różnych postaci leku (generycznego i oryginalnego), a nie analiza dalszych losów tej substancji;
- substancją aktywną, o której mowa, jest forma macierzysta leku, a nie jego metabolity;
- jeśli liczba cząsteczek substancji aktywnej (macierzystej) wchłonięta z jednej postaci leku jest zasadniczo podobna (wielkość podobieństwa ustala się arbitralnie, ponieważ nigdy nie może być ona identyczna) do liczby wchłoniętej z drugiej postaci, to obydwie postacie leku będą się charakteryzowały zasadniczo podobnym działaniem i są biorównoważne;
- wchłanianie substancji aktywnej może być zaburzone przez działanie substancji pomocniczych, które są różne w obu postaciach leku, ale po wchłonięciu substancje te nie wywierają już żadnego działania;
- dla pełnej oceny wszystkich możliwych oddziaływań substancji pomocniczych na elementy komórek (przewodu pokarmowego, wątroby), które pośredniczą w przechodzeniu substancji aktywnej do krwiobiegu, konieczna jest obecność wszystkich tych elementów, co zapewniają jedynie zdrowi i młodzi ochotnicy;
- podstawą testowania hipotez jest proces falsyfikacji: za-

klada się, że dwie postacie farmaceutyczne, zawierające tę samą substancję aktywną nie są biorównoważne; hipotezę tę (jest to hipoteza zerowa) testuje się, porównując wielkości AUC i C_{max} i kiedy są one zasadniczo podobne, możliwe jest odrzucenie hipotezy zerowej i uznanie alternatywnej, iż dwa leki są biorównoważne.

W istocie publikacja wyników badań biorównoważności z dużym prawdopodobieństwem rozwiałaby wątpliwości wszystkich „malkontentów farmakokinetycznych”, bo przecież trudno wyobrazić sobie, po obejrzeniu ryciny 2 (str. 13), że lek generyczny (linia ciągła na wykresie) działa inaczej niż lek oryginalny (linia przerywana). Oczywiście, nieprzejednani przeciwnicy generyków nadal będą twierdzić, że działają one inaczej aniżeli oryginalne; rzeczywistość, bez odpowiedniej wiedzy na temat biorównoważności, tak może się wydawać, ale przecież np. polegając wyłącznie (bez odpowiedniej wiedzy) na swoim spojrzeniu przez okno, nie ma się wątpliwości, że ziemia jest płaska i stoi w miejscu.

Piśmiennictwo:

1. Davit B.M. i wsp.: Comparing generic and innovator drugs: a review of 12 years of bioequivalence data from the United States Food and Drug Administration. *Ann Pharmacother* 2009, 43: 1583–1597.
2. Kesselheim A.S. i wsp.: Clinical Equivalence of Generic and Brand-Name Drugs Used in Cardiovascular Disease. *JAMA* 2008, 300: 2514–2526.
3. Oloruntoba O. i wsp.: Does Therapeutic Equivalence Follow Bioequivalence? A Randomized Trial to Assess Clinical Effects After Switching From Clozaril to Generic Clozapine (Gen-Clozapine). *J Clin Pharm Online First*, published on January 20, 2010.

Leki generyczne – biorównoważność zapewnia wymiennność terapeutyczną.

Streszczenie

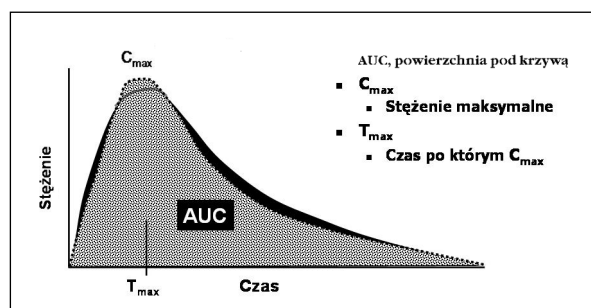
Prof. dr hab. n. med. Jacek Sptawinski

Leki działają na komórki (i narządy) organizmu poprzez różne struktury zlokalizowane na powierzchni błony komórkowej, ale znane są już tak swoiste leki (np. przeciwciała), które reagują tylko z jednym receptorem. Bez względu na mechanizm działania, efekt zależy od obecności cząsteczek leku w krążeniu ogólnym (jeśli nie jest to lek stosowany zewnętrznie lub lokalnie) i najczęściej jest proporcjonalny do stężenia leku we krwi. Niezależnie od tego, czy ten związek (między stężeniem a efektem) jest prosty, czy skomplikowany, dane stężenie tej samej substancji aktywnej będzie teoretycznie wywoływać tę samą odpowiedź, z uwzględnieniem naturalnej, biologicznej zmienności.

Teoretycznie, takie samo stężenie leku we krwi uzyskane przy różnych okazjach powinno dać taką samą odpowiedź ustroju, ponieważ biodostępność (*bioavailability*, BA) leku (tj. jego dostępność w krążeniu ogólnym dla organizmu) jest taka sama. Po dożylnym podaniu leku biodostępność (BA) wynosi 100% (wszystkie cząsteczki leku są w krwiobiegu); z kolei po podaniu doustnym (tabletką lub kapsułką) BA może być mniejsza ze względu na straty wynikające z przejścia przez: (a) barierę jelitową do krwi, a następnie (b) przez hepatocyty, gdzie enzymy systemu CYP mogą metabolizować lek przechodzący przez wątrobę do krążenia ogólnego. Obydwa te procesy są dynamiczne i mogą się zmieniać u tej samej osoby w czasie: BA danego leku może być inna rano, inna wieczorem albo innego dnia. Zmienność tę u tej samej osoby określa się jako zmienność wewnątrzosobniczą, a zmienność między różnymi osobami – jako zmienność zewnątrzosobniczą lub międzysobniczą. Jeśli tę samą substancję aktywną, w tej samej postaci, dawce i w tych samych warunkach poda się 10 osobom dwukrotnie w odstępie tygodnia, to jej stężenie we krwi, a tym samym BA, będzie nieco inne u każdego z 10 badanych w wyniku zmienności zewnątrz- lub międzysobniczej, ale będzie też różne u tych samych osób (każda otrzyma lek testowany i referencyjny) ze względu na zmienność wewnątrzosobniczą. Taka jest natura biologii, jesteśmy różni (tylko przy klonowaniu można otrzymać takie same osobniki), ponadto każdy z nas zmienia się w czasie. Stąd BA tego samego leku jest różna u różnych osobników, a także u tego samego osobnika, gdy lek podano po raz wtóry. Dodatkowo, zmienność w biodostępności leku skutkuje

je różną reakcją na lek, ponieważ stężenie leku w miejscu działania będzie różne.

Opisana powyżej sytuacja dotyczy tego samego leku. Generyk zawiera, w porównaniu z lekiem oryginalnym, tę samą substancję aktywną, w tej samej dawce, ale nie jest takim samym lekiem – może bowiem zawierać różne substancje pomocnicze (zwykle zawiera te same) i w innych proporcjach (te są tajemnicą producenta leku oryginalnego). Istnieje więc ryzyko, że inna proporcja czy inny składnik substancji pomocniczych w leku generycznym będą różnie oddziaływały na procesy (a) i (b) i w ten sposób zmieniły BA substancji czynnej w stosunku do leku oryginalnego. By to sprawdzić wykonuje się badanie biorównoważności (*bioequivalence*, BE), które polega na porównaniu BA tej samej substancji aktywnej pochodzącej z leków: generycznego (testowanego, T) i oryginalnego (referencyjnego, R) podanych w jednorazowej, tej samej dawce na czczo ochotnikom (zwykle ok. 40) w sposób naprzemienny (krzyżowy) w tygodniowym odstępie. Po podaniu leków bada się stężenie substancji czynnej w różnych punktach czasowych i na tej podstawie wykreśla się u każdego ochotnika krzywą zmian stężenia od czasu (rycina 1). Powierzchnia pod tą krzywą (*area under the curve*, AUC) określa precyzyjnie liczbę cząsteczek leku, które przedostały się do krążenia ogólnego.



Rycina 1. AUC dwóch leków: referencyjnego (kropki) i badanego (ciągła linia). Rycina pochodzi z Orange Book

Substancje pomocnicze, które mogą wpływać na procesy (a) i (b), nie oddziałują na cząsteczki leku znajdujące się we krwi w formie „wolnej”, zjonizowane, lub przyłączone do różnych elementów krwi. Dlatego substancje pomocnicze nie mają wpływu na dalsze losy leku (dystrybucję do narządów, metabolizm, eliminację). Nawet jeśli lek działa za pośrednictwem metabolitu, a poziom substancji

macierzystej we krwi jest mierzalny – określenie BA substancji macierzystej tak w leku generycznym, jak i oryginalnym wystarcza do oceny biorównoważności (BE).

Podstawą oceny BE jest określenie stosunku AUC_T/AUC_R (T, testowany, generyczny; R, referencyjny; AUC określa wielkość BA, a C_{max} i T_{max} charakteryzują szybkość). W idealnej sytuacji stosunek ten wynosi 1, gdy wielkość AUC leku testowanego jest taka sama jak wielkość AUC referencyjnego. Jednak prawie zawsze stosunek średnich geometrycznych (bo wyniki otrzymane od każdego ochotnika są logarytmowane) różni się od 1; dlatego umówiono się, że BE stwierdza się wtedy, gdy średnia z 90% przedziałem ufności (*confidence interval*, CI) mieści się w granicach 0,8–1,25 (przedział ufności jest miarą zmienności – im mniejsza zmienność i im większa liczba badanych, tym mniejszy CI). Te granice wybrano umownie i nie oznaczają one, że lek generyczny różni się od referencyjnego o 20%, ale że w 20% „mieszczą” się wszystkie zmienności: zewnętrz- i wewnątrzsobnicza, zmienność pomiarów i wreszcie prawdziwa różnica (o ile w ogóle istnieje) między lekiem generycznym i referencyjnym. Warto zwrócić uwagę, że gdyby w badaniu BE użyto wyłącznie leku referencyjnego, to ze względu na wspomnianą zmienność stosunek AUC_T do AUC_R także nie byłby równy 1.

Dla porównania maksymalnego stężenia i czasu (C_{max} i T_{max}) leku generycznego (testowanego) i referencyjnego postępuje się tak samo, tj. po wykreśleniu krzywej zmian stężenia od czasu (tę, która określa AUC) znajduje się maksymalne stężenie substancji czynnej we krwi (C_{max}) oraz czas, w którym C_{max} występuje, czyli T_{max}. Umówiono się, że BE stwierdza się wtedy, gdy średnia geometryczna C_{max} z 90% przedziałem ufności mieści się w granicach 0,8–1,25. Wartości T_{max} dla leku testowanego i referencyjnego porównuje się za pomocą testów nieparametrycznych.

Biorównoważność zapewnia wymiennność terapeutyczną. Jeśli lek generyczny jest biorównoważny z oryginalnym, z dużym prawdopodobieństwem – potwierdzonym wieloma badaniami klinicznymi – można przyjąć, że odpowiedź ustroju na lek generyczny będzie taka sama, jak na lek oryginalny (oczywiście, z zachowaniem zmienności biologicznej). To stwierdzenie nie obejmuje leków NTI (*narrow therapeutic index*, wąski indeks terapeutyczny; np. cyklosporyna, takrolimus, karbamazepina i in.), które wolno wymieniać wyłącznie wtedy, kiedy lekarz dysponuje możliwością monitorowania stężenia leku we krwi (by je oznaczyć przed zamianą leku i po zamianie). Dotyczy to każdej wymiany: zarówno z leku oryginalnego na generyczny, jak też z generycznego na oryginalny!

