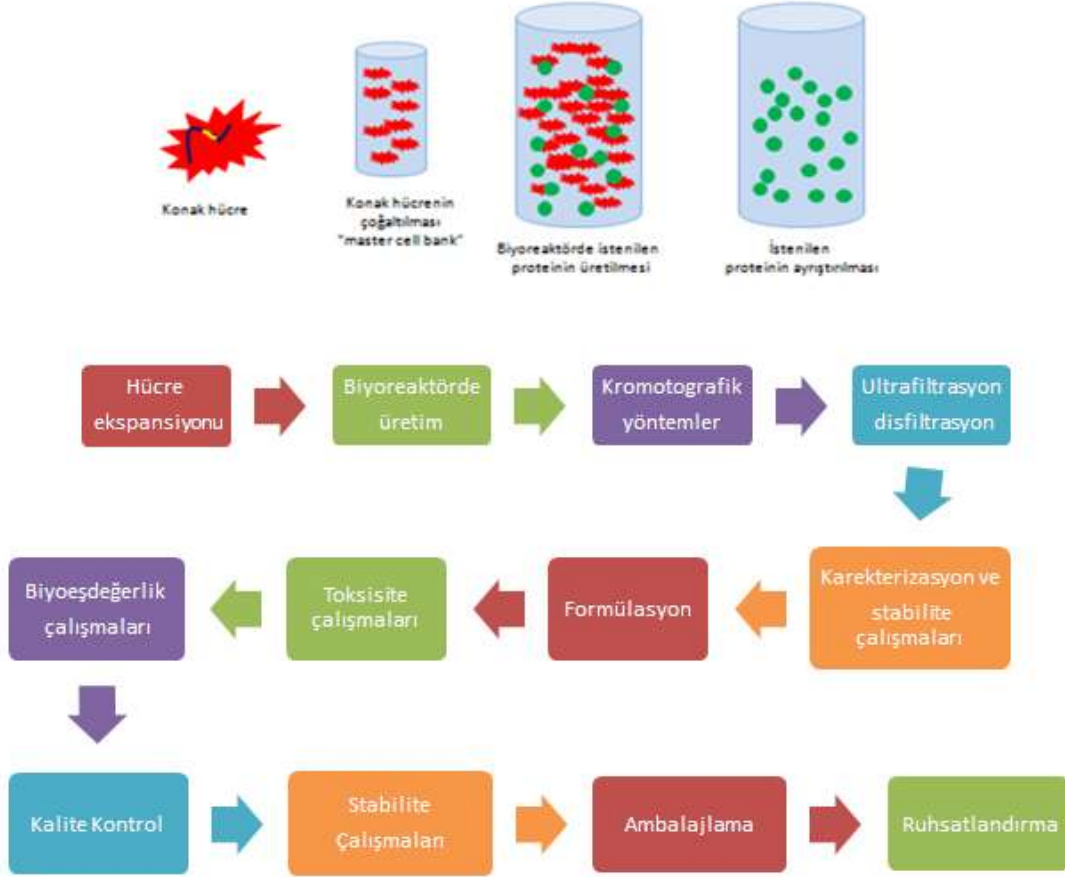


BİYOBENZER ÜRÜNLERDE KLİNİK UYGULAMADA KARŞILAŞILABİLECEK SORUNLAR VE İMMUNOJENİSİTE

Biyofarmasötikler, biyoteknoloji kullanılarak yaşayan organizmalardan kontrollü gen ekspresyonu, rekombinant DNA teknolojisi, antikor üretim teknikleri ile elde edilen ilaçlardır. Non-biyolojik ya da kimyasallar ajanlardan temel farklarının ve kullanımlarındaki özel yaklaşımlarının temelinde canlıdan elde edilmesine dayanan özellikleri yatmaktadır. Üretici firma tarafından kendi teknolojisi ile bir konak hücresinin (mantar, bakteri veya memeli hücresi) genlerine üretilmesi arzu edilen proteinin genetik materyali eklenir ve konak hücre kendi proteinleri gibi üretilmesi istenen proteinleri de üretir. Bu hücreler daha sonra çoğaltılarak “master cell bank” oluşturulur ve kaynak olarak kullanılır. Biyoreaktörler içinde uzun üretim süresince konak hücrelerin ürettiği biyolojik ürün ayrıştırılır, saflaştırılır, karakterizasyon ve stabilite çalışmaları yapılır, çok sayıda kalite kontrol testleri uygulanır, ilaç haline formüle edilir, toksikolojik ve biyo eşdeğerlik çalışmaları yapılır ve ambalajlama işlemleri ile kullanıma hazır hale getirilirler (Şekil 1)

Şekil 1’de bahsedilen ve şematize edilen aşamaların hemen hepsi kimyasal ilaçlardan farklı ve genellikle üretici firmaların özgün teknolojileri ile yapılmaktadır. Yine bahsedilen aşamaların her birinde konak hücrelerin kontrol dışı maruz kaldığı stres faktörleri, farklı operasyon koşulları, farklı hücre yapıları ve üreme ortamları dolayısıyla ortam basıncı ve gaz düzeyleri gibi biyoreaktör koşulları, ayrıştırma işleminde kullanılan yöntemler ve maddelerin farklı bağlanma koşulları, karakterizasyon ve stabilite çalışmaları, referans standart maddeler gibi çok sayıda faktör üretilen proteinin yapısında, karbonhidrat zincirlerinin yapısında, immunojenisitede değişikliğe neden olarak biyofarmasötüğün yapısını etkileyebilmektedir. Bu değişiklikler ilaç etkinliği ve yan etkiler açısından riskler oluşturmaktadır(Şekil 2)



Şekil 1. Biyofarmasötik üretim aşamalarının genel şematizasyonu

Şekil 2’de gösterilen süreç içinde gelişmelere bağlı değişiklikler ve özellikle konak hücredeki kaçınılmaz değişimler aynı üründe bile zaman içinde farklılaşmaya neden olur (mikroheterojenite). Bu değişikliklerin ürün üzerine etkisi özellikle içeriklerinde bulunan protein ve karbonhidrat yapılarının aydınlatılması ve zamanla değişimin gözlenmesi amacıyla testlerle denetlenir ve kontrol altında tutulur.

- ✓ SDS (Sodyum Dodecil Sülfat) Jel
- ✓ Konformasyonel analizler
- ✓ Amino asit sekans
- ✓ Agregat oluşumunun gözlenmesi
- ✓ HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi) Peptid haritalama
- ✓ Heterojenite
- ✓ SEC (Büyükölçekçe Ayırma Kromatografisi)
- ✓ Yabancı madde profili
- ✓ Biyoanaliz/fonksiyon

- ✓ Degradasyon/stabilite
- ✓ LC-MS/MS (Sıvı kromatografi- Kütle Spektrometri)
- ✓ X-Ray Kristallografi
- ✓ NMR (Nükleer Manyetik Rezonans)



Şekil 2. Biyofarmasötik üretimini etkileyen faktörler ve ürün kalitesinin değişmesi riski.

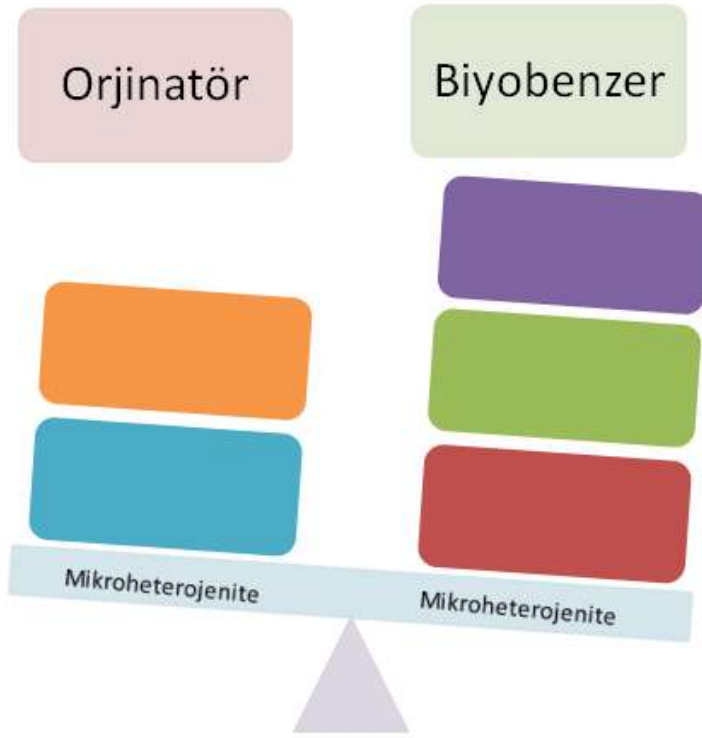
Biyofarmasötikler immunojen olmaları, ortam şartlarına bağlı özelliklerinin çok kolay değişebilir olması, stabil olmayan yapıda olmaları, çok büyük molekül olmaları ve en önemlisi canlı hücrelerden üretilmeleri ile kimyasal ilaçlardan ayrılırlar. Biyofarmasötiklerin farklı bir üretici tarafından aynı olmayan sistemler ve farklı hücre hattı kullanılması nedeniyle kimyasal ilaçlar gibi aynısı üretilemez. Hatta aynı firmanın ürettiği seriler arasında bile farklılıklar olabilir. Diğer yandan, antikor gibi büyük moleküllerin yapısının tam olarak ortaya konması ve birebir aynısının yapılması da bugün için mümkün değildir. Dolayısı ile farklı üreticiler orijinal moleküle ancak benzer moleküller üretebilirler ki, “biyobenzer” tanımı da bu farklılıkları ortaya koymak için kullanılmaktadır. Biyofarmasötiklerde ufak değişiklikler ilacın farmakokinetiğini, farmakodinamiğini, immunojenitesini ve etkinliğini etkileyebilmektedir. Biyobenzerler ile ilişkili temel sorun burada kendini göstermektedir; kaçınılmaz farklılıklar ilaç farmasötik formunu, veriliş yolunu dolayısıyla ilaç etkinliği ve güvenliğini ne ölçüde etkilemektedir.

Biyobenzer Ürünlerde Klinik Uygulamada Karşılaşılabilecek Sorunlar

1.“**State of the art**”. İster orijinatör olsun, ister biyobenzer molekül bir biyofarmasötüğün üretim süreci üst düzey teknoloji, yeterli deneyim, yeterli organizasyon ve üst düzey kalite

uygulamaları gerektirir. Biyolojik ürünlerde temel konu ürün kalitesi ve bunun denetimidir. Maliyeti düşürmek amaçlı ortaya çıkan biyobenzer ürünlerde maliyetten kaçınmak amacıyla yüksek kalite ve standartlardan ödün verilmesi kabul edilemez. Sağlık otoriteleri için ve pratikte kullanımla ilgili en önemli sorun eşdeğerlik tartışması kadar biyobenzerlerin üretim sürecinin kalite sağlanması ve denetlenebilirliğidir.

2. İki biyobenzer molekülün mikroheterojenite nedeniyle zaman içinde daha da farklılaşması söz konusu olabilir mi? Aslında biyofarmasötik üretim disiplini içinde sorun olmaması gereken bir durumken üretim ihmalleri durumunda büyük problemlere yol açabilecek bir sorun olabilir (Şekil 3). Uygun farmakokinetik çalışmalar yapılmalı, mikroheterojenite nedeniyle bu çalışmalar yapılamıyorsa, yerine uygun referans standartlarda farmakodinamik çalışmalar yapılmalıdır.



Şekil 3. Biyobenzerlerin zaman içinde farklılaşma riski: Biyobenzerlerde üretim süreçlerindeki değişikliklere bağlı olarak mikroheterojenite kaçınılmazdır. Ürün serileri arasında bile fark vardır. Bu yüzden biyobenzerler aynı olamaz.

3. Biyobenzerlerin hekim insiyatifi dışında birbirinin yerine kullanılması. Bu durumun sorun teşkil edeceğine dair açık kanıtlar olmamasına rağmen biyobenzerlerin etkinlik ve yan etki takibinde sorun yaratacağından önerilmemektedir. Etkinlik ve yan etkiler ile ilişkili hasta bilgilendirilmeli ve hasta tercihi önemsenmelidir. İlaç değişimi durumunda ilaçla ilişkili ya da

ilişkisiz olumsuz sonuçlar hukuksal sorunlar yaratabilir. Bu durum nedeniyle de hekim inisiyatifi dışında değişim yapılmamalıdır.

4. İhalelerde hastane eczanelerine orijinatör yerine biyobenzerini alma zorunluluğu olabilir mi? İhale kurallarının biyobenzerlere göre güncellenmesi gerekmektedir. Hekim inisiyatifi dışında biyobenzerler arasında değişim engellenecekse, jenerik ilaçlara uygulanan ihale kuralları biyobenzerlere uygulanamaz. Her bir biyobenzerden eczanede bulundurulmalıdır. Bugün için Avrupa İlaç Ajansı (EMA), Avrupa Birliği ülkelerinde hekim inisiyatifi dışında ilaç değişimini önermemekte ya da izin vermemektedir.

5. Farklı biyobenzerler hastada bir arada kullanılabilir mi? Bu şekilde bir kullanım kesinlikle önerilmemektedir. Bu nedenle serbest eczaneler ya da hastane eczanesinde her biyobenzerin her bir formu bulundurulmalıdır.

6. Biyobenzerler ile orijinatörü karşılaştıran klinik çalışmalar etik midir? Maliyet etkinlik kavramının getirdiği zorunluluklar içinde etik değildir denilemez. Ancak hasta bilgilendirilmesi sırasında klinik çalışmanın amacının daha iyi bir sonucu hedeflemek olmadığı vurgulanmalıdır. Biyobenzerin daha iyi olabileceğini araştıran çalışmalar “superiority” çalışmaları olmalıdır, ki bu durumda biyobenzer ilaçtan ziyade yeni bir ilaçtan bahsetmek gerekir. Biyobenzer çalışmaları genellikle “non-inferiority” çalışmalarıdır.

7. İlaç güvenilirliğinin karşılaştırılması açısından hastalar tedavi boyunca ve sonrasında en az 6 ay izlenmeli ve uygulanan ilaçlara ait farmakovijilans ve risk yönetimi planları yapılmalıdır

İmmunojenisite

Biyofarmasötiklerin özellikle de biyobenzerlerin kullanımı ile ilişkili en güncel ve önemli konulardan biri immunojenisitedir. Protein dizaynı ve sonrasındaki konformasyonel değişiklikler, safsızlık, kullanılan yardımcı maddeler, üretim ve ambalajlamadaki her basamak, veriliş yolu, sıklığı, süresi, ayrıca immünolojik yanıtın baskılanması ve beraber kullanılan ilaçlar gibi hastaya ait özel değişkenler immunojenisiteyi etkileyebilir. Dolayısıyla ilaç geliştirilme sürecinde immunojenisite riskinin en aza indirilmesi ve klinik uygulamalarda takibi biyofarmasötikler için en temel sorunlardandır.

Bir antikor bağlanma yerine ya da T-hücre reseptörüne spesifik olarak bağlanabilen maddelere antijen ve bu bağlanma sonucunda humoral ya da hücrel yanıt oluşturan antijene de immunojen denir. Her immunojen antijen ancak her antijen immunojen değildir. Özellikle

yüksek ağırlıklı proteinlerde kompleks konformasyonel yapı ve farklılaşmış glikoproteinler, posttranslasyonel modifiye yan zincirler antijenik yerlerdir ve immunojen olabilirler. İmmunojenisite, bir antijenin hapten-taşıyıcı ilişkisi, epitop (antijenik özelliği belirleyen bölge) parçasının ikincil, üçüncül, dördüncül yapılar içinde konumlanması, eklenen yan zincirler vs. ilişkili çok sayıda faktöre bağlı olabilir (Tablo 1).

Tablo 1. İmmunojenisiteyi Etkileyen Üretim süreci ve İlaçla İlişkili Faktörler
1- Primer Yapı
2- Agregatlar
3- Katkı Maddeleri
4- Yabancı Maddeler
5- Posttranslasyonel modifikasyon
6- Degradasyon ve yeni epitoplar
7- Glikolizasyon
8- Ürünün ve proteinin kendisine yardımcı CD4 ⁺ ya da B hücre epitoplannın varlığı

Her biyofarmasötik bir antijendir ve immunojen olup olmayacağı veya ne kadar immunojen olacağı üretim sürecindeki her basamakta çok sayıda faktörden etkilenmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. İlaç Geliştirme ve Üretim Sürecinde İmmunojenisite
1- Ürün Gelişimi
a. Protein dizaynı
b. Preklinik gelişim
c. Klinik gelişim
2- Üretim Süreci
a. Üretim sistemi seçimi
b. Hücre kültürü ve kurtarma sistemi tasarımı
c. Formülasyon gelişimi
d. Karakterizasyon, biyoeseğerlik, stabilite, toksikoloji çalışmaları
e. Ambalajlama yöntemi
f. Ticari Üretim

Biyoterapötik ürün ve süreç gelişimi aşamalarında immunojenisite değerlendirmeleri çok yönlü ve son derece ayrıntılıdır (Şekil 4). İmmunojenisite ürün güvenliğinin ve ürün kalitesinin önemli bir ölçütüdür. Bununla beraber güvenlik açıkları ya da güvenlik açığı

endişesi kaçınılmazdır. Tüm bunlardan dolayı farmakovijilans büyük bir öneme sahiptir. Biyobenzerlerin adlandırılması ve reçetelenmesi kurullarla belirlenmeli, kılavuzlara uyulmalıdır.



Şekil 4: İlaç geliştirme ve üretim sürecinde immunojenisite riskinin değerlendirilmesi

İmunojenisite biyofarmasötiklerin güvenlik ve etkinliklerini belirleyebilen en önemli faktörlerdendir (Tablo 3).

Biyobenzer İlaçlarda Maliyet, Etkinlik ve Klinik Çalışmalar

Biyolojik ürünlerin dünyada yıllık satış tutarının 2015 yılı itibariyle 200 milyar dolar olması beklenmektedir. Bu durum hem kamu finansmanı açısından önemli bir yük, hem de birçok şirket için önemli bir pazar anlamına gelmektedir. Biyobenzerlerin tamamen ayrı ilaç kabul edilerek benzeri oldukları orijinal molekül gibi tüm aşamalardan geçerek ruhsatlanması maliyet avantajı oluşturmaz ki, biyobenzerlerin varlığının temel amacı biyofarmasötik ilaçların maliyetini düşürmektir. Biyobenzerlerin geliştirilme sürecinde klinik çalışmalar daha sınırlı tutularak ve "extrapolation" ile maliyetler düşürülmeye çalışılmaktadır. Her endikasyonda çalışma yapılmaması, faz çalışmalarının bazılarının şart koşulmaması ve çalışması olmayan endikasyonlarda "ekstrapolasyon" ile onay alınması var olan endişeleri artırmaktadır.

Tablo 3. İmmunojenisitenin Klinik Sonuçları

1- Güvenlik

- a. Hipersensitivite veya anafilaktik reaksiyonlar
- b. Eksiklik sendromu
- c. İmmun kompleks formasyonu

2- Etkinlik

- a. Terapötik proteinin aktivitesinin nötralizasyonu
- b. Yarı ömrün kısalması veya uzamasıyla etkinlik üzerine arttırıcı veya azaltıcı rolü
- c. Değişen biyoyararlanımın etkinliğinin artması veya azalması
- d. Farmakokinetik yayılım veya yarı ömrün kısalması
- e. Biyodağılımın değişmesi
- f. PK değişiklikleri doz ayarında değişimleri gerektirebilir.

3- Diğer

- a. Gözle görülür hiçbir etki yok

EMA; fizikokimyasal benzerlik ve yapısal benzerlik tanımlanması durumunda biyobenzerlerin orijinatöre benzer klinik etkinlik gösterebileceğini vurgulamaktadır. Dolayısı ile belli hassas hedeflerle etkinlik ve güvenlik verilerinin elde edilebileceğini varsaymaktadır. Ana sonlanım noktalarının birincil sonlanım noktası olmadığı (örnek kanserli hastalarda progresyonsuz ve genel sağkalım sonuçları gibi), ancak bu sonuçları iyi tanımlanmış hassas kriterlerle (örneğin meme kanserinde lokal evrede neoadjuvan tedavi ile tam yanıt oranı) gösterebilen çalışmalar EMA tarafından önerilmektedir. Orijinator ürünün geliştirilmesi ve onay sürecindeki gibi klasik çalışmaların yapılması durumunda hem maliyet avantajı oluşmayacak, hem de daha kısa ve basit olarak gösterilebilecek güvenlik ve etkinlik çalışmalar varken sil baştan çalışmaların etik olmayabileceği vurgulanmaktadır. Dolayısı ile biyobenzer ilaçlarla yapılacak klinik çalışmalarda üç önemli noktaya dikkat çekilmektedir;

1-Sonuçları en iyi yansıtabilecek homojen hassas hasta popülasyonunda çalışmanın yapılması,

2- Orijinatör ilaçların klinik etkinliğine benzer sonuçlara sahip olduğunu gösterecek hassas sonlanım noktaları,

3-Güvenlik-immunojenisite verileri.

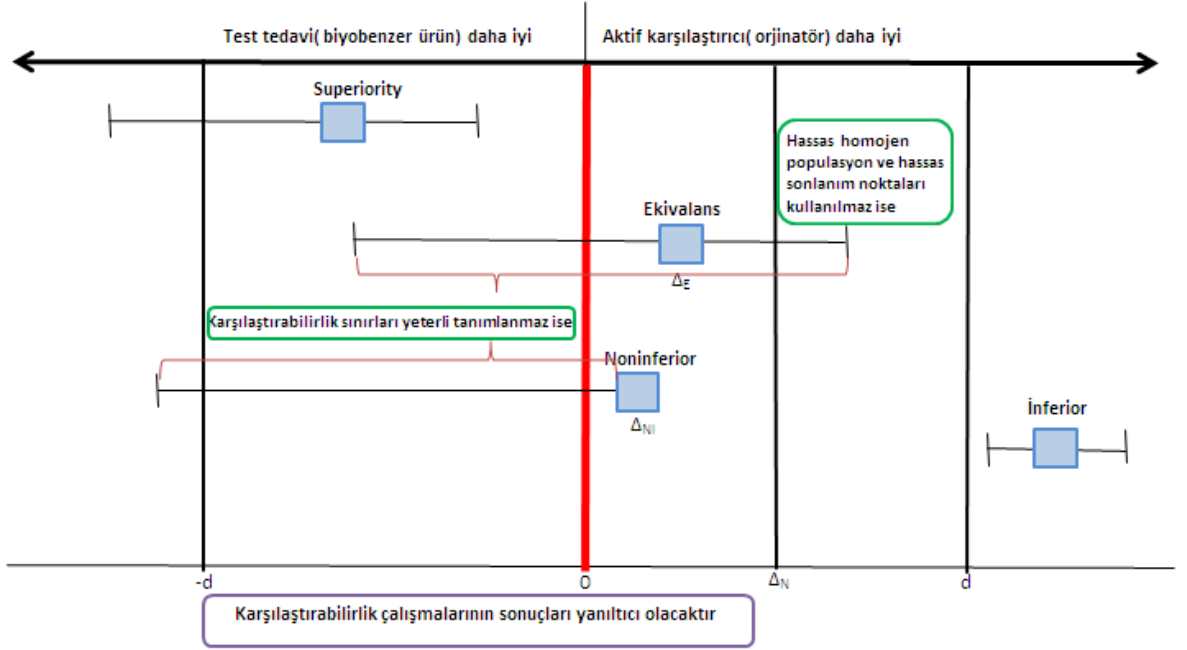
Homojen hassas hasta popülasyonu tanımı son derece önemlidir; meme kanserli hastalar düşünüldüğünde herhangi bir kemoterapi almamış, olası komorbiditeleri daha az ve daha önce kemoterapi ile bağışıklık sistemi ve organ rezervleri etkilenmemiş, hastalık yaygınlığı açısından oldukça benzer olan erken evre meme kanserli hastalar hassas hasta popülasyonu için oldukça uygun bir gruptur. Fakat metastatik evre kanserli hastalar, organ rezervleri ve hastalık yaygınlığı, Komorbi ek sorunlar ve immün sistemin önceki tedavilere ve hastalığa bağlı etkilenmiş olabileceğinden dolayı homojen hassas hasta popülasyonu tanımı için uygun görülmemektedir. Dolayısı ile metastatik hastalarda yapılan ve sonuçların indirekt karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçları uygun olmayabilir.

Yine erken evre meme kanserinde neoadjuvan kemoterapiye tam yanıt, sağkalım sonuçlarını iyi predikte eden hassas bir sonlanım noktasıdır. Oysa homojen ve hassas popülasyon olmayan metastatik kanserli hastalarda tümörün tedaviye yanıtları sağkalım sonuçlarını sağlıklı predikte etmeyebilir ve biyobenzer çalışmalarda sonlanım noktası olarak kullanılmaları sağkalım sonuçlarını temsil etmeleri açısından yeterli olmayabilir.

Biyobenzer çalışmalarda amaç orijinatörle karşılaştırılabilirlik olduğu için EMA, çalışmaların “equivalence” ya da “non-inferiority” şeklinde dizayn edilmesini önermektedir. Bu çalışmalarda istatistiksel olarak “equivalence” ya da “non-inferiority” sınırlarının belirlenmesi de ayrıca önemlidir. Sınırlar geniş tutulursa daha az hasta sayısı ile çalışmalar yapılabilir, ancak daha az hasta sayısı ile yapılan bu çalışmaların orijinatör ile biyobenzer ürünün benzer etkinliğe sahip olduğunu gösterme gücü azalabilir. Sınırlar dar tutulursa çalışmalardaki hasta sayısı yükselir, bu da arzulanan maliyet düşüşüne engel olabilir (Şekil 5).

Biyobenzerlerin orijinatörle karşılaştırılabilir olduğunu araştıran ve ilaç maliyetini düşürmek için daha az hasta ve zamanda yapılmasını hedefleyen biyobenzer çalışmaları sağlık otoriteleri açısından üzerinde titizlikle durulması gereken bir konudur. Maliyet hedefi ön plana çıkarıldığında etkinlik ve güvenlik sorunları ortaya çıkabilir. Etkinlik ve güvenli kaygılarının öne çıkması arzulanan maliyet avantajının ortaya çıkmasını engelleyebilir.

Biyobenzer ilaçlarda maliyeti düşürmenin ve EMA tarafından da uygulanabilir olduğu belirtilen diğer bir yöntem de “ekstrapolasyon” yani endikasyon genişletmedir. “Ekstrapolasyon” ilaçların etki mekanizması açık şekilde bilindiği durumlarda, belli endikasyonlarda orijinatörle biyobenzerin karşılaştırılabilir olduğunu gösterdikten sonra orijinatörün diğer endikasyonlarda çalışma yapılmaksızın biyobenzer ürünün ruhsatlandırılması olarak tanımlanabilir.

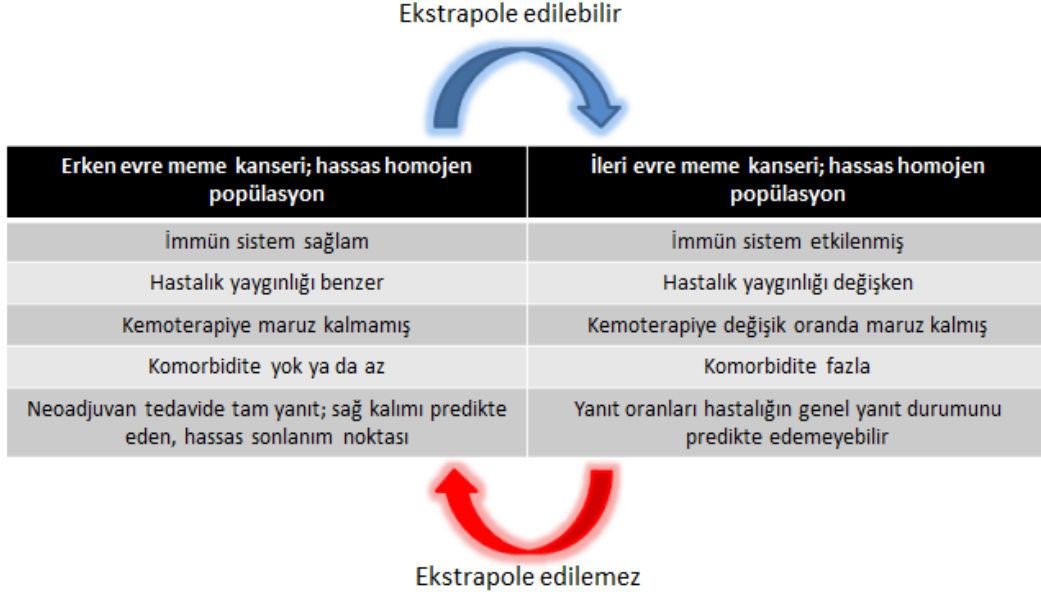


Şekil 5. Biyobenzer ilaç çalışmalarında çalışma tasarımı: Biyobenzer çalışmalarda amaç orjinatorle karşılaştırılabilirlik olduğu için bu çalışmalarda istatistiksel olarak sınırların belirlenmesi önemlidir. Eğer hassas homojen popülasyon ve hassas sonlanım noktaları kullanılmaz ise, karşılaştırılabilirlik sınırları yeterli tanımlanmaz ise, karşılaştırılabilirlik çalışmalarının sonuçları yanıltıcı olur.

“Ekstrapolasyon” ile birçok endikasyonda çalışma yapma şartı ortadan kalktığı için ilaç maliyetinde belirgin düşüş sağlanabilir. Bunun yanı sıra aynı olmayan fakat belli endikasyonlarda karşılaştırılabilir etkinlik ve güvenliğe sahip ilaçların kanserin her evresinde aynı etki gösterip göstermeyeceği tartışmalıdır (Şekil 6).

“Ekstrapolasyon” a ve klinik çalışmaların sadeleştirilmesine rağmen biyobenzerlerin hem hastalar hem de hekimler tarafından yeterince kabul görmemeleri ve kullanılmaması beklenen maliyet azalmasına engel olabilir.

Diğer yandan bir kanser türünde orjinatora benzer etkinlik ve güvenlik sonuçlarına sahip biyobenzerin diğer kanser türlerinde de aynı sonuçlara sahip olup olmadığı tartışmalıdır (Şekil 7).

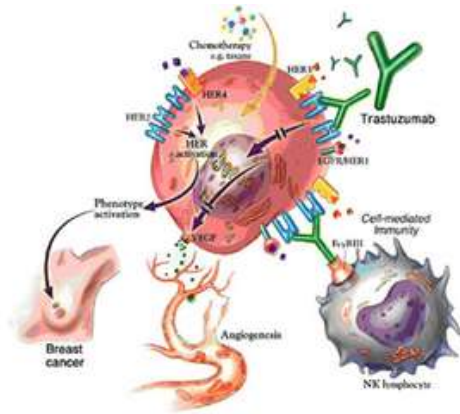


Şekil 6. Biyobenzer ilaçların erken evre ve ileri evre kanserde karşılaştırılabilirliği: Erken evre meme kanserinde endikasyon almış bir biyobenzer ileri evre meme kanseri için ekstrapole edilebilir ancak ileri evre meme kanseri endikasyonu olan biyobenzerin erken evre meme kanserinin için ekstrapole edildiğinde aynı etkiyi gösterip göstermeyeceği tartışmalıdır.

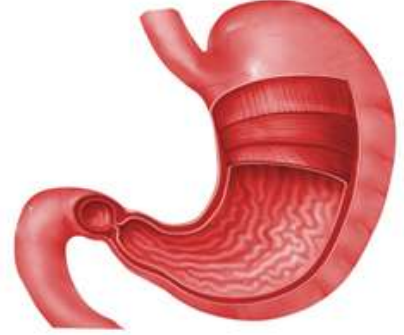
Karşılaştırılabilir Olmayan Kopya Ürünler (Non-Comparable Products)

Biyobenzer ürünlerin hem geliştirilmesi hem de klinik çalışmaların yapılması sürecinde orijinatör ürüne benzerliği, sağlık otoritelerinin belirlediği bilimsel ve kalite kuralları gereğince gösterilir. Birçok ülkede ve çok sayıda üretici tarafından orijinatör ürünün referans alınarak geliştirilmesi ve üretilmesi söz konusu olan ancak gerekli bilimsel ve kalite kontrollerinin olmadığı biyolojik kopya ürünler vardır. Bu ürünlerin yeterli bilimsel kanıt ve gerekliliklerini yerine getirmeden biyobenzer olarak tanımlanmaması gerekir. Bu biyolojik ürünler;

1. İlgili ülkelerde biyobenzerler ile ilişkili gereklilikler sağlık otoritesi tarafından tanımlanmadan önce üretilmiş ve onay almış olabilirler.
2. İlgili ülkelerde biyobenzerler ile ilişkili gereklilikler sağlık otoritesi tarafından tanımlanmasından sonra alternatif yol ya da kestirme yollarla üretilmiş ve onay almış olabilirler.
3. Biyobenzerler ile ilişkili gereklilikler sağlık otoritesi tarafından tanımlanmamış ülkelerde uluslararası geçerli rehberlere uygun olmadan geliştirilmiş, üretilmiş ve onay almış ürünler olabilirler. Benzerlik çalışmaları yoktur.



**Trastuzumab
HER-2 (3+)
(2+ ISH+)**



MEME KANSERİ	MİDE KANSERİ
Hassas homojen popülasyon erken evre meme kanseri	Memedeki karşılaştırılabilirlik marginleri mide için geçerli mi?
Hassas sonlanım noktası erken evre hastalıkta neoadjuvant tedavi ile tam yanıt	Mide de hassas ve homojen hasta popülasyonunun meme ile aynı olması mümkün değil ve meme kanserindeki kadar kolay tanımlamaz
İmmünojenite	İmmünojenite datası farklı hastalıklara genellenebilir mi?



İnfliksımab'a benzer şekilde ekstrapole edilecek ise;

Şekil 7. Meme kanserinde kullanılan transtuzumab infliksımaba benzer şekilde ekstrapole edilirse etkinlik ve güvenlik sonuçlarının mide kanseri içinde aynı sonuçlara sahip olup olmayacağı tartışmalıdır.

Karşılaştırılabilir olmayan biyolojik kopya ürünlerin biyobenzer olarak tanımlanmaması, bu konuda hekim ve sağlık otoritelerin daha dikkatli olması gerekir.

Kaynaklar

1. Zsuzsanna Kalman-Szekeres, Marcell Olajos, Katalin Ganzler. Analytical aspects of biosimilarity issues of protein drugs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 69 (2012) 185-195
2. Emmanuel Lesaffre. Superiority, equivalence, and non-inferiority trials. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2008; 66(2):150-4
3. Erik Christensen. Methodology of superiority vs. equivalence trials and non-inferiority trials. *Journal of Hepatology* 46 (2007) 947-954
4. Shein-Chung Chow, Jen-pei Liu. Statistical assessment of biosimilar products. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 20 (2010) 10-30
5. Maria D.F.S. Barbosa, Sandeep Kumar, Helen Loughrey, Satish K. Singh. Biosimilars and biobetters as tools for understanding and mitigating the immunogenicity of biotherapeutics. *Drug Discovery Today* 17 (2012) 1282-1288
6. Martina Weise, Marie-Christine Bielsky, Karen De Set et al. Biosimilars: what clinicians should know. *Blood* 120 (2012) 5111-5117
7. Maria D.F.S. Barbosa. Immunogenicity of biotherapeutics in the context of developing biosimilars and biobetters. *Drug Discovery Today* 16 (2011) 345-353
8. Wei Wang, Satish K. Singh, Ning Li et al. Immunogenicity of protein aggregates-concern and realities. *International Journal of Pharmaceutics* 431 (2012) 1-11
9. Basant Sharma. Immunogenicity of therapeutic proteins part2: impact of container closures. *Biotechnology Advances* 25 (2007) 318-324
10. Michele Kessler, David Goldsmith, Hubb Schellekens. Immunogenicity of biotherapeutics. *Nephrol Dial Transplant* 21 (2006) 9-12
11. Markus Heim, Lin Römer, Thomas Scheibel. Hierarchical structures made of protein. The complex architecture of spider webs and their constituent silk proteins. *Chemical Society Reviews* 39 (2010) 156-164
12. Silvio Garattini, Vittorio Bertele. Non-inferiority trials are unethical because they disregard patients' interests. *Lancet* 370 (2007) 1875-1877

13. Yazının büyük bölümünde, şekil ve tablolarda Valerie Quarmby'nin sunumundan yararlanılarak hazırlanmıştır

(https://www.proimmune.com/ecommerce/pdf_files/quarmby.pdf)son erişim tarihi
03.07.2014)