

BIOEKVIVALENCIA-VIZSGÁLATOK BIOSTATISZTIKAI ÉS FARMAKOMETRIAI ELEMZÉSE

MTA doktori értekezés

Dr. Tóthfalusi László

Budapest

2018

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés és célkitűzés	6
2. A bioekvivalencia-vizsgálatok elmélete és gyakorlata (Irodalmi háttér)	11
2.1 Jogi szempontok.....	11
2.2 A bioekvivalencia-vizsgálatok szerepe a gyógyszerfejlesztésben	12
2.3 A bioekvivalencia-vizsgálatok gazdasági aspektusai	12
2.4 A bioekvivalencia-vizsgálatok farmakometriai modellje	12
2.4.1 Farmakokinetikai modell.....	13
2.4.2 A farmakokinetikai modell kiterjesztése random komponensekkel.....	14
2.4.3 Farmakokinetikai metrikák, mérőszámok.....	16
2.5 A bioekvivalencia-vizsgálatok statisztikai analízise	18
2.5.1 Az ekvivalencia statisztikai hipotézisvizsgálata	18
2.5.2 A bioekvivalencia-vizsgálatok erőgörbéi és az elemszám becslése	21
2.5.3 Az átlagos bioekvivalencia (ABE) kritikája, az individuális bioekvivalencia (IBE) koncepciója.	22
3. Módszerek.....	25
3.1 Hardver	25
3.2 Szoftver	25
3.3 Szoftvermérnöki szempontok	27
3.4 Szimuláció sokdimenziós paraméterterben.....	30
4. Eredmények	32
4.1 Bioekvivalencia-metrikák vizsgálata	32
4.1.1 Az optimális bioekvivalencia-metrika tulajdonságai, a kinetikai szenzitivitás fogalma	32
4.1.2 Csonkolt (truncated) AUC-metrikák – problémák és lehetőségek.....	34
4.1.3 Cmax és Tmax statisztikai tulajdonságai.....	41
4.1.4 Új másodlagos bioekvivalencia-metrikák.....	47
4.1.5 Az Intercept-metrika (I) és a Parciális AUC (pAUC) érzékenység vizsgálata.....	48
4.1.6 Összetett felszívódású, módosított felszabadulású vegyületek bioekvivalenciája	49
4.2 Keskeny terápiás indexű gyógyszerek bioekvivalenciája.	51
4.2.1 Peremhatás és az öröklődési komponens becslése bioekvivalencia-vizsgálatokból	51
4.2.2 A karbamazepin akut mellékhatásainak PK/PD-modellje	53

4.2.3	Karbamazepintabletták bioekvivalenciája szimulált betegcsoportban	61
4.3	Individuális bioekvivalencia	63
4.3.1	Az egyén x formuláció variancia komponens becslése torzított.....	63
4.3.2	A farmakokinetikai változékonyság örökölhető komponensének meghatározása	66
4.4	Nagyvarianciájú gyógyszerek bioekvivalenciájának kiértékelése	68
4.4.1	A nagyváltozékonyságú gyógyszerek (HVD/P) problémája.....	68
4.4.2	A skálázott és a referencia skálázott átlagos bioekvivalencia-teszt koncepciója	69
4.4.3	A hatásági határérték (regulatory cutoff) megadása.....	72
4.4.4	Az RSABE-módszer FDA-implementálása és annak bírálata	73
4.4.5	RSABE-algoritmusok.....	75
4.4.6	A mintanagyság követelményei nagyvarianciájú gyógyszerek törzskönyvezéséhez	88
4.5	Nem hagyományos készítmények bioekvivalenciája	90
4.5.1	Szemponatok a „nanogyógyszerek” egyszerűsített törzskönyvezéséhez.....	90
4.5.2	Biológiai és biohasonló készítmények: felírhatóság, gyógyszerelváltás, cserélhetőség..	91
4.5.3	Antireumás biológiai gyógyszerek hatásának függése az alkalmazási sorrendtől.	92
5.	Összefoglalás.....	96
5.1	Új tudományos eredmények.....	96
5.2	Gyakorlati hasznosítás	98
	Az értekezéshez kapcsolódó saját közlemények listája	101
	Egyéb hivatkozások	105

Rövidítések jegyzéke

Hatóságok és a gyógyszertervezéssel kapcsolatos fogalmak

FDA	Food and Drug Administration (az USA Gyógyszerhatósága)
EMA	European Medicine Agency (az Európai Unió Gyógyszerhatósága)
CHMP	Az EMA döntéshozó bizottsága gyógyszerek esetén

Farmakokinetikai fogalmak

PK	Pharmacokinetics (farmakokinetika)
PD	Pharmacodynamics (farmakodinámia)
PK/PD	Koncentráció és a hatás közti kapcsolat
AUC _t	A plazmakoncentráció görbe alatti területe az utolsó mért időpontig
AUC _{inf}	A plazmakoncentráció görbe alatti területe végtelenig extrapolálva
AUC _{tr}	Csonkolt plazmakoncentráció görbe alatti területe
AUC _τ	Görbe alatti terület az utolsó mért időpontig
AUC _{0–72}	Görbe alatti terület a 0–72 h időintervallumban
pAUC	Parciális AUC
C _{max}	Maximális csúcskoncentráció
T _{max}	Maximális csúcskoncentráció megfigyelési időpontja
C _{trough}	A következő beadás előtt mért plazmakoncentráció
T _m	Adagolási időköz fenntartó adagolás esetén
C _{av}	Átlagkoncentráció fenntartó adagolás esetén
PTF%	Peak trough fluctuation
t _{1/2}	Felezési idő
k _a	Felszívódási sebesség állandója
k _e	Eliminációs sebességi állandó
Cl	Klirensz
V _d	Eloszlási térfogat
F	Biohasznosíthatóság mértéke

Bioekvivalenciával kapcsolatos fogalmak

T	Teszt (az új generikus) készítmény
R	Referencia (az először törzskönyvezett, referens készítmény)
GMR	Átlagos geometriai arány (Geometric mean ratio)
logGMR	Az átlagos geometriai arány logaritmus
CVw	Egyéni belüli relatív szórás (within-subject coefficient of variation)
CV _{WT} , CV _{WR}	Egyéni belüli relatív szórás
CV _{BT} , CV _{BR}	Egyének közötti relatív szórás
HVD/P	Highly variable drugs and drug products (nagyvarianciájú gyógyszerek)
NTI (drug)	Keskeny terápiás szélességű gyógyszer (Narrow Therapeutic Index drug)
ABE	Átlagos bioekvivalencia
ABEL	Average Bioequivalence with Expanded Limits
IBE	Individuális bioekvivalencia
SABE	Scaled Average Bioequivalence
RSABE	Reference Scaled Average Bioequivalence
SxF	Subject x Formulation.

Statisztikai jelölések

A valószínűségi eloszlás paramétereit, amelyekre a szaknyelv populációs paraméterként (angolban population) hivatkozik, görög betűvel jelölöm. A populációparaméterek becslőit, amelyek valószínűségi változók nagybetűvel, a kapott becsléseket (amelyek konkrét számok) kisbetűvel jelölöm.

TOST	Two one-sided t-test
E()	Várható érték
Prob(X)	X esemény valószínűsége
df	Szabadságfok
MSE	Átlagos négyzetes hiba (mean squared error)
NLME	Nemlineáris kevert modell (Nonlinear Mixed Effect)
GAM	Generalized Additive Modelling
REML	Restricted maximum likelihood

1. Bevezetés és célkitűzés

Ez az értekezés egy gyakorlati probléma elméleti vizsgálatáról szól. A gyakorlati problémával szinte minden orvos, gyógyszerész és gyógyszer felhasználó beteg találkozott már. Adott egy gyógyszer és annak hasonmása, közismert nevén generikus változata. Az orvos kérdése az, hogy felírja-e az olcsóbb generikust, vagy megtiltsa-e a helyettesíthetőséget. A gyógyszerész kérdése, hogy helyettesíthető-e a gyógyszer. A beteg kérdése az, hogy ugyanolyan hatékony-e ez a gyógyszer, mint a jól ismert másik. A negyedik szereplő az, akit röviden „Hatóságnak” neveznek, és rendszerint olyan szöveggörnyezetben fordul elő, hogy: „a gyógyszerkutatási költségek exponenciális növekedésének egyik oka a fokozódó hatásági elvárások...”

A kérdés az, hogy mi legyen a hatásági elvárás, kritériumrendszer az alábbi probléma megválaszolására: Adott két gyógyszerkészítmény, amelyek a hatóanyagot leszámítva teljesen eltérő összetételű gyógyszerek, és más gyártástechnológiával készülnek. Hogyan kell eldönteni, hogy azonos-e a hatásuk és a mellékhatásuk, mikor tekinthetünk őket ekvivalensnek?

A kérdésre adott válasz alapgondolata a következő. A farmakológia egyik alaptétele alapján, ha két gyógyszerkészítmény bevitele után a plazmakoncentráció-görbe minden időpontban megegyezik, akkor a hatásnak és a mellékhatásnak is azonosnak kell lennie. Azaz, ha a plazmagörbék azonosak, kinetikailag ekvivalensek, akkor az alaptétel alapján terápiásan is ekvivalensek lesznek. Vannak természetesen kivételek és speciális esetek, de az alapgondolat számtalanszor bizonyított. Ennek megfelelően a terápiás ekvivalencia visszavezethető a könnyebben mérhető farmakokinetikai ekvivalenciára, amit bioekvivalenciának hívnak. De itt az ekvivalencia szó nem szigorú azonosságot jelent a szó matematikai értelmében, hanem csak hasonlóságot, miután a plazmakoncentrációk sohasem lesznek pontosan ugyanazok két adagolás után. Még akkor sem, ha ugyanazt a gyógyszert pontosan ugyanolyan körülmények között adagolják. Ennek megfelelően a bioekvivalencia-megítélésre az az alapgondolat, hogy egy generikus gyógyszernél azt kell eldönteni, hogy a Teszt (T, generikus) és a Referencia (R, originális) készítménynek vérszintgörbéje hasonló-e, azaz elég közel esnek-e egymáshoz. Ez eldönthető úgynevezett bioekvivalencia-vizsgálat segítségével. Ennek során egy adott számú, tipikusan egészséges önkéntes mindegyikében megméri a gyógyszer vérszinteket a T-, valamint az R- készítmények adagolása után. A kapott vérszintgörbékől származtatott kinetikai paramétereket számolnak. A két legismertebb származtatott kinetikai paraméter, más néven metrika, a görbe alatti terület (AUC) és maximális csúcskoncentráció (C_{max}). A következő lépésben minden egyes önkéntes esetén kiszámolják az AUC- és C_{max}-arányokat, illetve minden egyes önkéntes esetén az AUC_{Ti}/AUC_{Ri} és C_{maxTi}/C_{maxRi} arányokat. Ezen átlagok aránya, azaz az AUC_T/AUC_R, illetve a C_{maxT}/C_{maxR} mutatja, hogy átlagosan hány százalékban tér el a T-készítmény adagolása után az R-készítményhez képest. Természetesen az így kapott arányok csak becslései az „igazi” (populációs) arálynak. Az igazi arányt nem tudjuk, de megadhatunk egy intervallumot, amelyikben az igazi arány benne van egy adott biztonsággal, ez lesz az arány konfidencia-intervalluma. Ennek megfelelően a számolásban a következő lépés az lesz, hogy kiszámoljuk az arányok konfidencia-intervallumát.

Példaképpen, ha azt kapjuk, hogy a C_{max} -arány 109.5% és a megfelelő 90%-os konfidencia-intervallum 98.3%–123.1%, akkor ez azt jelenti, hogy átlagosan 9.5%-kal magasabb a T-készítmény esetén a C_{max} , és 90%-os biztonsággal gondoljuk, hogy az igazi érték valahol a 98.3%–123.1% közötti intervallumban van. A kérdés az, hogy ekkora eltérés a T- és R-készítmény között sok vagy kevés?

Erre nincs tudományos válasz, de az amerikai gyógyszerhatóság (FDA) felmérése szerint a legtöbb orvos a 20%-os terápiás vérszint eltérésének nem tulajdonít klinikai jelentőséget (1). Ennek alapján az FDA 1990-ben azt a szabályozást vezette be, hogy két készítmény akkor bioekvivalens egymással, ha az AUC- és C_{max} -arányok alsó 90%-os konfidencia-intervalluma nagyobb, mint 80%, és kisebb mint 125%. Ekkor 90% biztonsággal állíthatjuk, nem több, mint 20%-25%. A 80% és 125% hatásági határértékeket, angolul „cutoff” értékeket, bioekvivalencia-limitnek is nevezzük. Az FDA-szabályozást követette alapjaiban az európai uniós szabályozás (2), bár voltak a hangsúlyokban eltérések.

Az 1990-ben az USA-ban bevezetett, és azzal lényegében megegyező európai szabályozással kapcsolatban lényegében öt kritikai szempont és kérdés merült fel az elmúlt évtizedek során:

1. A bioekvivalencia-limit túl szűk, túl kicsi. Ez az úgynevezett "highly variable drug and drug product" (HVD/P), azaz a nagyváltozékonyságú gyógyszerek problémája (3). A probléma lényege az, hogy egyes vegyületek, illetve problémás gyógyszerformulák esetén az adagolások között a vérszint egy ugyanazon személyben is a szokásosnál jobban fluktuál. Két adagolást összehasonlítva a vérplazma-koncentrációk közötti várható eltérés az egyénen belül a relatív szórástól, a CV_w -tól függ, ahol a „w” alsó index az angol „within” szócskára (az egyéneken belüli változásra) utal. Nemzetközileg elfogadott definíció szerint a nagyváltozékonyság kritériuma az, hogy a $CV_w > 30\%$. Azonban minél nagyobb a CV_w , annál több önkéntest kell bevonni egy bioekvivalencia-vizsgálatba, ami nem elhanyagolható költségtényező. Ha a CV_w 30% alatt van, akkor egy tipikus bioekvivalencia-vizsgálatba körülbelül 16-24 önkéntest válogatnak. De a bioekvivalencia-vizsgálat elemszám-követelménye durván négyzetesen nő az egyénen belüli változékonysággal. Ezért HVD/P-gyógyszerek esetén nem ritka a 80, sőt akár a 200 fővel végzett bioekvivalencia-vizsgálat sem. A költségkülönbség a nem HVD/P- és HVD/P-gyógyszerek bioekvivalencia-vizsgálata között sok tízmillió forint, vagy még ennél is több lehet. A kérdés az, hogy lehet-e változtatni a bioekvivalencia-határokat HVD/P-készítmények esetén úgy, hogy a biztonságosság megmaradjon, de mégis a klinikai vizsgálatba bevont önkéntesek száma az észszerű mértékek között maradjon.
2. A bioekvivalencia-limit túl tág. Egyes klinikai szakterületek, különösen az epilepsiára szakosodott neurológusok, valamint a transzplantált betegek gyógyszereléséért felelős klinikusok ismételten és hangsúlyozottan kételyeiket fejezték ki a generikumok megbízhatóságával kapcsolatban (4,5). Úgy ítélték meg, hogy esetükben a 20-25% maximális megengedett eltérés is túl sok, az itt használatos gyógyszereknek keskeny a terápiás ablaka. Az idetartozó gyógyszereket NTI (narrow therapeutic index) gyógyszereknek nevezik, és esetükben felmerül, hogy a bioekvivalencia-limitet

szűkíteni kell. A kérdés az, hogy valóban észszerű-e az ilyen készítmények esetén a bioekvivalencialimit-határok által bezárt intervallum szűkítése, és ha igen, akkor hogyan?

3. A limit jó, de a metrika nem jó (6). A bioekvivalenciában az alapprobléma a koncentrációk összehasonlítása, ami alapvetően egy sokváltozós statisztikai probléma. Ha például 18 időpontban mérnek koncentrációt (tipikus mintavételezési gyakoriság egy bioekvivalencia-vizsgálatban), akkor az adott időpontokban mért koncentrációk összehasonlítása egy 18 változós statisztikai problémához vezet. Ez elvileg lehetséges, de a megoldás bonyolult, és az eredmény nehezen értelmezhető. Ezt elkerülendő használjuk a bioekvivalencia-metrikákat, amelyek olyan görbejellemzők, amelyek megragadják a görbe jellegzetes tulajdonságait, és ideális esetben könnyen számolhatók és könnyen interpretálhatók. Első megközelítésben az eredetileg ajánlott C_{max} és az AUC kiváló választásnak látszanak a plazmakoncentrációk összehasonlítására, azaz bioekvivalencia-metrikának. Alapvetően azok is, de a gyakorlat megmutatta, hogy alkalmazásuk néha problémás vagy nem elégséges. Például problémás lehet az AUC meghatározása, ha egy vegyület felezési ideje több nap vagy annál hosszabb. Ekkor az AUC hatósági követelményeknek megfelelő pontos meghatározása többhetes, extrém esetekben több hónapos mintavételezési időt követel. Egy ilyen vizsgálat lebonyolítása számtalan logisztikai problémát rejt. Az önkéntesek nem vállalkoznak többhetes vizsgálatra, esetleg a plazmaminták nem stabilak. Ráadásul egy ilyen hosszú vizsgálat egyben meglehetősen értelmetlen is, miután a felszívódási folyamat még extrém esetben is 48 órán belül lezajlik. Kérdés, hogy van-e észszerű alternatíva az AUC helyett a hosszú felezési idejű gyógyszerek esetén. Más probléma merül fel a C_{max} vonatkozásában. Az alapprobléma az, hogy a C_{max} indirekt módon hordoz információt a felszívódás sebességével kapcsolatban, és terápiásan fontos paraméterek változására egyáltalán nem érzékeny. Például az altatóknál, fájdalomcsillapítóknál nyilván nagyon fontos paraméter a hatás kifejlődésének sebessége, a csúcshatás ideje. Könnyen megmutatható, hogy a C_{max} két készítmény esetén teljesen ugyanaz lehet annak ellenére, hogy a csúcshatás idejében (T_{max}) jelentős eltérés áll fenn. Ezért felmerül annak a kérdése, hogy a C_{max} helyett, vagy még inkább mellette, nincs-e szükség egy harmadik bioekvivalencia-metrikára.
4. Az átlagos bioekvivalencia-konceptió hibás, mert nem veszi figyelembe a betegek egyéni válaszát. Csak azért, mert az átlagos válaszban nincs eltérés, nem következik, hogy a generikus helyettesítés egyéni szinten nem okoz elfogadhatatlan változást a vérszintekben. Ez a megfontolás vezet az individuális bioekvivalencia koncepciójához (7,8).
5. Nem hagyományos készítmények. A bioekvivalencia alapvető koncepcióját a 80-as években dolgozták ki lényegében olyan hagyományos gyógyszerformák kinetikáját figyelembe véve, mint a tabletták. De az elmúlt évtizedekben gyökeresen új

technológián alapuló termékek jelentek meg a piacon. Két fontos példa a biotechnológiai úton előállított készítmények, valamint az úgynevezett „nano” gyógyszerek. Ezen készítményeknek mostanában jár le a szabadalmi védettsége, és intenzív érdeklődés tárgya, hogy hogyan lehet a követő változatokat egyszerűsített módon, akár generikus gyógyszerként is törzskönyvezni. De ezeket a készítményeket parenterálisan adagolják, és egyáltalán nem egyértelmű, hogy a bioekvivalencia koncepciója, amelyet tablettára dolgoztak ki, alkalmazható-e ezekre a fejlett technológiával előállított gyógyszerekre is. A kérdés tehát az, hogy hogyan, milyen bioekvivalencia-, általánosságban kinetikai hasonlósági követelményeket kell teljesíteniük ezeknek a követő készítményeknek ahhoz, hogy helyettesíthetők legyenek az originálissal a terápiás gyakorlatban (9,10).

Lényegét illetően a doktori értekezésem Eredmények fejezete a fenti öt probléma és az azokkal kapcsolatos kérdések vizsgálatát tartalmazza. De maga az értekezés egy kicsit többről szól. Többről szól, mert az értekezés csakis olyan eredményeket tartalmaz, amelyeket az elmúlt közel huszonöt évben matematikai-statisztikai eszközökkel és számítógépes szimulációval értem el. Általánosságban minden olyan kutatást, amely kizárólag számítástechnika segítségével ad választ orvostudományi kérdésekre, orvosinformatikai kutatásnak nevezünk (11). Az értekezésem címében szereplő biostatisztika és farmakometria az orvosinformatika két, részben átfedő, de általában külön területként nyilvántartott szakága. A biostatisztika szó feltehetőleg nem kíván magyarázatot, de a farmakometria szó valószínűleg ismeretlen, bár az angol eredeti (pharmacometrics) nem annyira új. A szó 1982-ben jelent meg a Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics (12) folyóirat állandó mellékletének címeként. A farmakometria alapötlete az, hogy egy sok millió dollárba kerülő vizsgálatot érdemes szimulációsan modellezni a vizsgálat elkezdése előtt a rendelkezésre álló adatokból, hogy optimálisan tudjuk kiválasztani, hogy hány egyént kell a vizsgálatba bevonni, mennyi ideig tarthat egy vizsgálat ideje, mi lehet az optimális dózis, hol legyenek a mintavételi pontok, hogyan függ a koncentrációtól a hatás, és végül is mennyibe kerül várhatólag egy tervezett vizsgálat. Például ebben az értekezésben gyakran használom a technikát, ami azt jósolja meg, hogy adott n számú önkéntes bevonása esetén mennyi annak az esélye, hogy vizsgálat pozitív, a protokollban rögzített eredménnyel zárul.

Összességében a farmakometria az elmúlt több mint harminc év során hatalmas fejlődésen ment keresztül, és igen szerencsésnek tartom magam, hogy ennek a fejlődési folyamatnak aktív részese lehettem. Ezt az tette lehetővé, hogy gyógyszerészi diplomám mellett okleveles programtervező-matematikai diplomát is szereztem az ELTE-én. Így minden, az értekezésben szereplő analízist alátámasztó szimulációs és értékelő programot teljes mértékben magam írtam. Ez egyfelől előny, hiszen az így készült program pontosan tükrözi a felhasználó, esetemben a tudományos kutatás igényeit. Egy jó program nem elhanyagolható versenyelőnyt jelent. Ugyanakkor hátrány, mert egy „házi” készült program gondos ellenőrzést (validálást) igényel. Ma már nem szokatlan, hogy szakmai előképzettség nélkül fejlesztenek kutatók programokat, ami sokkal súlyosabb problémát jelent, mint ahogy azt a

legtöbb kutató gondolja (13). Munkám során ezekre professzionális szoftverfejlesztési szempontokra mint validálásra és optimalizálásra kimondott hangsúlyt fordítottam, és röviden az Eszközök és Módszerek fejezetben foglalom őket össze.

2. A bioekvivalencia-vizsgálatok elmélete és gyakorlata (Irodalmi háttér)

A bioekvivalencia és vele együtt a generikus gyógyszerek törzskönyvezésének szabályozása jogi, gazdasági, orvosi és tudományos kérdés.

2.1 Jogi szempontok

A bioekvivalencia egyfelől jogi kérdés, mert a szabályok alapjait legfelső szinten törvényben rögzítik. A jelenlegi szabályozás hosszú, politikai cselszövésekkel átszőtt történetéről kitűnő összefoglalók jelentek meg (1,14,15), de elsősorban amerikai szemszögből. A hosszú történet tükrözi az innovatív gyógyszergyártók, a generikus gyógyszergyártók, a politikusok, a jogászok és a hatóság közötti egyszerűnek nem mondható viszonyt. Az egyik véglet az innovatív gyógyszergyártók, akik úgy érezték, hogy a hatóságnak nincs joga, hogy az ő adataikat is felhasználja a generikus gyógyszerek törzskönyvezéséhez. A másik véglet a generikus gyógyszergyártók, akik úgy érezték, hogy a gyógyszerkönyvi követelmények mint a kioldódási követelmények teljesítése elégséges alapot szolgáltat a törzskönyvezéshez. Az FDA azonban saját vizsgálati programot kezdeményezett, és ez alapján világossá vált, hogy gyógyszerkönyvi követelmények teljesülése nem elégséges ahhoz, hogy akár csak közel azonos vérszinteket eredményezzen (15,16). Például amikor 4 generikus digoxinkészítményt hasonlítottak össze, a vérszintek között a betegen belül is hétszeres különbséget találtak (16). A jelenlegi szabályozás, amely összehasonlító farmakokinetikai vizsgálatot ír elő, egy tudományos alapú kompromisszum, és az első hatósági útmutató mint törvény az USA-ban 1977-ben jelent meg. A magyar szabályozás története ettől lényegesen eltért, és 1990-ig a KGST keretén belül zajlott (17). Ezután azonban fokozottan követte az EU-szabályozást.

A jelenlegi jogi szabályozás alapja a Directive 2001/83/EC, Article 10(2)(b)) és az ennek megfelelő 2005. évi XCV. törvény és 52/2005. (XI. 18.) EüM-rendelet az emberi alkalmazásra kerülő gyógyszerek forgalomba hozataláról. Eszerint „a generikus gyógyszer a referencia-gyógyszerrel a hatóanyagok tekintetében azonos minőségi és mennyiségi összetételű, illetve azonos gyógyszerformájú gyógyszer, és amelynek a referencia-gyógyszerrel való bio-egyenértékűségét megfelelő biohasznosulási vizsgálatokkal igazolták.” Mint látható az EU jogi szabályozása szerint az bioekvivalens, ami az útmutató szerint az. A hatályos útmutatók az EMA gondozásában jelennek meg, és az EMA honlapjáról tölthetők le. Ezen értekezésben van egy általános útmutató (18), amelyet kiegészítenek gyógyszerforma szerinti kiegészítő útmutatók. Így speciális szabályok vonatkoznak a módosított felszívódású készítményekre (19), valamint az inhalációs készítményekre (20). A bioekvivalencia definícióját az általános útmutatóban találjuk meg, és eszerint: „Two medicinal products containing the same active substance are considered bioequivalent if they are pharmaceutically equivalent or

pharmaceutical alternatives and their bioavailabilities (rate and extent) after administration in the same molar dose lie within acceptable predefined limits."

Mint látható, a jogi definíció szerint két termék akkor bioekvivalens, ha a felszívódás mértéke és sebessége nem tér el jobban, mint egy adott határ.

2.2 A bioekvivalencia-vizsgálatok szerepe a gyógyszerfejlesztésben

A generikus készítmények törzskönyvezésének alapvető és gyakran egyetlen klinikai feltétele egy vagy több sikeres bioekvivalencia-vizsgálat eredményeinek a bemutatása. De a bioekvivalencia-vizsgálat végzésének kötelezettsége számos más gyógyszerfejlesztési útvonalon is megjelenik, mint az alábbi példák mutatják.

2.3 A bioekvivalencia-vizsgálat gazdasági aspektusai

A generikus gyógyszerek törzskönyvezése gazdasági kérdés, mert lényegében ez a politikai motiváció alapja, ha korlátlan anyagi források állnának rendelkezésre, akkor a generikus gyógyszerek kérdése, mint olyan, nem létezne. A bioekvivalencia-vizsgálat a generikus fejlesztés egyik legdrágább része. Egy 2002-es adat szerint egy bioekvivalencia-vizsgálat átlagos költsége 250 000 USD (21). A bioekvivalencia-vizsgálati követelmények szigorítása vagy enyhítése direkt költségvonzattal bír. Például a bioekvivalencia-limit felezése (mondjuk 20%-ról 10%-ra) megközelítőleg azzal jár, hogy négyszer annyi önkéntest kell bevonni a vizsgálatba, ami első közelítésben megnégyszerezi a költségeket. Ráadásul a kisebb klinikai vizsgálóhelyek nem lesznek képesek a vizsgálat lebonyolítására, mert egyszerre csak kevés önkéntest tudnak fogadni. A megemelkedett költség ahhoz vezethet, hogy a generikus-árverseny erősen korlátozott lesz, speciális esetben generikusgyártó meg se fog jelenni a piacon.

Itt jegyzendő meg, hogy a nemzetgazdasági szempontból is jelentős magyar gyógyszergyárak (Richter Gedeon Nyrt., Egis Zrt. és a jelentős hazai gyártási kapacitással rendelkező Teva Hungária Zrt. alapvetően generikusgyógyszer-gyárak. Így a bioekvivalencia-vizsgálatok kivitelezése nem elhanyagolható költségtényező a hazai gyógyszeripar számára.

2.4 A bioekvivalencia-vizsgálatok farmakometriai modellje

Egy farmakometriai modell két részből áll: egy mechanikus (determinisztikus) modellből, amely nem tartalmaz véletlen (random, más néven sztochasztikus) komponenst, valamint az

ezt kiegészítő statisztikai modellből. A mechanisztikus modell lehet farmakokinetikai (PK) vagy farmakodinámiás (PD). A PK- és PD-modellek részletes, monográfiászerű tárgyalását Ette adta meg (12). Az alábbiakban csak olyan mértékben nyújtok áttekintést a témáról, amely elengedhetetlen az eredményeim megértéséhez. A részleteket és egyéb referenciákat illetően csak Ette átfogó művére utalok (12). Kevésbé matematikai jellegű Tozer és Rowland tankönyve (22).

2.4.1 Farmakokinetikai modell

A farmakokinetika célja, hogy kvantitatív módon leírja a gyógyszermolekula koncentrációjának időbeli változását a gyógyszerbevételt, illetve az utánadagolást követően. A hagyományos farmakokinetikai modell az úgynevezett kompartmenteken (rekeszek) alapuló modell. Kompartmentnek nevezzük azt a folyadékteret, amelyben a farmakon megoszlása pillanatszerű, és amelyben az adott farmakon koncentrációjának változása azonos kinetika szerint történik. Megjegyzendő, hogy a kompartment nem feltétlenül esik egybe valamilyen jól definiált anatómiai határral. Gyakorlati szempontból a legtöbb gyógyszer vérszintjének alakulása leírható egy- vagy kétkompartmentes modell segítségével. A továbbiakban általában feltehető, hogy a centrális kompartmentben a hatóanyag koncentrációjának alakulása megegyezik a plazma vérszintjével, és ezért így fogok hivatkozni rá. A koncentráció időbeli változását differenciálegyenlet-rendszer segítségével lehet a legáltalánosabban leírni. Például egykompartmentes modell esetén lineáris kinetikát feltételezve a 2.1–2.2 egyenletek által definiált differenciálegyenlet-rendszer adódik.

$$\frac{dA_0}{dt} = -ka * F * Dose \quad (2.1)$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{ka * F * Dose}{Vd} - \frac{Cl * C}{Vd} \quad (2.2)$$

Az egyenletekben az A_0 a felszívódási helyen levő anyagmennyiség, a ka a felszívódás sebességi állandója, a $Dose$ a dózis, az F egy 0 és 1 közötti szám, az úgynevezett biológiai értékesíthetőség, amely megmutatja, hogy a dózis hány százaléka szívódik fel, a Vd a kompartment térfogata és a Cl a gyógyszer klirensze.

Az egyenletrendszernek analitikus megoldását egykompartmentes modell esetén a 2.3 egyenlet adja.

$$C(t) = \frac{F * Dose}{Vd} \frac{ka}{ka - \frac{Cl}{Vd}} \left(e^{-\frac{Cl}{Vd} * t} - e^{-ka * t} \right) \quad (2.3)$$

A Cl/Vd konstanst eliminációs állandónak (ke) nevezik, és a fenti egyenletek felírhatók Cl helyett a ke eliminációs konstanst használva. Ez matematikailag egyszerűbb formát ad, és inkább matematikus jellegű cikkekben használatos. Hátránya, hogy az eliminációs konstans direkt fiziológiás interpretációja nehezebb, mert a ke a szervezetben levő hatóanyag-mennyiség és az eliminációs sebesség, míg a Cl a plazmakoncentráció és az eliminációs sebesség között teremt kapcsolatot. Mi tipikusan ezért a Cl és Vd , általánosságban az

úgynevezett microkonstans parametrizációt használtuk, mert az így megadott szimulációs feltételek közelebb állnak a valós adatokhoz.

Kétkompartmentes modell esetén is megadható az analitikus megoldás, de a 2.4–2.6 egyenletek által definiált differenciálegyenlet-rendszeren alapuló forma sokkal szemléletesebb.

$$\frac{dA_0}{dt} = -ka * F \quad (2.4)$$

$$\frac{dC_1}{dt} = \frac{ka * F * Dose}{Vd_1} - \frac{Cl * C_1}{Vd_1} - k_{12} * Vd_1 * C_1 + k_{21} * A_2 \quad (2.5)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = k_{12} * Vd_1 * C_1 - k_{21} * A_2 \quad (2.6)$$

A további jelöléseket illetően az A_2 a belső kompartmentben található anyagmennyiség, a k_{12} , valamint a k_{21} a megfelelő interkompartmentális sebesség állandói.

A differenciálegyenlet-rendszert használó megközelítés előnye, hogy flexibilis és könnyen kiterjeszthető. Például a lagtime fogalma azt jelenti, hogy egy adott ideig (a lagtime-ig) a tablettából nem szabadul fel hatóanyag. A lagtime szoftveres implementálása differenciálegyenlet forma esetén könnyű, mert mindössze annyit kell változtatni a kódon, hogy „if time < lagtime ka = 0”.

2.4.2 A farmakokinetikai modell kiterjesztése random komponensekkel

Idáig tárgyalásunkban feltettük, hogy a koncentrációkat mérési hibák nélkül figyeljük meg, és a kinetikai paraméterek konstans állandók, azaz valós számok. A valósághoz közelítő szimulációkban azonban figyelembe kell vennünk a koncentrációk változékonyságát, amelynek alapesetben három oka is van:

Mérési hiba

Az elméleti és megfigyelt koncentráció sohasem azonos, mert minden analitikai mérés hibával jár. A mérési hiba általában nem független a mért értéktől, így többfajta modell képzelhető el valós mérési hiba szimulációjára. Egy aránylag általános mérési hibát definiáló modell a következő:

$$\varepsilon_i \sim N(0, \sigma_i^2) \quad (2.7)$$

$$\sigma_i^2 = C_i^2 * \sigma_C^2 + \sigma_0^2 \quad (2.8)$$

Az egyenlet azt mondja, a mérési hiba normál eloszlású, és szórása két komponensből áll, egy, a koncentrációval arányos tényezőtől (σ_C), valamint egy szintén normális (vagy lognormális) eloszlású alapzajból (σ_0). A mérési hiba megszabja, hogy mennyi ideig mérhetünk, mekkora a legkisebb kimutatható mennyiség. A legkisebb kimutatható mennyiséget LOQ-nak (limit of quantitation) rövidítik, és a realisztikus,

általunk is használt szimulációs modell figyelembe veszi, hogy az LOQ-nál kisebb mennyiség „hiányzó” adatnak tekintendő.

Személyek közti variabilitás (Between-subject error vagy variance, BSE vagy BSV)

Számtalan vizsgálati tény bizonyítja, hogy a farmakokinetikai paraméterek, mint például a Cl , a V_d és az F nagyfokú egyének közötti változékonyságot mutatnak. Ennek oka lehet olyan könnyen megfigyelhető külső változó, mint a kor, nem vagy a testsúly, vagy olyan részletesebb vizsgálatot igénylő paraméter, mint a vesefunkció vagy a metabolizálóenzim-aktivitás. Szimulációinkban az egyes farmakokinetikai paraméterek személyek közötti variabilitását egymástól független, lognormális eloszlású változónak tételeztük fel, azaz

$$\log(\theta_i) \sim N(\log(\mu), \sigma_B^2) \quad (2.9)$$

ahol θ_i az i -edik személy θ farmakokinetikai paramétere (pl.: Cl). A paraméter populációs értéke μ . Példaképpen a Cl esetén a Cl populációs mintavételi modellje a következő:

$$\log(Cl_i) \sim \log(Cl) + \omega_i \quad (2.10)$$

$$\omega^2 \sim N(0, \sigma_B^2) \quad (2.11)$$

ahol Cl a populációs mediánérték, Cl_i az i -edik önkéntes Cl -értéke és σ_B a logaritmizált Cl -értékek populációs szórása.

A lognormális mintavételi (populációs) modell előnye kettős. Egyfelől automatikusan garantált, hogy a szimulált érték pozitív. Másfelől egy egyszerű összefüggés adható meg a logaritmikusan transzformált változó varianciája és a kiindulási, nem transzformált változó variációs koefficiense (coefficient of variation, CV%) között:

$$CV\% = 100 * \sqrt{\exp(\sigma^2) - 1} \quad (2.12)$$

A CV% egy skálafüggetlen paraméter, és így az eredmény könnyebben általánosítható. Hasonlóan fontos általános összefüggés áll fent a log transzformált változó várható értéke (μ) és a nem transzformált változó geometriaátlaga (GM) között.

$$GM = e^\mu \quad (2.13)$$

Nem lehet lognormális eloszlást feltételezni az F esetén, mert az F értéke definíció szerint csakis 0 és 1 között lehet. Megoldás lehet ebben az esetben n egyenletes eloszlású (U) változó szimulálása a 0–1 intervallumban, vagy csonkított (truncated) eloszlás szimulálása.

Egyéni belüli változékonyság (Within-subject error vagy variancia, WSE vagy WSV)

A farmakokinetikai paraméterek akkor sem azonosak, ha ugyanazon személy két különböző alkalommal szedi be ugyanazt a gyógyszert. Ennek oka az olyan fiziológiai paraméterek változékonysága, mint a májon át történő véráramlás vagy a gyomorkontrakciók. Például aránylag kis változás is a máj extrakciós együtthatójában nagy változást eredményezhet a felszívódott anyagmennyiségben. Példaképpen tételezzük fel, hogy a máj extrakciós koefficiense 0.9, azaz a hatóanyagnak csak 10%-a jut be a keringésbe. Ha csak öt százalékkal nő ez az extrakciós hányados, az azzal jár, hogy a felszívódott mennyiség a beadott dózis 5%-ra csökken, azaz a változás 100%. Statisztikai szempontból a WSE szimulálása annyit jelent, hogy a farmakokinetikai paraméterek változékonyságot mutatnak egy egyénen belül, és nem lehet ugyanazokat a paramétereket feltenni többszöri adagolás során. A jelenség modellezhető további random hibakomponens hozzáadásával. Példaképpen egy bioekvivalencia-vizsgálat j-edik periódusában az i-edik önkéntes szimulált CI-értékét a következő módon kaphatjuk meg:

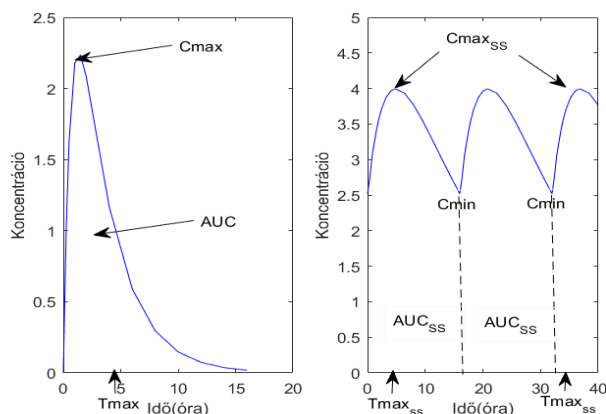
$$\log(Cl_{i,j}) = \log(Cl_i) + \eta_j \quad (2.14)$$

$$\eta^2 \sim N(0, \sigma_W^2) \quad (2.15)$$

Azaz a WSE úgy modellezhető, hogy ez előző szimulációs mintavételi lépésben kapott egyéni értékhez hozzáadunk egy további lognormál (esetleg egyenletes) eloszlású változót.

2.4.3 Farmakokinetikai metrikák, mérőszámok

A farmakokinetikai görbék jellemzésére és összehasonlítására modellfüggetlen paramétereket használnak, amelyeket farmakokinetikai metrikának vagy mérőszámnak hívnak. Néhány, a bioekvivalencia vizsgálatokban régóta és általánosan használt metrikát illusztrál a **2.1 ábra**.



2.1 ábra. A bal oldali ábra egy tipikus koncentrációprofilt mutat egyszeri adagolás után. A görbe jellemző paraméterei a plazmakoncentráció alatti terület (AUC, area under curve), a csúcskoncentráció (C_{max}), a csúcskoncentráció ideje (T_{max}). Az ábra jobb oldala azt a helyzetet illusztrálja, amikor fenntartó, például napi egyszeri adagolás mellett a vérszint egy minimális és maximális vérszint között ingadozik. Az egyszeri adagolású metrikáktól való megkülönböztetésre a metrikák neve után alsó indexben az 'ss' rövidítés áll, amely az angol steady-state kifejezés rövidítéséből ered. A C_{min} -t az angol szakirodalom C_{trough} -nak is hívja (trough = vályú).

Fenntartó adagolás esetén a felszívódott hatóanyag mennyisége megegyezik az eliminálódott mennyiséggel (22), a rendszer dinamikus egyensúlyi állapotban van. A dinamikus egyensúly angol szakkifejezése a steady-state, ezért a megfelelő metrikák alsó indexébe az 'ss' rövidítés kerül. Az **2.1. ábra** jobb oldali panelja mutat egy tipikus koncentrációprofilt fenntartó adagolás esetén. Az AUC_{ss} a görbe alatti terület két adagolás között, a $C_{max_{ss}}$ pedig a megfelelő csúcskoncentráció. A következő beadás előtt mért plazmakoncentráció a C_{trough} (trough = vályú, bemélyedés), amely az ábrán megegyezik a legkisebb koncentrációval (C_{min}), de lagtime esetén a kettő el fog térni egymástól. A lagtime szemléletesen azt jelenti, hogy a koncentrációgörbe „jobbra” tolódik az időskálán. Így a lagtime elvileg könnyen meghatározható egyszeri adagolás esetén, ez az az időtartalom, amíg a koncentráció zero a bevitel után.

2.5 Bioekvivalencia-vizsgálatok statisztikai analízise

2.5.1 Az ekvivalencia statisztikai hipotézis-vizsgálata

A hipotézis-vizsgálatok standard elmélete a XX. század első felében alakult ki Fisher, Neyman és Pearson munkássága nyomán. A klasszikus hipotézis-vizsgálat kiinduló pontja, hogy adott egy H_0 kiindulási hipotézis, például „a kezelt és a kezeletlen csoport valamilyen értéke egyenlő”. A teszt menete az, hogy az adatokat felhasználva kiszámolunk egy statisztikát (pl.: „t-érték”), amelynek a mintaeloszlása ismert. Ha a minta statisztika értéke kisebb vagy nagyobb, mint a H_0 hipotézishez tartozó mintastatisztika (például a t-eloszlás) küszöbértéke, akkor a H_0 null hipotézist elvetjük, és helyette elfogadjuk az alternatív H_1 hipotézist („a két csoport nem egyenlő $p < 0.05$ szinten”).

Bár a statisztikai hipotézis-vizsgálatok elméleti és értelmezési problémái jól ismertek, ennek ellenére úgy tűnhet, hogy a gyakorlatban a standard tesztek (például „F próba”) jól beváltak, és a közel százéves matematikai konstrukció nem szorul felülvizsgálatra. Ez azonban nincs így, és a gyakorlat megköveteli a statisztikai elmélet állandó továbbfejlesztését. Valójában az egyik legelső, fontos gyakorlati probléma, amelyre a standard hipotézis-vizsgálat nem adott jó megoldást, az a generikus gyógyszerek ekvivalencia-problémája volt. Ezért tűnik csak az első pillantásra meglepőnek, hogy a statisztikai ekvivalencia-vizsgálatok legfontosabb elméleti cikkei gyógyszerészeti szaklapokban jelentek meg (23,24), és természetesen ez egyben magyarázza is ezen értekezés írójának kapcsolatát a témával. A bioekvivalencia-vizsgálatok elméletének szigorú statisztikai tárgyalását Chow adja meg (25), egy jóval olvashatóbb változat Patterson és Jones könyve (26).

Az ekvivalencia kérdéskörének statisztikai tárgyalásához induljunk ki a legegyszerűbb önkontrollos elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatot feltételezve. Ebben az egyszerű elrendezésben tegyük fel, hogy egyaránt n számú önkéntes kapta a T- és az R-készítményt. Y_{iT} illetve Y_{iR} jelöli azt a két valószínűségi változót, ami jellemzi a T-, illetve az R- készítményhez tartozó farmakokinetikai metrika (pld. logAUC) populációs eloszlását, a megfigyelt értékek y_{1T} , y_{2T} , ..., y_{nT} , illetve y_{1R} , y_{2R} , ..., y_{nR} . Tegyük fel, hogy Y_{iT} és Y_{iR} eloszlása normális, azonos skálaparaméterekkel. A **2.1 táblázat** foglalja össze a statisztikai jelölést.

Fogalom	Populációs érték	Becslő (estimator)	Becslés (estimate)
Tesztkészítmény (T) populációs értéke	μ_T	$\bar{Y}_T$	$\hat{y}_T$
Referenciakészítmény (R) populációs értéke	μ_R	$\bar{Y}_R$	$\hat{y}_R$
Készítmények közti különbség	$\Delta = \mu_T - \mu_R$	$\bar{Y}_D = \bar{Y}_T - \bar{Y}_R$	$\hat{y}_D$
T egyénen belüli készítmény szórása	σ_{WT}	S_{WT}	s_{WT}
R egyénen belüli szórása	σ_{WR}	S_{WR}	s_{WR}
A T- R különbség standard hibája		SE_D	se_D
Alsó intervallum becslése		-L	-l
Felső intervallum becslése		U	u

2.1 táblázat. Statisztikai jelölések

Megjegyzendő, hogy a statisztikai analízis során, a T_{max} kivételével, mindig a farmakokinetikai paraméterek logaritmizált értékével számolunk. Ezt a tényt a statisztikai analízis során külön nem jelöljük, de az eredmények értékelést segíti, ha változókra olyan formában (is) hivatkozunk, amely mutatja a megfelelést az eredeti skálán, és könnyebben érthető a farmakokinetikusoknak. Ennek megfelelően Δ -ra mint logGMR hivatkozok, ahol GMR a „geometric mean ratio”, azaz a geometriaátlagok arányának a rövidítése.

Két készítmény bioekvivalens, ha a $\mu_T - \mu_R$ különbség a hatásági útmutatók által megszabott limitek (θ) közé esik:

$$-\theta < \mu_T - \mu_R < \theta \quad (2.16)$$

Mivel csak az átlagokra tesznek megkötést, a fenti egyenlet az úgynevezett átlagos bioekvivalencia (ABE) definíciója. Az egyenletben csak egy hatásági határérték (θ , angolul cutoff value, regulatory limit) van, mert a hatásági határértékek logaritmikusskálán nullára szimmetrikusak, például a standard 0.80–2.5 intervallum esetén $L = 0.223$.

A statisztikai ekvivalencia-probléma eldöntésére alapvetően két megközelítés létezik: a konfidencia-intervallumokon alapuló, valamint a két egyoldali teszten alapuló úgynevezett TOST (two one-sided t-test) eljárás.

Konfidencia-intervallumon alapuló eljárás

Egy vizsgálat konkrét értékei legyenek $\hat{y}_D$ és se_D . A bioekvivalencia eldöntése nagyon egyszerű. Az első két lépésben kiszámoljuk az l és u konfidenciahatárokat (amelyek az L és u becslései), majd kiértékelünk egy logikai állítást.

1. $l = \hat{y}_D - t_{0.05, df} * se_D$
2. $u = \hat{y}_D + t_{0.05, df} * se_D$
3. A készítmény bioekvivalens, ha $-\theta < l$ és az $u < \theta$

Két egyoldali t-teszten alapuló eljárás (two one-sided t-test, TOST)

A TOST-eljárásnál két egyoldali tesztet végzünk:

$$H_{01}: \mu_T - \mu_R \leq -\theta \quad \text{és} \quad H_{A1}: \mu_T - \mu_R > -\theta \quad (2.18)$$

$$H_{02}: \mu_T - \mu_R \geq \theta \quad \text{és} \quad H_{A2}: \mu_T - \mu_R < \theta \quad (2.19)$$

Ha mind a két H_{01} és H_{02} nullhipotézist elutasítom a szokásos 5% szinten, és a megfelelő alternatív hipotéziseket elfogadom, akkor azt kapom, hogy $-\theta < \mu_T - \mu_R < \theta$ állítás igazolt 90% szinten. Azaz a bioekvivalencia teljesült. A két egyoldali H_{01} és H_{02} hipotézisnek két (centrális) t-eloszlású mintastatisztika, a t_1 és t_2 , felel meg.

$$t_1 = \frac{\hat{y}_D + \theta}{se_D} \quad \text{és} \quad t_2 = \frac{\hat{y}_D - \theta}{se_D} \quad (2.20)$$

A H_{01} hipotézist elvetem, és a H_{A1} hipotézist elfogadom, ha $t_1 > t_{0.95, df}$. Hasonlóan a H_{02} hipotézist elvetem, és a H_{A2} hipotézist elfogadom, ha $t_2 < t_{0.05, df}$. A bioekvivalencia igazolt, ha mindkét alternatív hipotézist elfogadtam. Megjegyzendő, hogy az ekvivalencia-teszt elsőfajú (Type I) hibáját (a H_0 hipotézist tévesen fogadom el) szokták fogyasztói kockázatnak (consumer's risk), míg a másodfajú (Type II) hibáját (a két készítmény bioekvivalenciáját tévesen utasítjuk el) gyártói kockázatnak (producer's risk) nevezni.

A TOST és a klasszikus konfidencia összehasonlítása átlagos bioekvivalencia esetén

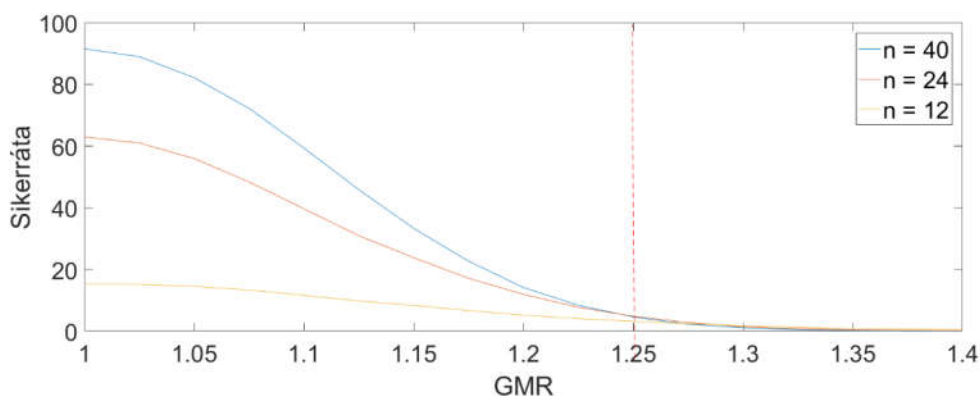
A két eljárás „operative” egyenlő (25). Ez azt jelenti, hogy ha a konfidencia intervallum-metodika szerint számolva bioekvivalens, akkor TOST-tal is bioekvivalens lesz és fordítva, ha TOST-tal bioekvivalens, akkor a konfidenciaeljárással is az lesz. Ez belátható az egyenlőtlenségek átrendezésével. Az **2.2. ábra** mutatja szemléletesen a klasszikus konfidencia és a TOST-eljárás közötti különbséget.



2.2 ábra. Bal oldal: A készítmény bioekvivalens a klasszikus konfidenciaalapú megközelítéssel, ha a konfidencia intervalluma (fekete ellipszisből kinyúló két kar, l és u) egyike sem éri el a θ értéket. Jobb oldal: A készítmény bioekvivalens a TOST- megközelítéssel, ha a pontbecslés (fekete ellipszis) a $[-\theta + t_{0.95,df} * se_D, \theta - t_{0.95,df} * se_D]$ intervallumba esik.

2.5.2 Bioekvivalencia-vizsgálatok erőgörbéi és az elemszám becslése

A bioekvivalencia-vizsgálatok elméleti és gyakorlati elemzésekor az erőgörbéknek (power curves) kiemelt szerepe van. Tipikus erőgörbét mutat a **2.3. ábra**.



2.3 ábra. Egy TR-RT elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálat erőgörbéi $n = 12, 24$ és 40 önkéntessel, feltételezve, hogy a vizsgált farmakokinetikai paraméterek egyénen belüli szórása 30%. A vizsgálatokat a standard ABE-kritériumok alapján értékeljük ki. Az ábrán piros függőleges vonal jelzi az ABE-kritériumnál használt hatósági limitet ($e^{\theta} = 1.25$). Az ábra vízszintes tengelyén a populációs paraméterek aránya (μ_T/μ_R), más néven a GMR van ábrázolva. A függőleges tengely az elfogadási arány (angolul „acceptance rate”, „passing rate”), amit sikerrátának vagy elfogadási valószínűségnek lehet magyarrá fordítani. A sikerráta mutatja, hogy mennyi annak a valószínűsége, hogy az adott paraméterek mellett a bioekvivalencia-vizsgálat sikeres lesz. Az $1 - \text{sikerráta}$, a „gyártói rizikó”, ha a GMR nem esik a $[0.80, 1.25]$ intervallumba. A sikerráta egyenlő a beteg kockázatával, ha valójában a terméket jóváhagyják annak ellenére, hogy nem bioekvivalens.

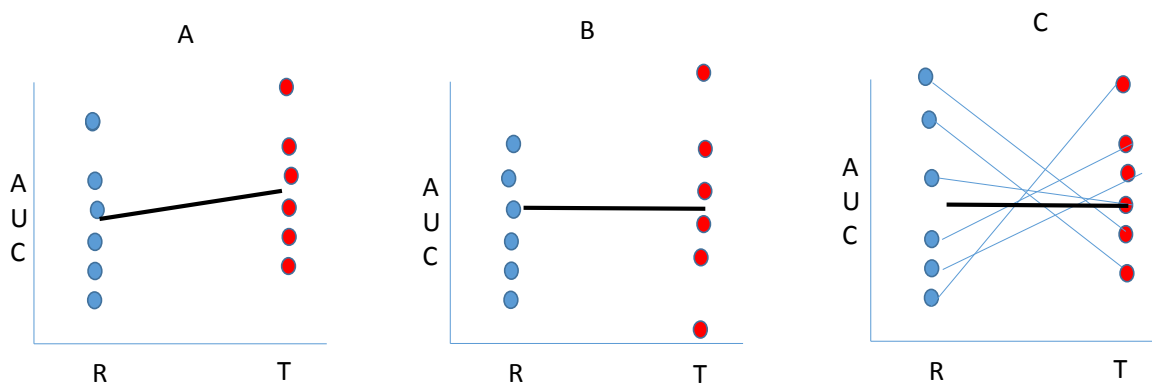
A sikerráta az alábbi paraméterektől biztosan függ: hányan vesznek részt a vizsgálatban, a vizsgálati elrendezés, a populációs paraméterek aránya, az egyénen belüli szórások (σ_{WR} és σ_{WR}), regulációs kritériumértékek (θ), valamint a kiértékelési algoritmus (teszt).

A sikerrátagörbét egyszerű esetekben lehet elméletileg számolni. Azonban a pontos megoldás még a standard, átlagos bioekvivalencia esetén is komoly numerikus probléma, mivel speciális, kétváltozós nemcentrális eloszlású, változó eloszlási függvénynek az integrálását

igényli. Ezért egyszerűsítéseket vezetnek be, mint a kétváltozós nemcentrális t-eloszlás helyett az eltoló, kétváltozós t-eloszlás használata, két egyváltozós nemcentrális t-eloszlású változó használata a kétváltozós függvény helyett, vagy végső egyszerűsítésként normál eloszlási függvény használata t helyett (27).

2.5.3 Az átlagos bioekvivalencia (ABE) kritikája, az individuális bioekvivalencia (IBE) koncepciója

Sheiner (7), Hauck és Anderson (8), Schall és Luus (28) megmutatták, hogy az ABE koncepciója elvileg nem ad kellő biztosítékot a biztonságos generikus gyógyszerhasználatra, és bevezették az individuális bioekvivalencia (IBE) fogalmát. A **2.4. ábra** mutatja, hogyan lehetséges – annak ellenére, hogy az átlagos bioekvivalencia kritérium teljesül –, hogy eltérőek a vérszintek.



2.4 ábra. Egy beteg hatszor veszi be a kék, valamint a vörös tablettát felváltva. A vastag fekete vonal az adott gyógyszerre vonatkozó átlagértéket mutatja. A végpontok közti átlagos különbséget méri az ABE. **A** – A piros pontok mindegyike azonos irányba és az azonos mértékkel tolódik el a kékhez képest. **B** – Az átlagos eltérés nulla, azaz a készítmény biztosan bioekvivalens. De mivel a T-készítmény egyénen belüli szórása, a σ_{WT} lényegesen nagyobb, mint a σ_{WR} , ezért a gyógyszer szint sokkal jobban fluktuál és kevésbé biztonságos. **C** – Egy bioekvivalencia-vizsgálat 6 önkéntessel. Akinek magas volt az AUC-értéke a kék tablettával, annak alacsony lesz a pirossal és fordítva. Az átlagos eltérés így nulla, de nagy eltérés van egyénenként. Ennek oka az egyén x formuláció (Subject x Formulation, SxF) interakció.

Az ABE-val az a probléma, érveltek a fenti szerzők (7, 8, 28), hogy csak a $\Delta = \mu_T - \mu_R$ eltérést méri, és nem méri az egyénen belül szórások közti különbséget ($\sigma_{WT} - \sigma_{WR}$), sem az SxF-interakciót jellemző σ^2_D varianciakomponenst. A kérdés az volt, hogy hogyan terjesszék ki a bioekvivalencia-tesztet, amely figyelembe veszi mind a $(\sigma_{WT} - \sigma_{WR})$ különbséget (vagy a σ_W / σ_{WR} arányt), mind a σ^2_D varianciakomponenst is. Két nézet volt. Az úgynevezett „disaggregate” kritérium szerint három teszt kell. Külön-külön kell ekvivalencia-tesztet végezni a három komponensre, azaz külön egyet, amely a $\mu_T - \mu_R$ eltérést méri, egyet, amely

az $\sigma_{WT}-\sigma_{WR}$ eltérést méri és végül egy harmadikat, amely azt méri, hogy σ_D kisebb-e, mint egy megadott határérték. Ehhez a három teszthez külön-külön kellett volna megadni a regulációs határértéket. Az úgynevezett „aggregate” kritérium szerint valahogyan össze kell adni (esetleg súlyozva) a három tényezőt, és egy kombinált tesztet kell végezni. A vitát az döntötte el, hogy 1999-ben az FDA publikált egy új tervezetet, egy bioekvivalencia-útmutatót, amelyben az összevont kritérium mellett tette le a voksát (29). Az FDA két IBE-kritériumot ajánlott. Az úgynevezett „constant-scaled” kritérium szerint a 2.21 egyenlet definiált I_{cs} statisztikai konfidencia-intervallumát kell kiszámolni:

$$I_{cs} = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2) + \sigma_D^2}{\sigma_{WO}^2} \quad (2.21)$$

Az úgynevezett „reference-scaled” kritériumot a 2.22 egyenlet definiálja.

$$I_{rs} = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2) + \sigma_D^2}{\sigma_{WR}^2} \quad (2.22)$$

A képlet érdekessége, hogy az egyéni belüli szórások különbsége ugyanolyan szerepet kap, mint az idáig fontosnak gondolt átlagos különbség. Sőt, ha $\sigma_{WT}^2 < \sigma_{WR}^2$, akkor a különbség kompenzálja az átlagos különbséget. Ezt „varianciajutalomnak” hívták, az ellentétes esetet, mikor $\sigma_{WT}^2 > \sigma_{WR}^2$ pedig varianciabüntetésnek.

A tervezet szerint, ha becsült σ_{WR} kisebb, mint 0.2, akkor az I_{cs} , ha nagyobb, akkor az I_{rs} kritériumot kell használni. A θ hatásági határt 2.49-ben szabta meg az FDA, azaz IBE szerint két készítmény bioekvivalens, ha a számolt konfidencia-intervallum kisebb, mint 2.49. Az eredeti tervezet szerint (29) az I_{cs} és I_{rs} kritériumok 95%-os egyoldali konfidencia-intervallumát a bootstrap módszer segítségével kell meghatározni. A bootstrap módszer használatával elméletileg előfordulhat, hogy beadvány szerint a készítmény bioekvivalens, de ugyanazt a kódot lefuttatva a hatáság ellentétes következtetésre jut. Ez egy határozottan elméleti, gyakorlatilag kizárható valószínűségű esemény, de mégis az a tény, hogy az eredmény futásról futásra változik, noha kis mértékben, erős ellenérzést keltett. A konfidencia-intervallum számolásának egy alternatív, Howe eljárásán (30) alapuló, approximációs módszerét Hyslop adta meg az IBE esetére (31), és ezt Zou és Donner (32) általánosította.

A módszer alapötlete a következő: Legyen W és Y két random változó, becsléseik $\hat{w}$ és $\hat{y}$. Legyen az u_w és l_w , valamint az u_y és l_y becsült alsó és felső konfidencia-intervalluma W -nek és Y -nak. Ekkor a W - Y változó becsült alsó és felső konfidencia-intervallumai, az l és az u a 2.23 és 2.24 egyenlet segítségével számolható ki:

$$l = \hat{w} - \hat{y} + \sqrt{(\hat{w} - l_w)^2 + (u_y - \hat{y})^2} \quad (2.23)$$

$$u = \hat{w} - \hat{y} + \sqrt{(u_w - \hat{w})^2 + (\hat{y} - l_y)^2} \quad (2.24)$$

A fenti formulák l -re és u -ra közelítések, melyek a Cornish–Fisher sorfejtésen alapulnak (30). Hyslop észrevette, hogy I_{cs} és I_{rs} átrendezhető lineáris formába. Például az I_{rs} kritérium bal oldalra átrendezve így írható fel:

$$H_0: (\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_T^2 - \sigma_R^2) + \sigma_D^2 - \theta \sigma_{WR}^2 > 0 \quad (2.25)$$

Az IBE-teszt lényege, hogy ki kell számolni a 2.25 egyenlet által definiált random változó felső konfidencia-intervallumát. Hyslop módszerének a lényege, hogy ehhez először használjuk fel a kéttagú összegekre vonatkozó Howe-módszert. Első lépésben két párra osztjuk a négytagú összeget. Páronként kiszámoljuk a 95%-os határt, majd ismét alkalmazzuk a módszert. A dolgot kissé komplikálja, hogy a formula W-Y formára vonatkozik, de ez könnyen megoldható, ha egy tagot a fenti formulában kétszeresen negált formában írunk fel. A konkrét levezetés kissé hosszú, de egy rövidített formulát a fenti Hyslop–Howe-módszerrel az Eredmények fejezetben tárgyalok, mivel az eljárást mi használtuk először ez Eredmények fejezetben leírt célra. Hasonlóképpen az IBE-módszer további kritikáját, valamint azt követő fejleményeket szintén az Eredmények fejezet tartalmazza, miután ezek tudományos eredményeim lényegi részét alkotják.

3. Módszerek

3.1 Hardver

Az értekezésben szereplő eredmények személyi számítógép (PC) segítségével készültek. Ez mai szemmel nézve természetesnek tűnik, de valójában a 90-es években ez meglehetősen szokatlannak számított. A számításigényes programok futtatására nagyobb teljesítményű munkaállomások (például a DEC vagy SUN munkaállomás), esetleg nagygépek („mainframe”) szolgáltak. Ezek azonban nemcsak gazdasági, hanem politikai okok (COCOM lista) miatt is elérhetetlenek voltak Magyarországon 1992-ig. Ezért eleve személyi számítógépre írtam meg első szimulációs programjaimat, és ez a technikai korlátok miatt valódi szoftveres kihívást jelentett. Az így megszerzett gyakorlat azonban a későbbiekben nagy segítségemre volt. A **3.1 tábla** mutatja azokat a típusos gépkonfigurációkat, amelyeket az elmúlt évtizedek során használtam, és amelyekkel az értekezésben szereplő eredmények készültek. A táblázatban szereplő számok magukért beszélnek.

Beszerzés éve	Processzor-típus	Órajel (MHz)	Merevlemez- (Mb) kapacitás	RAM (Mb)	Operációs rendszer
1986	286	10	10	1	MS-DOS
1992	486 DX2	66	100	8	MS-DOS/Windows 3.1
1996	Pentium 1	133	1200	16	Windows 95/98
2002	Pentium 4	1700	40 000	512	Windows XP
2010	Core-i5	4 x 3500	4 000 000	8000	Windows 7

3.1 táblázat. A szerző által használt számítógépek

3.2 Szoftver

A hardverlehetőségek megszabják, hogy mennyi idő alatt fut le egy program, és behatárolják, hogy milyen szoftver futtatható az adott gépen. Az utóbbi tényező a fontosabb. Például igen nagy előny, ha egy szoftver ellenőrzött, és széles szoftverkönyvtárral rendelkezik, mert ez azt jelenti, hogy nem kell újraírni a kódot, és a könyvtárból használt rutin ellenőrzött. Egy nagyon fontos további különbség a fejlesztői környezetek között, hogy a kódot a program interpretálja vagy fordítja. Az interpretálás annyit jelent, hogy a gép lényegében soronként

hajtja végre az utasításokat, míg fordítás esetén a teljes programszöveget (ami alapvetően sok ezer sor). Az interpretált program interaktív, mert lényegében soronként ellenőrizhető a program, ezt újabban „scriptalapú” nyelvnek hívják. A fordított program lényegesen gyorsabb, mint az interpretált, viszont az interpretáltban sokkal gyorsabban lehet fejleszteni. Összességében mindkét megközelítésnek meg van a maga előnye és hátránya. Az általam használt programokat tájékoztató jellegű időrendi sorrendben, valamint néhány példa publikációjával a **3.2 táblázat** mutatja be.

Időszak	Program	Jellemzés	Publikáció
1987– 1995	Borland Pascal	Gyors fordító, de limitált memóriakezelés az MS-DOS miatt. Nagyon limitált statisztikai szoftverkönyvtár	(S1)
1995– 2005	Splus	Statisztikai nyelv széles körű statisztikai könyvtárral	(S2)
1996– 2012	Delphi	Objektumorientált Pascal Windows környezetben. Nagyon limitált statisztikai szoftverkönyvtár	(S3)
2000– 2010	Digital Fortan	Korszerű Fortan (Fortran 99) fordító. Nagy előnye a vele adott numerikus és statisztikai könyvtár (IMSL)	(S4)
2007–	Matlab	A numerikus matematikai módszerekre orientált programozási nyelv és könyvtár. Szkriptnyelv, főleg numerikus modellezésre fejlesztették	(S5)
2006–	R	Szabad hozzáférésű, jelenleg standard statisztikai nyelv	(S6)
2008–	Stata	Statisztikai programcsomag saját nyelvvel	(S7)

3.2 táblázat. Az értekezésben szereplő eredmények elérésére szolgáló programozási nyelvek, illetve programozási környezetek listája.

Természetesen felmerül a kérdés, hogy miért volt szükség többszörös programozási környezetre és vele együtt programozási nyelvváltásra. Ennek a leggyakoribb oka az volt, hogy a szoftver gyártóját felvásárolták, és az új tulajdonos olyan irányba vitte a fejlesztést, amely már nem volt megfelelő. Fejlesztői támogatás hiányában viszont a régi szoftver előbb-utóbb esetleg nem működik egy új operációs rendszer alatt. Más esetben a szoftverlicenc árát

vitték fel olyan szintre, amely már nem volt megfizethető. Ezért amennyire lehetséges volt, igyekeztem áttérni ingyenes nyitott környezetre, mint az R programozási környezet.

3.3 Szoftvermérnöki szempontok

A professzionális szoftverfejlesztés jellemzője a minőségbiztosítási, szoftvermérnöki szempontok (33) figyelembe vétele, mert ezek, ha nem is garantálják, de legalábbis csökkentik annak a veszélyét, hogy a kapott szimulációs eredmények tévesek legyenek.

Programozói munkám során az alábbi két szempontra helyeztem a hangsúlyt:

1. Validáció. A szoftver validációja általánosságban azt jelenti, hogy a program megfelel az előzetesen megfogalmazott validációs kritériumoknak. Tudományos szimulációs szoftver esetén nyilván a legfontosabb validációs kritérium az, hogy a szoftver a matematikai modellnek megfelelő helyes értéket adjon vissza. A kérdés az, hogy lehet a helyességet ellenőrizni, amikor szoftvert éppen azért írtam, mert nincs egyszerű módja a kért numerikus adatok megkapásának. Munkám során az alábbi validációs módszereket és kritériumokat használtam (34).
 - a. Függvény- és modultesztelés. A módszer lényege, hogy a programot modulárisan külön-külön tesztelhető egységekből építem fel, és a program helyességét azzal igazolom, hogy a különálló modulok helyes eredményt adnak vissza.
 - b. Irodalmi adatokkal, illetve más szoftverekkel elért eredményekkel való összehasonlítás. Szimulációs vizsgálatoknál mindig szerepeltek olyan szimulációs körülmények, amelyek eredményei más vizsgálatokból ismertek voltak.
 - c. Statisztikai határfeltételek teljesülése. A valószínűségi számítás egyik alapvető tétele a nagy számok törvénye. A törvény alapján a szimulált vizsgálati csoport elemszámának növelésével, illetve szimulációk számának növelésével az eredménynek konvergálnia kell egy egyszerűen számolható elméleti értékhez. Például, ha egy szimulált bioekvivalencia-vizsgálatban egy adott feltételnél az elméleti maximális Type I hiba 5%, akkor ehhez az értékhez kell a szimulált bioekvivalencia-vizsgálatok sikerességi rátájának tartania. Az elméleti aszimptotikus értéktől való átlagos hiba szintén becsülhető elméletileg. Példaképpen a következő táblázat mutatja, hogy hogyan változik az elméleti 5% sikerráta becslésének pontossága (relatív hibája) a szimulációk számának (N) növelésével.

N	%
100	43.59
1000	13.78
10000	4.36
25000	2.76

3.3 táblázat. Az 5% sikerrátabecslés relatív standard hibájának (%) függése a szimulációk számától (N).

A táblázat eredményei azon alapulnak, hogy a sikerráta egy binomiális változó, amelynek standard hibája a 3.1 képlettel számolható ki,

$$se_p = \sqrt{p * (1 - p) / N} \quad (3.1)$$

ahol p a sikerráta. Amennyiben az elméleti érték és a szimulált érték nincs a statisztikailag becsült hibahatáron belül, akkor vagy a szoftver vagy az elmélet hibás. Az (S8) közleményünkben mutattuk meg, hogy a néha plauzibilisnek tűnő matematikai modell téves becslést adhat. A cikk apropója az volt, hogy a programunk validálása során észrevettük, hogy az egyszerű kinetikai egyenletek által számolt C_{max} és a szimulációk átlagából számolt C_{max} a statisztikai hibánál lényegesen nagyobb mértékben eltérnek egymástól, azaz nem konvergálnak egymáshoz. A jelenség mélyebb matematikai magyarázatát az Eredmények fejezetben adom meg.

2. Sebesség- és memóriaoptimalizálás. Elsőre úgy tűnhet, hogy a mai hardveres feltételek mellett sem a sebesség, sem a memória nem lehet probléma. Ez azonban messzemenően nem így van. Az alábbi pszeudokód egy bioekvivalencia-vizsgálat szimulációs algoritmusát adja. Az algoritmus arra ad választ, hogy adott kinetikai paramétereltérések esetén mennyi annak az esélye, hogy két készítmény $N = 12, 16...$ stb. egyényszámmal végzett bioekvivalencia-vizsgálatban sikeres lesz.

```

1:   Fór N in (12, 16...)
2:     For i in 1: dim (Study_Design)
3:       For j in 1: Simulation_M
4:         For k in 1:N
5:           Sample_PK (N, Study, Design(i), PR, PT)
6:           For t in 1: ObsTime
7:             Comp (PR, t, R_Conct)
8:             Add (R_Conct, Assay_errort)
9:             Comp (PT, t, T_Conct)
10:            Add (T_Conct, Assay_errort)

```

```

11:          End
12:          Comp (AUCKT, AUCKR, CmaxKT, CmaxKR)
13:          End
14:          Test_Counter(j) = Equivalence(AUCKT, AUCKR, CmaxKT, CmaxKR)
15:          End
16:          Summary (Test_Counter)/Simulation_N
17:      End
18:  End

```

A kód logikája a következő. A legkülső ciklus (sor 1) mutatja az algoritmust különböző önkéntesszámokra. Azt, hogy milyen kinetikai paraméterben és milyen mértékben térjen el a T-készítmény az R-készítménytől, ezt a Study_Design tömb tárolja. Például itt rögzíthetem, hogy a T-készítmény felszívódássebesség-állandója 10, 20 stb. százalékkal térjen el az originálistól, a tömb méretétől (dim(Study_Design) függ a következő ciklus ciklusszáma (2. sor). Most már rögzítve vannak a paraméterek, és a szimulációk számának megfelelően (Simulation_M, 3. sor) generálok egy-egy bioekvivalencia-vizsgálatot N önkéntessel (4 sor). Ez azt jelenti, hogy általában két $p \times N$ méretű véletlen számokat tartalmazó tömböt generálok (PR és PT), ahol p a kinetikai modell dimenziójának száma (5. sor). Például a legegyszerűbb kinetikai modell 4 paramétert (F , k_a , Cl , V_d) tartalmaz, tehát p ebben az esetben 4. Most már tudottak az individuális kinetikai paraméterek, tehát generálhatók a koncentrációgörbék. A megfigyelési időpontok az ObsTime vektorban vannak, és ezekben az időpontokban kell kiszámolnom az egyéni koncentrációkat (7, 9 sor). A szimulációban figyelembe kell venni a mérési, analitikai módszerből eredő hibát, amely az időtől nem függ, csak a koncentrációtól (8. 10. sor). A 12. sorban kiszámolom a megfelelő bioekvivalencia-mérőszámokat, és a 14. sorban eldöntöm, hogy az adott feltételek mellett a szimulált vizsgálat bioekvivalens volt vagy nem. Annak valószínűségét, hogy a bioekvivalencia-vizsgálat sikeres lesz-e, úgy kapom, hogy a sikeres bioekvivalencia-vizsgálatok számát elosztom a szimulációk számával (16. sor).

A fenti pszeudokód alapján a kódot bármely nyelven könnyű megírni, de rossz esetben nem fog futni reális szimulációs szám (> 1000) esetén, jó esetben meg a szimulációs idő sok-sok óra lesz. Az ok az, hogy fenti pszeudokód 5 ciklust tartalmaz. Egyfelől a ciklusváltozók és függvénymemória-allokáció nemcsak lelassítja a rendszert, de ez rosszabb esetben memória túlcsorduláshoz is vezethet. További hiányossága a kódnak, hogy nem használja ki, hogy mind a szoftver-, mind a hardveroldaltól támogatott vektor, és tömbszintű műveleti utasításokat ad.

Az optimalizálásra példa a véletlenszám-generátor meghívása a fenti kódban. Tételezzük fel például, hogy 10 000 szimulációt végzek 24 önkéntessel 3 eltérő kinetikai paraméterrel. Ebben az esetben figyelembe véve, hogy a Test és

Referencia kinetikai paraméterek nem egyenlők, összesen 1 440 000-szer kellene a fenti a pszeudokód alapján meghívni a véletlenszám-generátort. Továbbá 60 000-szer kellene allokálni és deallokálni a PR- és PT-mátrixokat. Mindkét lépés redukálható egyszeri meghívásra, ha a véletlen számokat egyetlenegy nagy táblában előre generálom, és a PT- és PR-táblákat előre allokálom. A példa meglehetősen egyszerű és kézenfekvő, de mutatja, hogy hogyan lehet a kód átírásával a programot egyszerűsíteni és nagymértékben gyorsítani.

3.4 Szimuláció sokdimenziós paraméterterben

A szimulációs technikával kapcsolatban felmerül a kérdés, hogy mennyire általánosíthatók a következtetések. Valójában ez nem a szimulációtechnikával kapcsolatos kérdés, mert mint megmutatom, analitikus módon is számos esetben megkapható a kívánt paraméter és eloszlása. A valós kérdés az, hogy hogyan lehet a feltevéseket általánosítani, mivel a lehető legegyszerűbb farmakokinetikai feltevések bioekvivalencia-vizsgálat modellje is tíznél több paramétert tartalmaz. Példaképpen a fenti programban a kinetikai paraméterek mátrixát 5 elméleti átlag- és szórásparaméter definiálja, ez egyből tíz paraméter. További paraméterek a fenti modellben: a mérési hiba (ez tipikusan két paraméter), mérési időpontok száma, önkéntesek száma. A matematikában a sokdimenziós paraméter térproblémája jól ismert és gyakori. A paraméterter dimenziójának csökkentésére a következő technikákat használtam:

Több egydimenziós analízis

Bioekvivalencia-probléma esetén a paraméterek arányai (pl. felszívódási sebességek arányai, k_{aT}/k_{aR}) az érdekesek, és csak ezeket változtattam. A többi paramétert konstansnak kezeltem, így lényegében egydimenziós problémát vizsgáltam. Természetesen a több paraméter hatásának vizsgálatától nem lehet eltekinteni, ezért a fenti egydimenziós analízist meg kell ismételni más konstans paraméterekkel. Ennek megfelelően a többdimenziós probléma vizsgálatát több egydimenziós analízisre vezetem vissza. A publikációkban az egydimenziós analízisekre mint „forgatókönyvekre” (scenario) hivatkozom.

Átparametrizálás

Ha paraméterek arányait vizsgálom a paraméterek helyett, akkor a dimenzió csökkenthető. A fenti példában a két paraméter k_{aT} és k_{aR} helyett csak egyetlenegy (k_{aT}/k_{aR}) fog szerepelni, és a dimenziószám eggyel csökken. Hasonló módon az adagolási időintervallum és az eliminációs sebesség között összefüggés írható fel. Ha az elimináció gyors, akkor egy készítményt adott akkumuláció eléréséhez gyakran kell adagolni, azaz az adagolási időköz kicsi. Fordított esetben, lassú elimináció esetén viszont, nagyra lehet venni az adagolási időközt. Így, ha az akkumuláció mértéke az a paraméter, amelynek a hatását vizsgálom, akkor két paraméter helyett (adagolási időköz, eliminálódási sebesség) elégséges egyetlen paraméter (az akkumulációs index) hatását nézni.

A paraméterter restrikciója

Elvileg a farmakokinetikai paraméterek értéke bármely pozitív szám lehet, de valójában élettani és gyakorlati okok miatt csak egy adott intervallum érdekes. Egészséges önkéntesekben feltehető, hogy az időablak, amely alatt a hatóanyag felszívódik (felszívódási ablak) maximálisan 24 h, és nem tartalmaz olyan készítményt, amely napi hatszori adagolást igényelne a terápiás hatás eléréséhez. A mérési hiba a hatásági útmutatók előírásai miatt limitált (35).

Extremitások és határfeltételek keresése a paraméterterben

Ezt szemléletesen a legrosszabb helyzet ('worst case scenario') fogalma írja le. Például vizsgáltam, hogy mi legyen az utolsó mintavételi időpont egy bioekvivalencia-vizsgálatban. Megmutatható, hogy ez attól függ, hogy mi az az időpont, mikorra a felszívódás biztosan befejeződik. Ez fiziológiás okokból semmiképpen sem lehet több mint 72 óra egészséges önkéntesekben. Ugyanakkor a bioekvivalencia pontbecslésének a hibája függ a felszívódási időtől és a mintavételi idő hosszúságától (S3). Ezért annak bizonyítása után, hogy a hiba monotonon függ a paraméterértéktől, felső korlátot lehet adni a becslés hibájára.

4. Eredmények

4.1 Bioekvivalencia-metrikák vizsgálata

4.1.1 Az optimális bioekvivalencia-metrika tulajdonságai, a kinetikai szenzitivitás fogalma

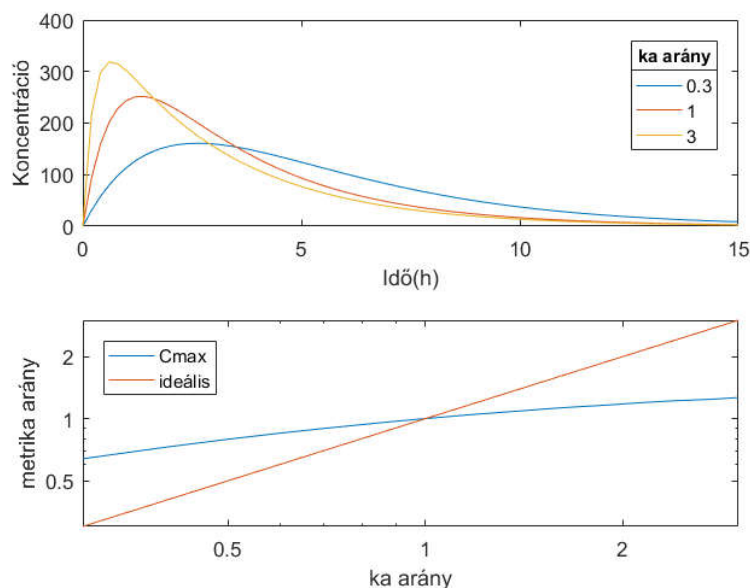
Saját közlemény: (S9, S10)

Statisztikai szempontból a koncentrációprofilok összehasonlítása egy többváltozós feladat, ahol a változók nem mások, mint az $i = 1 \dots m$ pontokban mért plazmakoncentrációk, standard jelöléssel a C_i -k. A statisztikában szokásos módon a többváltozós feladatot egyváltozós feladatra redukáljuk úgy, hogy $g: C^M \rightarrow y$ leképezést vezetünk be, ahol y egy szám lesz, amely jellemezi a kinetikai görbét. Például ha a ' g ' a maxfüggvény, akkor a $C_{\max}$ -t kapjuk mint metrikát. Kérdés, hogy hogyan válasszuk meg a metrikát, mi az optimális metrika tulajdonsága? A választ a kérdésre adtuk meg (S9, S10).

A bioekvivalenciának a jogi definíció szerint két paramétert kell mérnie: a felszívódás mértékét és a sebességét. A két paraméter megfeleltethető a kompartmentmodellekben (lásd 2.1–2.6 egyenletek) az F - és k_a -paramétereknek. Ennek megfelelően az optimális metrika megtalálására $f(x_T/x_R) \rightarrow y_T/y_R$ alakú leképezéseket kell vizsgálni, ahol x_T és x_R a T - és az R -készítmény kinetikai paraméterei, míg y_T és y_R a megfelelő metrikák.

Az ideális metrika tulajdonságai a fentebb definiált f függvény segítségével:

1. **Specifitás.** Csak egyetlen, a felszívódásban szerepet játszó kinetikai paramétertől függ. Az AUC független a k_a -tól, és ezért specifikus, míg ezzel szemben a $C_{\max}$ függ mind az F -tól, mind a k_a -tól.
2. **Linearitás.** Ideális esetben a metrikák aránya megegyezik a kinetikai paraméterek arányával, azaz $y_T/y_R = x_T/x_R$. Az F ratio megegyezik az AUC-aránnyal, és ezért a linearitás szempontjából az AUC ideális metrika. Ugyanakkor a $C_{\max}$ -arány nem egyezik meg a k_a -aránnyal.
3. **Kinetikai szenzitivitás.** Amennyiben a kapcsolat nem lineáris a kinetikai paraméterek és a metrika között, akkor definiálható a kinetikai szenzitivitási görbe. Ez lényegében az f függvényt ábrázolja és mutatja, hogy hogyan változik a metrika aránya a kinetikai paraméter arányának függvényében. Az ábrázolás szimmetriája érdekében a paraméterek logaritmusát mutatjuk. Alapvető megfigyelés, hogy tipikus farmakokinetikai paraméterek esetén a felszívódás sebességét mérő metrikák alulbecsülik a k_a -arányt, azaz a szenzitivitás gyakorlatilag mindig kisebb mint 1. Ezt illusztrálja a **4.1 ábra**.



4.1 ábra. Felső ábra: Plazmakoncentrációs görbék egykompartmentes modellt feltételezve. A referenciakészítmény kinetikai paraméterei: $k_a = 1.39\text{h}^{-1}$, $V_d = 1\text{ L}$, $Cl = 0.347\text{ L/h}$. Dózis = 400 egység. A két tesztkészítmény felszívódási sebessége egyharmada, illetve háromszorosa a referenciasebességének. Alsó ábra: A k_a -arány változását követi a $C_{\max}$ -arány (kék görbe), de csak kis mértékben. A kék görbe meredeksége mindenütt jóval kisebb, mint a k_a -arány, ezért a $C_{\max}$ egy „érzékeny” metrika.

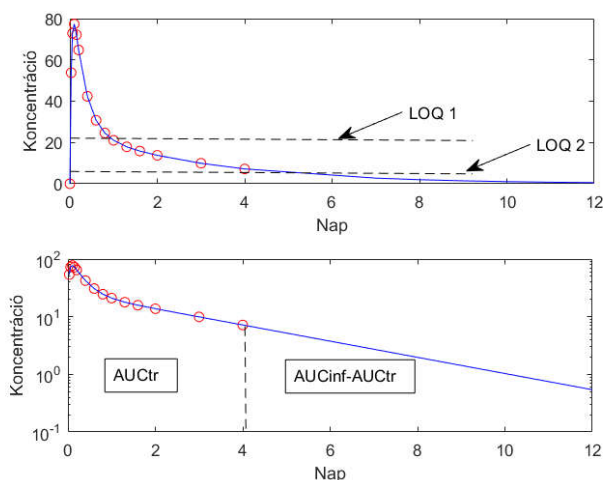
4. Variabilitás és robusztusság. A $C_{\max}$ -t egyetlen mérési pont meghatározza, míg az AUC esetén az összes mérési pont szerepel. Ezért az AUC esetén a mérési hiba kiátlagolódik, míg a $C_{\max}$ esetén nem. Miután $AUC = F \cdot \text{Dózis} / Cl$, ezért az AUC variabilitása nem függ a k_a variabilitásától. E két tényező indokolja, hogy a $C_{\max}$ variabilitása általában nagyobb, és ez fogja megszabni, hány embert kell beválasztani a bioekvivalencia-vizsgálatba.

5. Egyértelműség. Természetesen felmerül a kérdés, hogy miért van szükség metrikára egyáltalán, miért nem használható a farmakokinetikai modellezés teljes eszköztára. Például a k_{aT}/k_{aR} arány tudományos szempontból egy nagyon racionális kritériumnak látszik annak igazolására, hogy a felszívódási sebességek azonosak. A probléma az, hogy a farmakokinetikai modellválasztás sohasem egyértelmű, és mindenképpen elkerülendő az a lehetőség, hogy két termék bioekvivalensnek minősüljön egy adott farmakokinetikai modell esetén, és nem egyenértékűnek, ha egy másik kompartmentmodellt használunk. Ezért van az, hogy a CHMP útmutató egyértelműen kizárja a bioegyenértékűség bizonyítására a kompartmentmodelleket (18).

4.1.2 Csonkolt (truncated) AUC-metrikák – problémák és lehetőségek

Saját közlemény:(S3, S11)

Mint az előző pontban láttuk, az AUC számos szempontból ideális metrikának tekinthető a felszívódás mértékének (F) összehasonlítására. Ugyanakkor a mért AUC nem azonos a kinetikai egyenletek (lásd 2.1 – 2.6 egyenlete) integrálásával kapott elméleti értékkel még akkor sem, ha a véletlenszerű hibakomponensektől eltekintek. Ennek alapvető oka, hogy véges számú mintavételi pontom van, és görbe alatti területet ezzel közelítem. Több algoritmus is ismeretes arra, hogy hogyan határozzuk meg az optimális elrendezését, ha a mintavételi pontok számát rögzítjük (36). Ezek meglehetősen elméleti konstrukciók, mivel az adott vegyület kinetikájának pontos ismeretét teszi fel. Ez gyakorlatban igen ritkán teljesül. Mi egyszerűbb kérdést vizsgáltunk, mi legyen az utolsó mérési pont? A problémát a 4.2 ábra mutatja.



4.2 ábra. Egy hipotetikus gyógyszer plazmaszintgörbéje kétkompartmentes kinetikai görbét feltételezve. Az alsó ábra adatai megegyeznek a felső ábra adataival, de a koncentráció logaritmikus van ábrázolva. LOQ 1 és LOQ 2 az analitikai mérési határok, LOQ (limit of quantitation) alatt plazmaszintgörbe nem határozható meg. Trapézmódszerrel a görbe alatti terület meghatározható az utolsó mért pontig (AUCtr). A koncentráció logaritmusára egyenest illesztve (alsó ábra) meghatározható a terminális eliminációs konstans (k_e). Megmutatható, hogy a plazmakoncentrációk görbe alatti területe végtelenig extrapolálva (AUCinf) egyenlő $AUCtr + C/k_e$, ahol C az utolsó, az ábrán 4. napon mért koncentráció. Paraméterek: $V_d = 1$, Dózis 100, $k_e = 1$, $k_a = 27.7$, $k_{12} = 1.84$, $k_{21} = 1.53$. A kinetikai konstansok dimenziója 1/nap.

A 4.2 ábra azt illusztrálja, hogy hogyan változik az AUC definíciója az analitikai érzékenységgel. Amint látható, minél érzékenyebb a módszer, minél kisebb az LOQ, annál hosszabb ideig tudunk mérni. Ez tudományos szempontból érdekes lehet, de ipari szempontból meglehetősen paradox szituációhoz vezetett. Az 1990-es évek közepére az analitikai módszerek, a HPLC/MS és hasonló módszerek érzékenysége drámaian megnőtt, és így képessé váltak, hogy hosszabb ideig kövessék a plazmakoncentrációt.

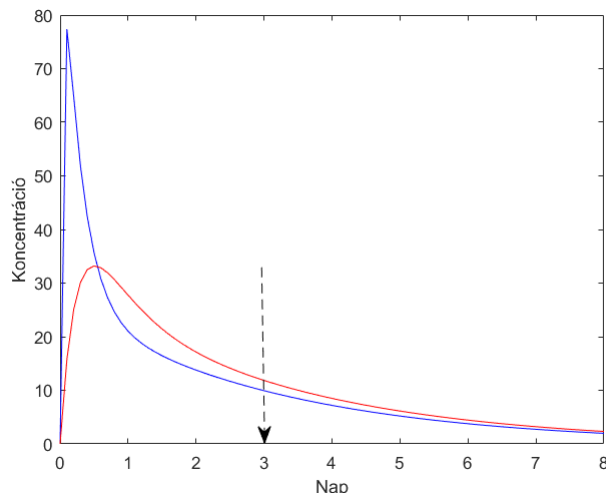
De az, hogy a hosszabb mérés lehetségessé vált, nem jelenti azt, hogy ez szükséges és hasznos. A hosszabb vizsgálati idő nem csak költséges, de ha nem szükséges, akkor nem is etikus. Elméleti megoldás lehet, hogy csak egy adott ideig mérünk, és utána extrapoláljuk az adatokat. Így azonban két AUC-értékünk és ennek megfelelően két bioekvivalencia-tesztünk van. Az egyik az AUC_{tr}-re (amit rövidítenek AUC_τ-nak, ha a numerikus integrálás az utolsó mért időpontig tart), a másik az AUC_{inf}-re. Nem volt szokatlan, hogy az egyik metrikára bizonyították a bioekvivalenciát (például az AUC_τ arány vonatkozásában), míg az AUC_{inf} arány vonatkozásában nem. Ez meglehetősen ellentmondásos esetekhez vezetett. Speciális problémát jelentenek az úgynevezett „hosszú felezési idejű” gyógyszerek. Számos ilyen van, például az amiodaron felezési ideje közel 50 nap. Ilyen hosszú felezési idejű gyógyszerrel keresztezett elrendezésű vizsgálatot végrehajtani nagyon nehézkes, mert közel 500 napig tartana. Párhuzamos elrendezésű vizsgálat esetén pedig a variabilitás úgy meg nő, hogy a megkövetelt elemszám a bioekvivalencia bizonyítására erősen megkérdőjelezi majd a fejlesztés kifizetődő voltát.

Ennek megfelelően két kérdést vizsgáltunk:

1 – Szükséges-e a felszívódás mértékét bioekvivalencia-vizsgálatokban két külön aránnyal az AUC_{tr} és az AUC_{inf} aránnyal mérni? Vagy elég a kettő közül az egyik?

2 – Hosszú felezési idejű gyógyszerek. Mennyi ideig kell mérni a hosszú felezési idejű gyógyszerek esetén a plazmaszinteket, hogy megbízható következtetést vonjunk le a felszívódás mértékének arányára? Mi a minimális követelmény, és mi az optimális időtartam?

Az irodalom ellentmondásos volt. Martinez és Jackson (37) úgy találta, hogy az AUC csonkítása kedvezőtlen, míg Romero (38) és Midha (39) ezzel ellentétes eredményeket publikált. Ugyanakkor az utóbbi két szerző más-más ajánlást fogalmazott meg a csonkítás megengedett mértékére vonatkoztatva. Romero (38) szerint az AUC_{tr}/AUC_{inf} aránynak minimálisan 80%-nak kell lennie, hogy megbízható következtetést vonjunk le, míg Midha (39) szerint elégséges két T_{max} ideig (tehát ha T_{max} = 4 óra, akkor 8 óráig) követni a plazmakoncentrációkat. A fenti következtetések elsősorban beadott vizsgálatok újraelemzésen alapultak. Ezt egészítettük ki elméleti és szimulációs eredményekkel. Az elméleti modell megértéshez figyelembe kell venni, hogy az AUC_{tr} az AUC-ról állított előző paragrafussal ellentétben már függhet a felszívódás sebességétől. Ezt illusztrálja a következő ábra.



4.3 ábra. A piros vonallal jelölt készítményből a hatóanyag felszívódása lassúbb, de más kinetikai paraméterei megegyeznek a kék készítménnyel. Ezért az AUC_{inf} értékek azonosak. De az AUC_{tr} értékek eltérnek. Mint az ábra mutatja, a háromnapos mérési periódus után mért AUC_{tr} kisebb a piros színnel jelölt koncentráció görbe alatt a kékhez viszonyítva. Ez következik abból, hogy a piros vonal már az első nap után mindig a kék fölött van.

Ennek megfelelően vizsgáltam, hogy az AUC_{trT}/AUC_{trR} arány relatív átlagos négyzetes hibájának ($MSE = \text{mean squares error}$) aránya hogyan változik a megfigyelési idő függvényében, amennyiben a T-készítmény felszívódási sebessége (amelyet a k_aT jellemez) eltér k_aR -tól. Mind elméletileg, mind szimulációval vizsgáltam a kérdést. Az elméleti modell egyben a szimulációs program validálására is szolgált.

A szisztematikus torzítás (bias) számítása könnyű, mivel a trapezoid integrálási szabály lényegében egy lineáris leképezés. Legyen a koncentráció egy adott t_i időpontban egyenlő $c_i = f(\theta, t_i)$, ahol a θ a farmakokinetikai paraméterek p hosszúságú vektora, és az f a kinetikai modellfüggvény. Például egykompartmentes modellt, orális adagolást feltéve:

$$f(\theta, t) = \text{Dose} * \frac{k_a * F}{V_d * (k_a - \frac{Cl}{V_d})} (e^{-t * \frac{Cl}{V_d}} - e^{-t * k_a}) \quad (4.1)$$

Az i -edik időponthoz tartozó AUC_{tr}

$$AUC_{tr}(i) = 0.5 * \sum_{j=1}^i (t_{j+1} - t_j) (c(j+1) + c(j)) \quad (4.2)$$

Ez átírható mátrixformába is:

$$AUC_{tr}(i) = \text{TRAP} * c(i) \quad (4.3)$$

ahol TRAP egy $i \times i-1$ mátrix lesz, és $c(i)$ a koncentrációk vektora az i -edik időpontig. A becsülni kívánt AUC-arány torzítása függ a megfigyelés időpontjától. Az i -edik időpontban:

$$\text{Bias}(i) = AUC_{trT}(i) - AUC_{trR}(i) \quad (4.4)$$

A TRAP-mátrix használata azért előnyös, mert megengedi, hogy nemcsak a torzítást, hanem az $AUC_{tr}(i)$ -k szórását is számoljuk. Ez két tényezőtől függ, egyfelől a farmakokinetikai paraméterek (θ) szórásától, másfelől a mérési hibától. Tételezzük fel, hogy ismerjük θ variancia kovarianciamátrixát, legyen ez Ω . Akkor a c koncentráció vektor variancia-kovariancia mátrixa első rendű közelítésben (Taylor-sort használva) felírható a 4.5 egyenlet az alábbi formában (40).

$$D_C = R^T \Omega R + \sigma^2 C \quad (4.5)$$

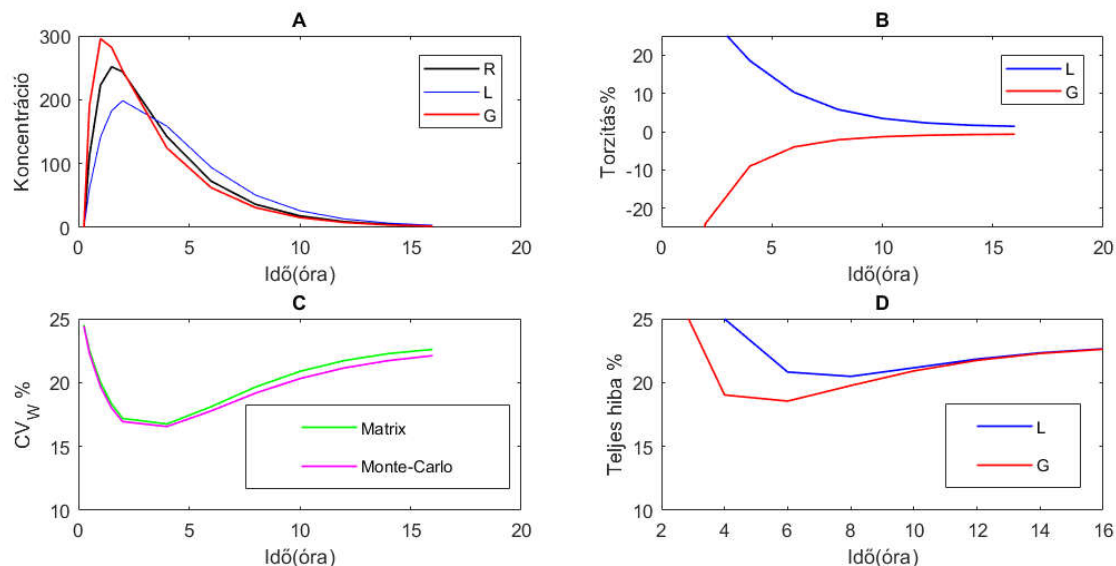
ahol I egy $n \times n$ identitásmátrix és R egy $n \times p$ mátrix, ahol p elemei $f(\theta, t)$ függvény j -edik paraméter szerinti parciális deriváltja az i -edik időpontban. A C egy $n \times n$ diagonális mátrix, ahol $C(i, i) = c(i)$. A $\sigma^2 C$ mátrix a relatív mérési hibát modellezi, ha pl. $\sigma^2 = 0.01$, akkor ez 10%-os relatív mérési hibának felel meg. Ismerve a koncentrációk variancia-kovariancia mátrixát és kihasználva, hogy TRAP lineáris leképezés, megkapjuk $D_{AUC_{tr}-t}$, ami

$$D_{AUC_{tr}} = TRAP^T D_C TRAP \quad (4.6)$$

A teljes relatív hiba az i -edik megfigyelési időpontban

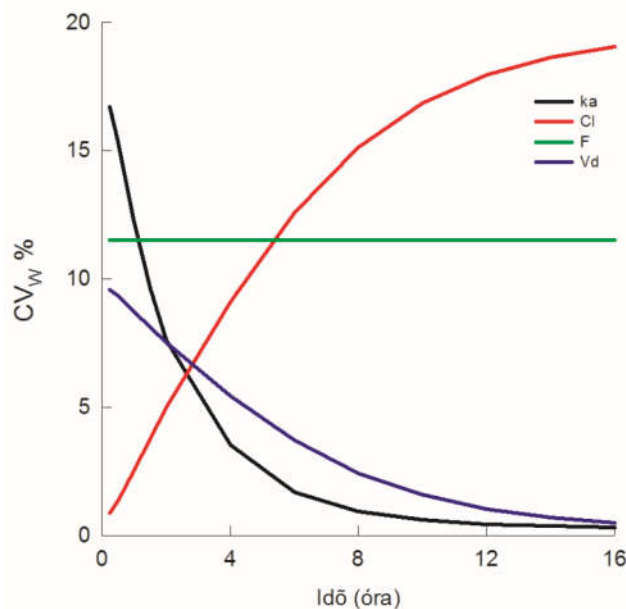
$$\text{Relatív hiba}(i) = (2 * D_{AUC_{tr}}(i, i))^2 + (AUC_{tr_T}(i) - \frac{AUC_{tr_R}(i)^{0.5}}{AUC_{tr_R}(i)}) \quad (4.7)$$

A 4.7 egyenletben az első komponens a kinetikai paraméterek szórásából, illetve a mérési hibából adódik. Mivel feltettem, hogy a felszívódás mértéke azonos, a második komponens egy olyan torzítást mér, amely a felszívódási sebességek eltéréséből adódhat. A 4.7 egyenlet már használható arra, hogy egyszerű esetben számoljuk az AUC_{tr_T}/AUC_{tr_R} átlagos hibájának a függését az utolsó megfigyelési időpont függvényében. Az elméleti levezetést a **4.4 ábra** illusztrálja. Az ábrán az R-készítmény egy tipikus gyorsan felszívódó készítmény az alábbi kinetikai paraméterekkel. $Cl = 0.347$, $V_d = 1$, $k_a = 1.39$. $F = 0.5$, Dózis = 400 egység. Az F esetén felteszem, hogy eloszlása egyenletes a 0.4–0.6 intervallumban, a többi esetben lognormális az alábbi paraméterekkel: $CV_{k_a} = 20\%$, $CV_{V_d} = 10\%$, $CV_{Cl} = 20\%$. A mérési hiba $\varepsilon_i = 0.1 * c_i + 0.25$. Azaz 10% relatív hiba és az $LOQ = 1.25$, ha LOQ egyenlő az alapzaj szórásának ötszörösével. Ezek a kinetikai paraméterek a Bois (41) szerint a paracetamol jellemzői, és mint a „paracetamol” adataira hivatkozom rájuk.



4.4 ábra. **A** – Számított koncentrációs görbék feltéve, hogy a G-készítmény esetén a felszívódás sebességi állandója kétszer olyan nagy, mint az R-készítményé, az L-készítmény esetén kétszer olyan lassú, de minden más paraméter azonos. **B** – Az F_L/F_R és F_G/F_R arány becslésének relatív hibája a 2...16 h mérési időpontokban számolt AUC_{tr} arányokból. **C** – Az egyéni belüli relatív szórás (CV_w %) az egyes mérési időpontban szimulációval ('Monte-Carlo'), illetve a fent leírt lineáris közelítéssel ('Matrix'). **D** – A teljes relatív hiba függése a megfigyelési idő függvényében.

A **4.4 ábrából** két fontos következtetést vonhatunk le. A **4.4.C** ábra mutatja, hogy a szimulációs, illetve a lineáris közelítésen alapuló módszerrel számított eltérés minimális. Ez fontos volt, mivel az eredmények alapjául szolgáló program MS-DOS alapú program még nem használt programkönyvtárakat, és fejlesztése az alapokból történt. Az elméleti modell egyezése a szimulált értékkel mutatta, hogy a program helyes. A **4.4.D ábra** mutatja, hogy a teljes hiba relatív hiba, lényegében azonos marad a 10 órás időtartamot követően. Ebből következik, hogy ebben az esetben mintavételi időtartam lerövidíthető. Azt, hogy az eredmények mennyire általánosíthatók, további modell- és szimulációs számításokkal vizsgáltuk. Ebben segítséget adott az elméleti modell, mert mint az a **4.4.C ábrán** látható, a t , a CV_w időfüggése jól számolható. Továbbá a Dc-mátrix segítségével külön is vizsgálható az egyes hibakomponensek hozzájárulása az időfüggvényben, ahogy ezt a következő ábra illusztrálja.



4.5 ábra. Az egyes komponensek egyéni belüli szórásának, illetve a mérési hibának hozzájárulása a teljes hibához. A kezdeti felszívódási fázisban a felszívódás hibakomponense a domináns, a késői fázisban a Cl a meghatározó.

A matematikai modell és a validált szimulációs program segítségével az alábbi két vitatott pontban lehetett következtetéseket levonni:

1 – Hosszú felezési idejű ($t_{1/2} > 24h$) készítmények.

Gyors felszívódású (nem módosított felszívódású) az AUC-arány, mint a felszívódási arány mértéke jól becsülhető a 48 órás mérési adatokból. Ekkor a torzítás mértéke már gyakorlatilag zéró, mert feltehető, hogy 24 óra elteltével már fiziológias okokból nem történik felszívódás. Ezért a felszívódást jellemző farmakokinetikai paraméterekből adódó hiba lényegileg minimális. Ezen állításunkat Gaudreault és munkatársai 123 bioekvivalencia-vizsgálat adatainak segítségével igazolták (42). Ennek megfelelően a mérési időintervallum hossza limitálható felszívódási időintervallumra, és a koncentráció követése a teljes kiürülés végéig felesleges. Sőt a hosszabb idejű mérés, nem hogy csökkenti, hanem inkább növelheti a teljes hibát.

2 – Az extrapolálás AUC_{inf} -re.

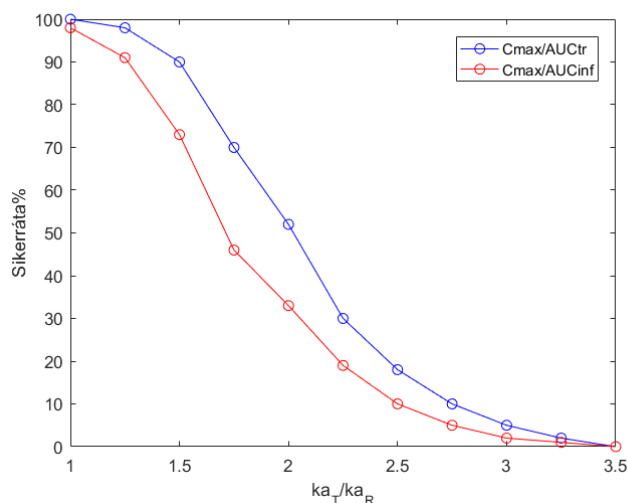
Elvileg minden trapézmódszerrel számolt AUC csonkolt, mert az analitikai mérési módszerek nem engedik meg a tetszőlegesen kicsi koncentrációk mérését. A terminális eliminációs konstans meghatározásával azonban lehetőség van a koncentrációgörbét extrapolálni, és így megkapni az AUC_{inf} értékét. Valójában a hatósági előírások azt is megengedik, hogy amennyiben az $AUC_{tr}/AUC_{inf} >$ értéke nagyobb, mint 0.85, akkor ne mérjék meg a hiányzó

koncentrációkat. A protokollban rögzített trapézmódszerrel számolt AUC szokásos jelölése AUC_t vagy AUC_{lqc} , de az előző paragrafussal való kapcsolat hangsúlyozása érdekében az AUC_{tr} jelölést alkalmazom a szokásosabb AUC_t vagy AUC_{lqc} helyett.

Az AUC_{inf} -et mindenképpen ki kell számolni azért, hogy becsüljük az AUC_{tr}/AUC_{inf} arány értékét, mert ez biztosítja azt, hogy elég hosszú ideig mértünk nem hosszú felezési idejű készítmények esetén. A kérdés azonban az, hogy miből becsüljük a relatív biohasznosíthatóságot, az F_T/F_R arányt?

A válasz, amit erre a kérdésre adtunk, hogy az extrapolálás hibája tükrözi az utolsó pontok emelkedő hibáját, amelyet a CI és esetleg a mérési hiba okoz. Amennyiben a felszívódás befejeződik, nincs értelme a további matematikai extrapolációnak, mivel az AUC-arány az AUC_{tr} arányból pontosabban becsülhető, mint az AUC_{inf} arányból.

Az AUC_{tr} nem csak a relatív felszívódás mértékének becslésére használatos. Endrenyi és Fritsch (43) vezette be az C_{max}/AUC metrikát a relatív felszívódás sebességének becslésére. A fenti 2 pontból az következik, hogy az C_{max}/AUC_{tr} jobb becslő, mint a C_{max}/AUC_{inf} . Ezen állításunk igazságát illusztrálja a **4.6 ábra**.



4.6 ábra. Szimulált bioekvivalencia-vizsgálatok sikerrátája. A farmakokinetikai paraméterek azonosak a **4.4 ábránál** leírtakkal kivéve, hogy a T-készítmény felszívódási sebessége a ka_T/ka_R aránynak megfelelően gyorsabb. A sikerráta mutatja, hogy mi a valószínűsége annak, hogy a C_{max}/AUC_{tr} , illetve C_{max}/AUC_{inf} konfidencia-intervalluma benne lesz a [0.80-1.25] intervallumban. A szimuláció során feltettük, hogy minden olyan pont, melynek értéke kisebb, mint $0.05 \cdot C_{max_R}$ nem mérhető, mert az analitikai hiba túl nagy. Az AUC_{tr} -t a fentmaradó pontokból számoltuk.

Számos más modellben is vizsgáltuk azt, hogy a $C_{\max}/AUC_{\text{tr}}$ vagy a $C_{\max}/AUC_{\text{inf}}$ a jobb metrika. A szimulációs modellekbe belevettünk olyan, a gyakorlatban megfigyelhető jelenségeket, mint a késleltetési idő, kétkompartmentes modell és a felszívódás által kontrollált elimináció. A $C_{\max}/AUC_{\text{tr}}$ mindegyik feltétel között jobb volt, mint a $C_{\max}/AUC_{\text{inf}}$.

4.1.3 $C_{\max}$ és $T_{\max}$ statisztikai tulajdonságai

Saját közlemény: (S8)

Mint már említést nyert, tudományos igényű szimulációs programok esetén alapkövetelmény a program validálása. Természetesen a hibamentességet bizonyítani nem tudjuk, de az átfogó ellenőrzés legalább is csökkenti a programban megbúvó hibák számát, illetve annak valószínűségét, hogy a programban alapvető hiba van. Az egyik ellenőrzési stratégia az, hogy egyszerű esetekben lehetséges a szimuláció eredményeit az analitikus úton megoldott modellegyenletekkel (2.1- 2.6 egyenletek) összevetni. Jelöljük az X szimulált változó futtatási eredményeinek átlagát $E(X)$ -xel. Amennyiben a program helyesen működik, akkor az elvárás az, hogy a szimulációk számának növelésével $E(X)$ konvergál az analitikus megoldáshoz. Programunk tesztelésekor azonban azt tapasztaltuk, hogy a szimulált koncentrációkból számolt maximum nem egyezik meg az analitikus függvény maximumával. Belegondolva és visszatekintve ez logikus volt. A statisztikában az extremitások statisztikai tulajdonságának tanulmányozása fontos terület, például ezen alapszik a maximális vízállás vagy a bankcsőd becslése. De nem stacionárius folyamatok esetén az elmélet komplikáltabb, és farmakokinetikai metrikák kapcsolata a statisztikai extrémitás analíziséhez ismeretlen volt. Ezért célszerűnek tűnt annak megvizsgálása, hogy a tágabb statisztikai modellen alapuló megközelítés mennyiben ad más eredményt, mint az analitikus megoldás.

A $C_{\max}$ mintaeloszlása

Ezt két lépésben vezettem le. Legyen C_{ij} az i -edik egyénben a j -edik időpontban mért koncentráció. C_{ij} felírható az alább formában:

$$C_{ij} = PK(\theta_i, t_j) + \varepsilon_{ij} \quad (4.8)$$

ahol $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2_{ij})$ a mérési hiba, $PK()$ jelöli a farmakokinetikai modellegyenletet, és θ_i az i -edik egyén farmakokinetikai paraméterek vektora. Jelölje $f(C_{ij}, \theta_i)$ a C_{ij} feltételes sűrűségfüggvényét, míg a megfelelő, feltételes kumulatív eloszlási függvényt jelölje az $F(C_{ij}, \theta_i)$. Az alábbiakban felhasználok, hogy ha adott $X_1, X_2, \dots, X_n$ valószínűségi változó $F_1, F_2, \dots, F_n$ eloszlási függvényekkel, akkor a $\max(X_1, X_2, \dots, X_n)$ eloszlási függvénye az $F_1, F_2, \dots, F_n$ eloszlási függvények szorzata. Ez alapján a megfigyelt $C_{\max}$ feltételes eloszlási függvénye az i -edik egyénben feltéve, hogy n megfigyelésem van személyenként:

$$F(C_{\max} | \theta_i) = \prod_{j=1}^n F(C_{ij} | \theta_i) \quad (4.9)$$

A mintaeloszlást formálisan megkapom, ha a θ paraméter szerint integrálok.

$$F(C_{\max}) = \int_0^{\infty} \prod_{j=1}^n F(C_{ij} | \theta_i) dF(\theta) \quad (4.10)$$

A Tmax mintaeloszlása

A Tmax mintaeloszlását a Cmax-hoz hasonló módon, kondicionálisan először az i-edik egyénre írjuk fel:

$$\Pr(T_{\max,k,i} = t_k | \theta_i) = \int_0^\infty (f(C_{k,i} | \theta_i) \prod_{j=1..n, j \neq k} [F(C_{i,j} < C_{k,j}) | \theta_i]) d(C_{k,i}) \quad (4.11)$$

Az 4.11 egyenlet azt mondja, hogy annak az eseménynek a valószínűsége, hogy pont a k-adik megfigyelést választom Tmax-nak az i-edik egyénben, egyenlő azzal a valószínűséggel, hogy a k-adik megfigyelés a Cmax és minden más $C_{i,j} | \theta$ kisebb, mint $C_{k,j} | \theta$. A nem kondicionális eloszlást a θ populációs eloszlást figyelembe véve megkapom, ha a 4.11 egyenletet a θ paraméter szerint integrálom. Továbbiakban a mintaeloszlás segítségével kapott eredményekre, mint a kiterjesztett valószínűségi modell segítségével elért eredményekre is hivatkozom, mivel az utóbbi az analitikus megoldást egészíti ki a véletlen komponensekkel.

A 4.10 és 4.11 egyenletek komplikáltak látszanak, de numerikusan könnyű őket kiszámolni, és lehetővé tenni néhány paradoxnak tűnő megfigyelés megmagyarázását. Illusztrációképpen az előző paragrafusban leírt paracetamol adatokat használom, de nemcsak egyszeri esetet, hanem a fenntartó adagolás esetét is vizsgáltam.

A plazmakoncentráció görbéje fenntartó adagolás esetén egykompartmentes modellt feltéve 4.12 egyenlettel írható le.

$$c(t) = \frac{\text{Dose} * k_a * F}{V * k_a \frac{Cl}{V_d}} \left(\frac{e^{-\frac{Cl * t}{V_d}}}{1 - e^{-\frac{Cl * T_m}{V_d}}} - \frac{e^{-k_a * t}}{1 - e^{-k_a * T_m}} \right) \quad (4.12)$$

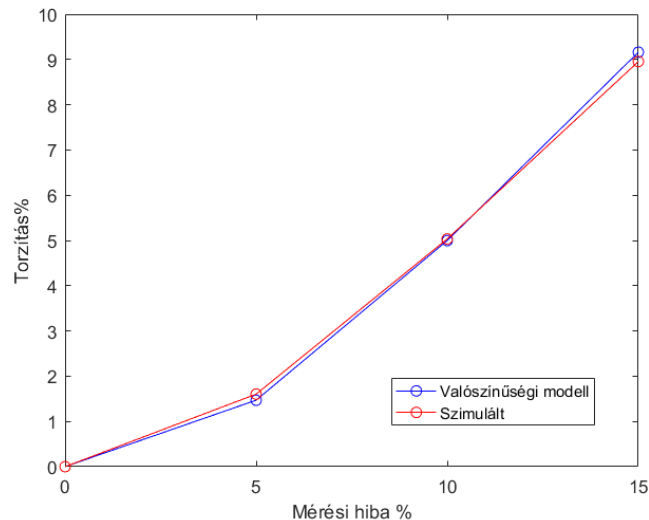
A jelölések, mint az eddigiek. Egy új szimbólum, a T_m , az adagolási időközt jelöli. A 4.12 egyenlet maximuma adja az analitikus $C_{\max}^0$ és $T_{\max}^0$ értéket.

A relatív különbséget az analitikus (4.12) és a valószínűségi változókon alapuló (4.10 és 4.11) kiterjesztett modellkülönbséget a Torzítás% változó méri, amelynek definíciója

$$\text{Torzítás\%} = 100 * \frac{M - M^0}{M^0} \quad (4.13)$$

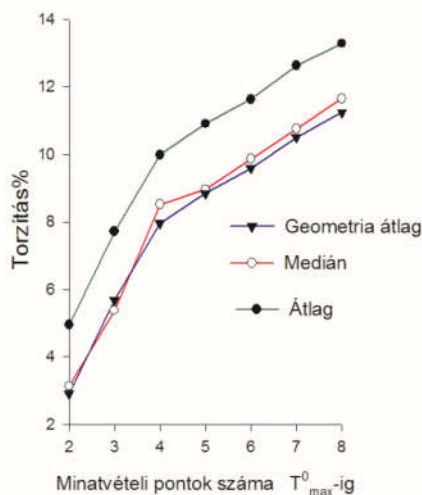
ahol M^0 az analitikus módon kapott megoldás, míg M a szimulációval kapott várható érték.

A **4.7 ábra** mutatja, hogy például a Cmax esetén a kiterjesztett valószínűségmodell eredménye helyesen adja vissza azt a jelenséget, hogy a becsült Cmax torzítása függ a mérési hibától.



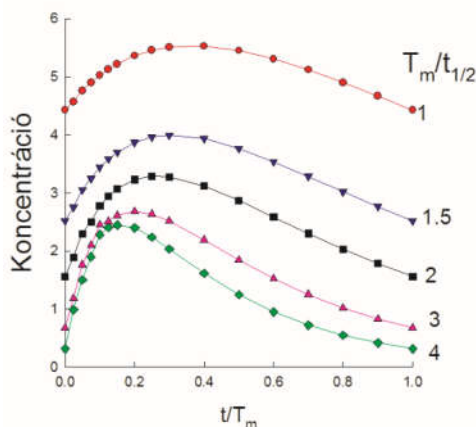
4.7 ábra. A paracetamol adatait használva háromféleképpen számoltam a Cmax-ot. Egyfelől a 4.10 egyenletet használva („Valószínűségi modell”), másfelől szimulációval („Szimulált”), illetve a 4.12 egyenletet használva. Az előbbi két módszer figyelembe veszi a mérési hibát is. A Torzítás% változó méri a relatív hibát az utóbbi, elméleti, zero mérési hibát feltételező megoldáshoz képest.

A **4.7 ábra** ismét bizonyította a szimulációkhoz használt program helyességét. De az elméleti modell viszont előnyös volt, mert egyfelől megmagyarázza az eddig nem egészen értett részleteket. Például azt is, hogy a mintavétel gyakorisága a T_{max}^0 körül növeli a Cmax értékét.



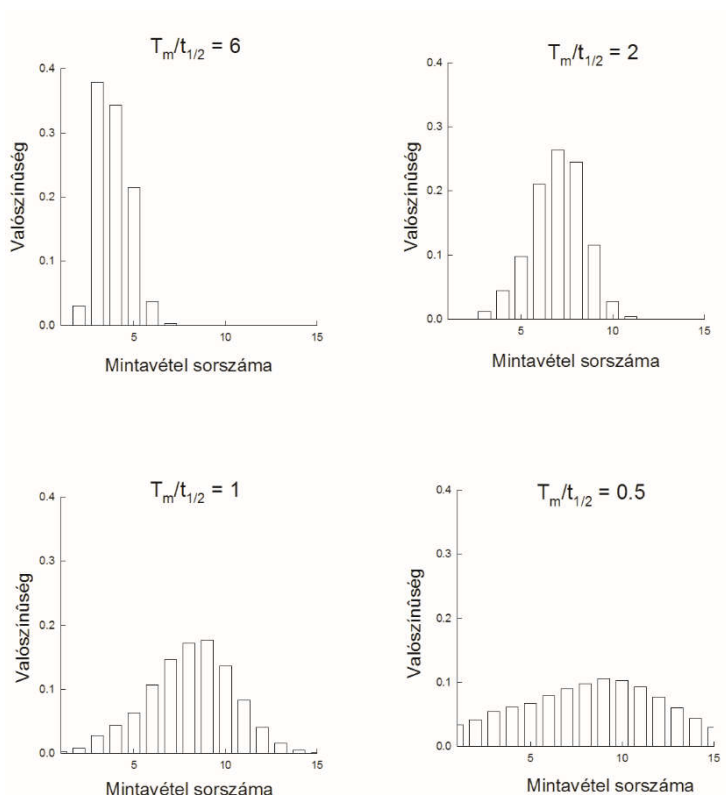
4.8 ábra. A mintavételi pontok száma növeli a becsült C_{max} várható eltérését C_{max}^0 -tól. Az eltérés kisebb, ha a mintaleoslás mediánját vagy a geometriai átlagot használom. A mérési hiba 10%.

Szemléletesen azt, hogy miért növekszik a C_{max} a mérési hibával, illetve a mintavételi elemszámmal legegyszerűbben úgy értjük meg, ha arra az egyszerűbb feladatra gondolunk, hogy egy konstans, de hibával terhelt jel esetén válasszuk ki a maximumot. A maximum várható értéke nyilván függ a zaj szórásától, és hogy hány mintát veszünk. Az is egyértelmű, hogy minél kevésbé jól definiált a farmakokinetikai görbe „csúcsjellege”, annál inkább dominánssá válik a maximum meghatározásban a véletlen faktor. A fenntartó jellegű adagolás esetén pontosan ez történik, ahogy ezt a következő két ábra illusztrálja.



4.9 ábra. Koncentrációgörbék két adagolás között fenntartó adagolás esetén. Az időskálát viszonyítottam az adagolási időintervallumhoz. Minél kisebb a T_m a kiürülés felezési idejéhez

képest, annál magasabb a koncentráció, és annál kisebb az eltérés a minimális és maximális koncentráció között.



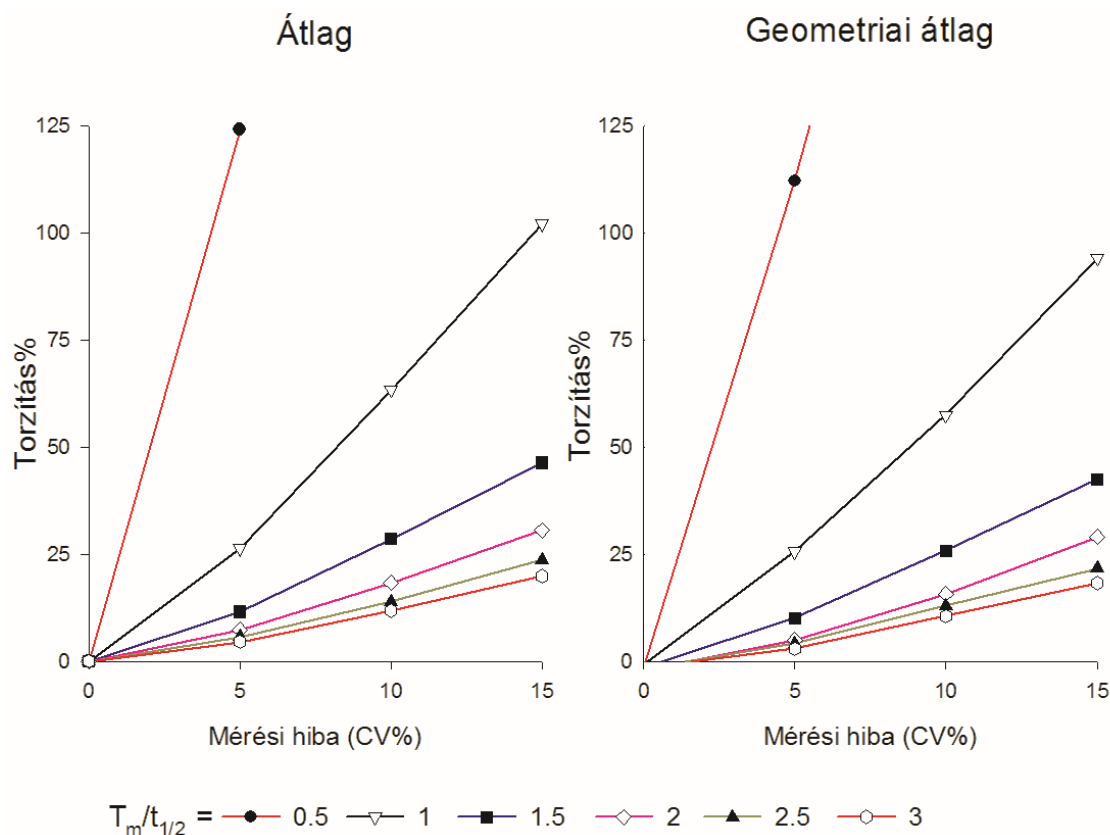
4.10 ábra. Tmax eloszlása fenntartó adagolás esetén

A **4.10 ábra** egy fontos jelenségre hívja fel a figyelmet. Ahogy az ábra mutatja, a Tmax mintaeloszlása alapvetően paraméterfüggő. Bioekvivalencia-vizsgálatokban a Tmax összehasonlítására egy, a Hodges–Lehmann becslőn alapuló nemparametrikus eljárást ajánlanak (26). A módszer azonban felteszi, hogy a T- és az R-készítmények Tmax-eloszlásai azonosak, kivéve egy eltolási („shift”) paramétert. Mint a **4.10 ábra** mutatja, ez a feltevés nem helyes. Fontos azt is meglátni, hogy a Tmax eloszlása az egyenletes eloszláshoz tart, és az egyenletes eloszlás jellemzője, hogy az információ tartalma minimális. Szemléletesen ez azt jelenti, hogy minél magasabb az akkumuláció, minél egyenletesebb az eloszlás, annál kevesebb információt kapunk a Tmax-ról. A Tmax jellemzi a felszívódási sebességet, következésképpen fenntartó adagolás esetén az akkumuláció növekedésével egyre kevesebb információhoz jutunk a felszívódás sebességével kapcsolatban.

A fenntartó adagolás bizonyos esetekben elkerülhetetlen, más esetekben érdekes alternatívának látszik bioekvivalencia-vizsgálatok kivitelezésére. Módosított felszívódású készítmények esetén pedig fenntartó adagolású vizsgálat végzése általában az előírás (19). A szokásos AUC- és Cmax-paraméterek mellett ajánlott a fluktuációt jellemző paraméterek, mint a PTF% (peak trough fluctuation) megadása, aminek a definíciója:

$$\text{PTF}\% = \frac{C_{\max} - C_{\min}}{C_{\text{av}}} \quad (4.14)$$

A 4.14 egyenletben a C_{av} az átlagkoncentrációt jelöli. A PTF% egy igen szemléletes paraméter, és megvan az az előnye is, hogy mivel normalizált a felszívódás mértékétől, csak a felszívódás sebességétől függő paraméter. De, mint ahogy a következő ábra mutatja, csak igen nagy torzítással becsülhető.



4.11 ábra. Fenntartó adagolás esetén a PTF% eltérése az elméleti, hibamentes értéktől függ, az akkumuláció mértékétől és a mérési hibától. A torzítás mértékét a kiterjesztett módszer segítségével számoltam.

Mint a **4.11 ábra** mutatja, a torzítás nem szüntethető meg, ha az átlag helyett geometriai átlagot használunk. Minél kisebb a $T_m/t_{1/2}$ arány, annál nagyobb a torzítás mértéke. Gyakori adagolási időköz, amikor $T_m/t_{1/2} = 1$. Ilyen eset az, amikor a gyógyszer felezési ideje 24, és napi egyszeri adagban kell szedni. Mint ahogy a **4.11 ábra** mutatja, ebben az esetben közel 60%-kal túlbecslem a PTF% mértékét, ami könnyen téves következtetések levonásához vezethet. Például egy új módosított felszívódású készítmény kifejlesztésekor meg kell indokolni, hogy miért előnyös ebben az adott esetben a lassúbb felszívódással jellemezhető gyógyszerforma. Tipikus indoklás az, amely a hagyományos készítménnyel mért PTF%-ra utal, és azzal érvel, hogy a gyógyszer szint fluktuációja túl magas. Ez igen racionális érvnek tűnik

például vérnyomáscsökkentő készítményeknél. De, mint a példa mutatja, erős esély van arra, hogy a prezentált adatok felfele torzított eredményeket tartalmaznak.

4.1.4 Új másodlagos bioekvivalencia-metrikák

Saját közlemények:(S12, S13)

Az AUC-t szokták elsődleges bioekvivalencia-metrikának hívni, míg a C_{max} példa egy másodlagos metrikára. Valójában felmerül az a kérdés, hogy szükség van-e a C_{max} mellett más metrikára egyáltalán. A nemzetközi szakirodalom, valamint a hatósági útmutatók nem egységesek ebben a kérdésben. A kérdés annak az általános kérdéskörnek a része, hogy tulajdonképpen mi is a célja a bioekvivalencia bizonyításának. Annak bemutatása, hogy két készítmény fiziológiás körülmények közti kioldódása lényegileg azonos vagy az, hogy a két bioekvivalens készítmény egyben terápiásan is ekvivalens. A bioekvivalencia-vizsgálat ebben az esetben egy terápiás ekvivalencia-vizsgálatot pótló vizsgálat. A két eltérő szempont, melyet szoktak „minőségi ellenőrző”, illetve „terápiás ekvivalencia” jelzőkkel is illetni, gyakran eltérő következtésekre vezet. Ezt a **4.1 tábla** illusztrálja.

Szempont	„Minőség ellenőrzés”	„Terápiás ekvivalencia”
C _{max} /AUC _{tr} mint metrika	Jó, mert pontosabb mérést tesz lehetővé, mert kisebb a szórása.	Nem jó, mert a C _{max} /AUC _{tr} mint paraméter nem értelmezhető klinikai szempontból.
Fenntartó adagolás	Nem jó, mert nem szenzitív.	Jó, mert ez felel meg a klinikai gyakorlatnak.
C _{max} mint metrika	Nem jó, mert nem szenzitív, és valójában a felszívódást méri.	Jó, mert a C _{max} direkt kapcsolatban van a gyógyszer biztonságával.
Aktív metabolit	Nem jó a bioekvivalencia mérésére, mert képződési sebessége csak indirekt úton függ a felszívódás sebességétől.	Jó, mert bizonyítja a terápiás ekvivalenciát.
Vizsgálati egyének	Egészséges, önkéntesek.	fiatal Beteg populáció vagy egészséges önkéntesekből álló populáció, de a demográfia megegyezik a célcsoportéval.

4.1 táblázat. Ellentétes szempontok a bioekvivalencia-vizsgálatok lényegi jellemzőinek megítélésében.

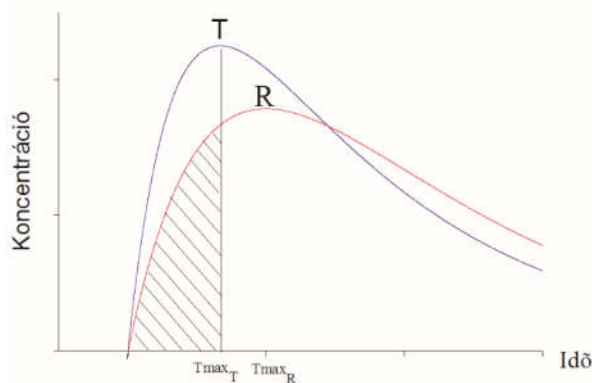
A táblázatban felvetett első három pontot az előzőekben részletesen vizsgáltuk, és ahogy azt közleményeinkben is hangsúlyoztuk, álláspontunk a „Minőséget” hangsúlyozó csoporthoz áll közelebb. De felmerül a kérdés, ha C_{max} nem elég szenzitív, akkor lehet-e egy érzékenyebb metrikát gyártani, és hogyan?

4.1.5 Az Intercept-metrika (I) és a Parciális AUC (pAUC) érzékenység vizsgálata

Saját közlemény: (S14, S15)

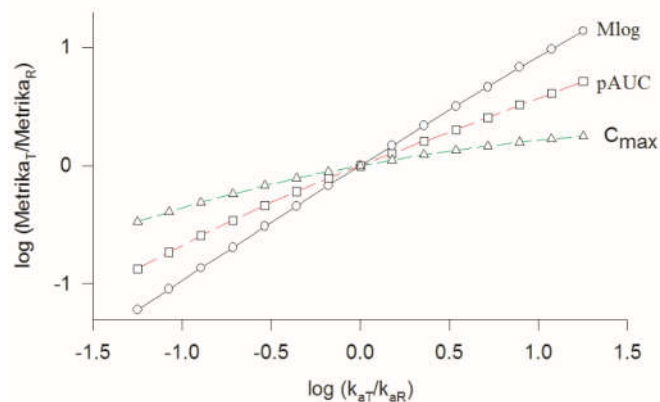
Az Intercept-metrikát Al-Shaikh és Endrenyi írta le először (44), majd Reppas és munkatársai (45) módosították. A módosított Intercept-módszer szerint (Mlog), a kezdeti felszálló szakaszban becslést adunk a felszívódási sebességre minden egyes koncentráció logaritmusát a megfigyelésének idejével elosztva. Az így kapott $\log C_T(i)/t(i)$ és $\log C_R(i)/t(i)$ értékekre lineáris regressziót illesztünk, és meghatározzuk a kezdeti sebességet a kezdeti 0 időpontra. A számítást elvégezve Reppas és munkatársai (45) megmutatták, hogy a lineáris regresszió metszete egyenlő a kezdeti sebességek arányával (k_{aT}/k_{aR}).

A parciális AUC (pAUC) koncepciója Chen cikkén alapul (46) és **4.12 ábra** ábrázolja.



4.12 ábra. A parciális AUC koncepciója, hogy a kezdeti görbe alatti területet méri a korábbi T_{max} -ig. Az ábrán a T-készítmények T_{max} -értéke van előbb. Ennek megfelelően pAUC a kék görbe alatti terület T_{max_T} -ig, a $pAUC_R$ szintén T_{max_T} -ig (sárgázott terület). A felszívódási különbséget a $pAUC_T/pAUC_R$ arány méri.

A következő ábra, a paracetamol adatokat használva illusztrálja, hogy mindkét új metrika lényegesen érzékenyebb a felszívódási sebesség változására, mint C_{max} .



4.13 ábra. A kezdeti felszívódási sebesség aránybecslése három különböző módszerrel. A Cmax-módszer érzéketlen, mert egységnyi változás a felszívódás arányban kis változást idéz elő a Cmax-arányban. Ezzel szemben a módosított Intercept-módszer (az ábrán Mlog-gal jelölve) érzékenysége közel áll az ideálishoz. A pAUC-arányokon alapuló módszer érzékenysége a Cmax- és az Intercept-módszer között helyezkedik el.

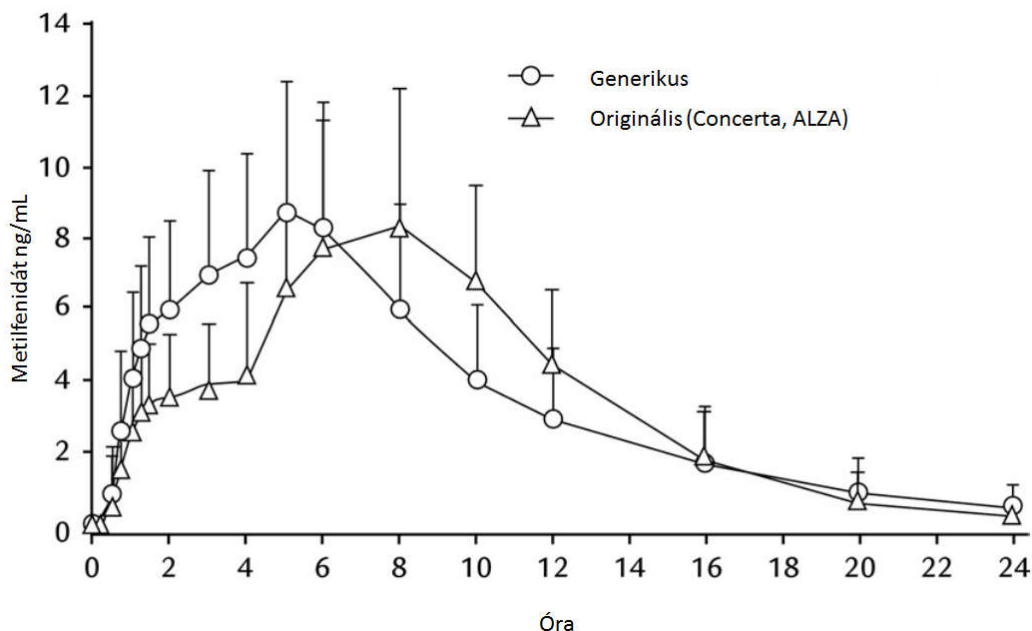
Az Intercept-módszer felhasználhatóságát, mint érzékeny grafikus módszert a felszívódási sebességi állandók arányának érzékeny becslésére számos, egymástól lényegileg különböző farmakokinetikai modellen bizonyítottuk. Így összehasonlítottuk a fenti három metrikát és variánsait kétkompartmentes modellen, zérórendű felszívódást feltételezve, késleltetett abszorpció esetén, valamint általánosított felszívódási modelleken, ahol a felszívódási sebességet két paraméter segítségével az inverz Gauss-görbe írja le. Az Intercept-módszer robusztusnak és érzékenynek bizonyult mindezen körülmények között, de bioekvivalencia-vizsgálatok kiértékelésére mégsem tudtuk ajánlani az ABE-módszer korlátjai miatt. A korlát abban áll, hogy azonos k_{aT}/k_{aR} arány esetén a Cmax-arány közelebb esik 1-hez, mint az Intercept-módszer esetén (**4.13 ábra**). Ezért a bioekvivalenciát adott esetben a Cmax-szal könnyebb bizonyítani, az érzékenyebb metrika készítményfüggetlen előre rögzített határ esetén.

4.1.6 Összetett felszívódású, módosított felszabadulású vegyületek bioekvivalenciája

Saját közlemény:(S16, S17, S18)

A pAUC-t mint metrikát, valamint variánsait szintén vizsgáltuk összetett, többszörös kioldódási technológiájú, módosított felszívódású készítmények adatait használva a fenti kinetikai modellkönyvtáron. Az ilyen készítmények kinetikájára többszörös csúcsok vagy hosszan tartó egyenes szakasz ('plateau') jellemző, és így a Cmax többszörös vagy nem jól definiált (lásd a 4.1.3 alfejezetet).

A következő ábra két módosított felszívódású metilfenidát-tabletta vérszintgörbáját mutatja.



4.14 ábra. Két módosított felszívódású metilfenidát-tabletta vérszintgörbéje Gonzalez és munkatársai nyomán (47).

A metilfenidát igen fontos gyógyszer figyelemhiányos, hiperaktív gyerekek (ADHD) gondozásában. Az originális állítás szerint, úgy optimalizált a gyógyszer szedése, hogy legyen először egy körülbelül 5-6 órás szakasz, amely alatt a gyerek az osztályteremben van. Majd legyen később egy második csúcs, amely a délutáni tanulási periódusnak felel meg. A koncentrácioprofil az originális esetén két elkülöníthető szakaszra bontható, két szakasz átlagkoncentrációjának aránya durván 1:2.

Standard bioekvivalencia-kritériumok alapján az AUC- és C_{max}-arány alapján a generikus megfelel az originálisnak. Az AUC konfidencia-intervalluma (T/R) 105.70%–114.83%, míg a C_{max} esetén ezek az értékek 103.36%–119.80%. Ugyanakkor a generikus esetén hiányzik a délutáni tanulást elősegítő csúcs. Kérdés, hogy hogyan válasszunk egy harmadik metrikát, ami kellőképpen diszkriminatív, hogy a hatáság csakis az originálishoz tényleg hasonló készítményt fogadjon el. Erre a pAUC-metrikát ajánlottuk, és megmutattuk, hogy pAUC-módszer akkor a legszenzitívebb, ha a pAUC intervalluma [0, min (T_{maxR} T_{maxT})]. Azaz a pAUC időintervallumának végpontja a korábbi T_{max} ideje, amely egyaránt lehet T_{maxR} vagy T_{maxT}. Abban az esetben azonban, ha C_{max} rosszul definiál, akkor a fix, előre rögzített időintervallum az előnyös, és a pAUC ekkor is diszkriminatív. Összességében a pAUC-t mint kiegészítő harmadlagos metrikát javasoltuk az AUC és C_{max} mellett módosított felszívódású készítmények esetén.

4.2 Keskeny terápiás indexű gyógyszerek bioekvivalenciája

Saját közlemény:(S19)

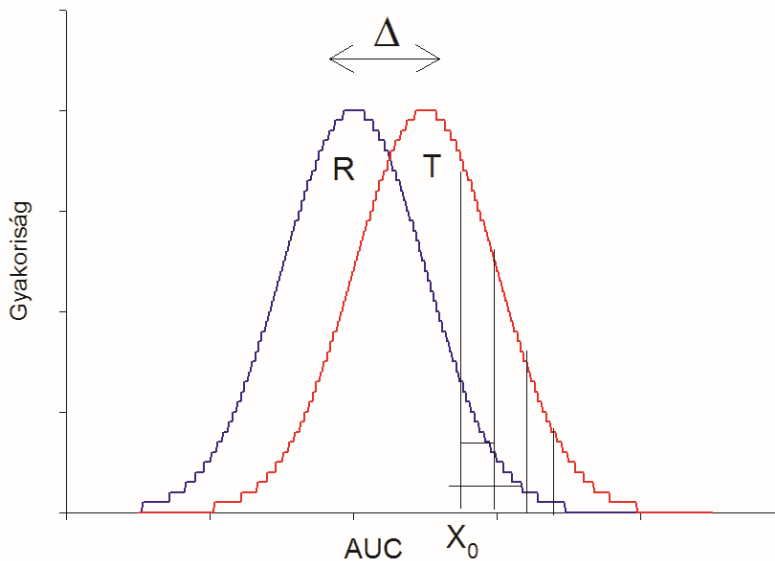
Az általános probléma a standard ABE-eljárással, hogy a megadott limitek nem veszik figyelembe se a plazmaszint-variabilitást, se ennek ellentétét, azt, hogy a készítmény csak akkor éri el a kívánt terápiás hatást, ha koncentrációja egy keskeny intervallumban ingadozik. Az ilyen gyógyszereket a magyar szakirodalom úgy jellemzi, hogy keskeny a terápiás ablakuk, az angol terminológia NTI (narrow therapeutic index) gyógyszerekről beszél. Felmerül a kérdés, hogy ilyen esetekben szükséges-e szűkíteni a 80%–125% intervallumot? Ebben a fejezetben ezt a kérdést vizsgálom.

4.2.1 Peremhatás és az öröklődési komponens becslése bioekvivalencia-vizsgálatokból

Saját cikk: (S20, S21, S22)

Amennyiben a betegek az R-gyógyszer helyett a T-gyógyszert kezdik el szedni, akkor ezt populációs szempontból úgy foghatjuk fel, hogy a populációban a koncentráció kismértékben balra vagy jobbra tolódik. Az alábbiakban adunk egy igen egyszerű modellt arra, hogy a kis eltérés az eloszlás szélén levő perempopulációt sokkal jobban befolyásolja, mint az egész populációt.

Tegyük fel egy egyszerű küszöb PK/PD modellt, ami azt mondja, hogy ha az AUC nagyobb, mint egy X_0 érték, akkor lesz mellékhatás, egyébként nem. A következő ábra illusztrálja az elképzelt szituációt.



4.15 ábra. Az AUC eloszlása a populációban. Azoknál az egyedeknél, akiknél az AUC nagyobb, mint X_0 , mellékhatás lép fel. A csírozott terület megfelel a populáció azon százalékának, ahol mellékhatás lépett fel. A T-készítmény az R-készítményhez képest jobban felszívódik, és így a populációt jobbra tolja el. Az ábrán a Δ -vel jelölt különbség az AUC-k átlagának a különbsége.

Azt, hogy kik azok az egyedek, akiknél az AUC az R-készítménnyel X_0 feletti értéken van, sok farmakokinetikai paraméter dönti el. De mivel a gyógyszer biztonságos, gyakoriságuk nem lehet túl nagy, ők alkotják a perempopulációt. A perempopulációban már kis eltolódás is nagy relatív változást indukál.

Δ	X_0		
	10%	5%	1%
0.1	1.18	1.22	1.29
0.25	1.51	1.63	1.89
0.5	2.17	2.52	3.39
1	3.89	5.19	9.24

4.2 táblázat. A mellékhatás relatív rizikójának változása a perempopulációban. A perempopuláció értéke az X_0 értékétől függően lehet 1,5 és 10%. Az R-ről a T-re való átállás Δ -val tolja el az AUC értékét. A Δ -t a skálafüggetlenség érdekében a populációs szórásban fejezem ki.

A **4.2 táblázat** mutatja, hogy aránylag kis változás is, például egynegyednyi szórás, már jelentősen meg tudja növelni a relatív rizikót, és a rizikó mértékének növekedése annál gyakoribb lesz, minél ritkább a rizikó. Azaz kis változás is tud klinikailag szignifikáns lenni, ha a

megfelelő célcsoportot vizsgálom. Ugyanakkor, mivel ritka eseményről van szó, egy átlagpopulációval végzett bioekvivalencia-vizsgálatban, ahol az önkéntesek száma tipikusan 16–40 között ingadozik, ez az eseményszám-növekedés nem lesz detektálható.

4.2.2 A karbamazepin akut mellékhatásainak PK/PD-modellje

Saját közlemény: (S23)

A bioekvivalencia alapkérdése, lehetséges-e, hogy standard ABE bioekvivalencia-kritériumok mellett olyan generikus készítményt törzskönyvezzenek, amelynek több a mellékhatása, mint az originálisnak. A kérdés vizsgálatához az alapstratégia az volt, hogy először egy adatokon alapuló PK/PD modellt építünk a hatás koncentráció függésének jellemzésére, majd a modellt felhasználva hipotetikus generikus készítményekkel vizsgáljuk a kérdést. Modellvegyületeként a karbamazepint (carbamazepin, CBZ) választottuk. A CBZ egy tipikus keskeny terápiás indexű (NTI) gyógyszer (48). Számos generikus alternatíva van a piacon, és Crawford és munkatársai (49) szerint a betegek 10%-a panaszkodott központi idegrendszerrel kapcsolatos mellékhatásokról, mikor egyik készítményről a másikra állították át őket. Neuvonen (50) megmutatta, hogy központi idegrendszeri (KIR) mellékhatások nem a felszívódás mértékével, hanem annak sebességével függenek össze. A generikus CBZ- készítményekkel kapcsolatos problémákra a gyógyszerfelügyeleti hatóságok is felfigyeltek. A holland hatóság egy négy periódusból álló keresztezett bioekvivalencia-vizsgálatban az originális és három generikus készítmény farmakokinetikáját hasonlította össze (51). A vizsgálat célja annak vizsgálata is volt, hogy van-e eltérés a négy készítmény között neurológiai mellékhatás szempontjából. Ezért a neurológiai mellékhatásokat minden órában gondosan rögzítették. A vizsgálat végén határozott, statisztikailag szignifikáns következtetést nem tudtak levonni a mellékhatásprofil tekintetében annak ellenére sem, hogy a négy készítmény kinetikájában jelentős eltérés volt. Elképzelésünk az volt, hogy amennyiben nem az adatanalízisen alapuló statisztikus, hanem modell alapú megközelítést használunk, akkor statisztikailag meggyőzőbb következtetést tudunk levonni. A cikk szerzője, Martin Olling rendelkezésünkre bocsátotta az összes klinikai megfigyelési adatot, ami lehetővé tette ezt a munkát. Az adatanalízisre felhasznált statisztikai metodika lényegileg eltér ezen értekezésben szereplő és a Módszerek fejezetben leírt általános szimulációs technikától. Ezért ezeket röviden ismertetem az eredmények összefoglalása előtt.

Populációs farmakokinetikai modell

A populációs farmakokinetikai modell a statisztikában mint nemlineáris kevert (NLME – Nonlinear Mixed Effect) modellezés ismert. Lényegében a lineáris kevert modellezés kiterjesztése nemlineáris rögzített („fixed”) komponensekkel (12,40). Esetünkben a populációs kinetikai modell a már másutt is használt egykompartmentes modell (2.3 egyenlet) volt. A kovariáns modellre feltettük, hogy a CI független a gyógyszer formulációjától, azaz attól, hogy melyik készítményt kapta az F1–F4-gyel jelölt készítmények közül. A random egyénhatások mátrixát diagonálisnak tételeztük fel.

A mellékhatások modelltől független analízise a GAM (Generalized Additive Modelling) technikai segítségével

A GAM egy nemparaméteres, modelltől független eljárás, amely szakaszosan folytonos polinomok, szplájnok segítségével modellez egy nem sima felületet egy többdimenziós térben (52). Lényegében ebben tér el a lineáris regressziótól, amely mindig síkot feszít ki. Esetünkben a mellékhatás kockázati hányadosának logaritmusát (logOR) modelleztük mint az idő (time) és a koncentráció (Conc) függvényét harmadfokú szplájnok, s_1 és s_2 segítségével:

$$\log(\text{OR}(\text{time})) = s_1(\text{Conc}(\text{time})) + s_2(\text{time}) \quad (4.15)$$

A mellékhatások analízise kevert logisztikus (mixed effect logistic) analízis segítségével

Hasonlóan a populációs kinetikai analízishez a kevert modell alkalmazását az indokolja, hogy a mellékhatás-eseményeket nem tekinthetjük függetlennek. Ezt a függőséget modelleztem három random paraméter (α , β , γ) bevezetésével:

$$\log\text{OR}(t) = (A+\alpha)*\log(\text{Conc}(t)) + (B+\beta)*t + (D+\gamma) \quad (4.16)$$

A 4.16 egyenlet a számításokhoz célszerű, a statisztikában kedvelt lineáris forma. A 4.16 egyenletet ekvivalens, nemlineáris formába átírva, az összes random paraméter zérónak véve olyan képletet kapunk, ami a farmakológusok számára könnyen interpretálható.

$$\text{Risk}(t) = \frac{\text{Conc}(t)^A}{\text{Conc}(t)^A + \text{EC}_{50}^A * e^{-Bt}} \quad (4.17)$$

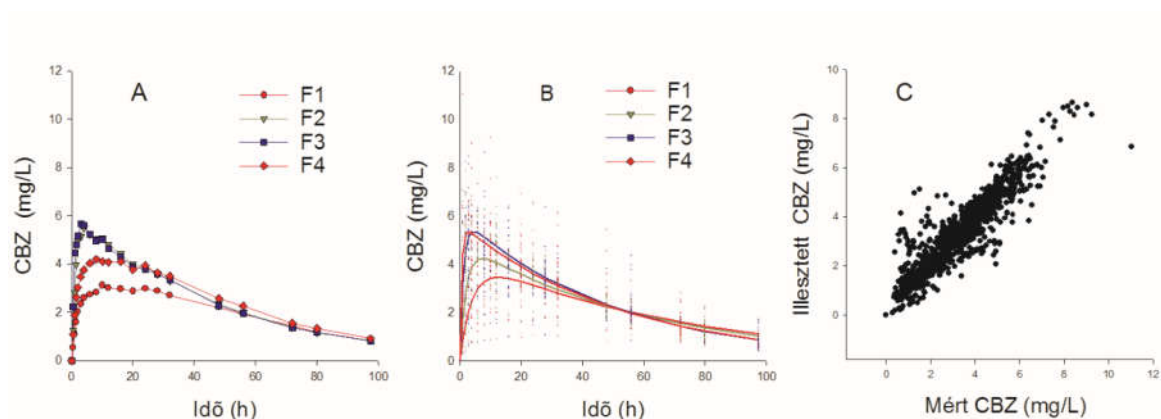
A 4.16 és 4.17 két formát összehasonlítva azt kapjuk, hogy $\text{EC}_{50} = e^{-D/A}$. A 4.17 egy szigmoid jellegű dózis-hatásgörbe, ami azt mondja, hogyan függ a mellékhatás valószínűsége – epidemiológiából ismert terminológiával: rizikója – a koncentrációtól. A 4.17 egyenlet egy meglehetősen általános forma a hatás koncentráció függésének jellemzésére, a farmakológia-tankönyvek az „A” együtthatóra, mint Hill-együtthatóra hivatkoznak. A 4.17 egyben azt is felteszi, hogy az érzékenység (EC_{50}) időben változik.

Farmakodinámiás metrika

A metodikai részhez hozzátartozik a PD-metrikai fogalma, amelyet Karalis és Macheras (53) vezetett be. A fogalom és a statisztikai megfontolások hasonlóak a PK-metrikáknál leírtakhoz a Háttér fejezetben kivéve, hogy most a koncentráció helyett valamilyen PD-paraméter szerepel. Esetünkben az $R_{\max}$, ami a maximális valószínűsége, hogy valamilyen mellékhatás lépjen fel.

Kinetikai analízis

A következő ábra mutatja, hogy a plazmakoncentrációkat az egykompartmentes modell megfelelően írja le, a becsült paramétereket az **4.3 táblázatban** tüntettük fel.



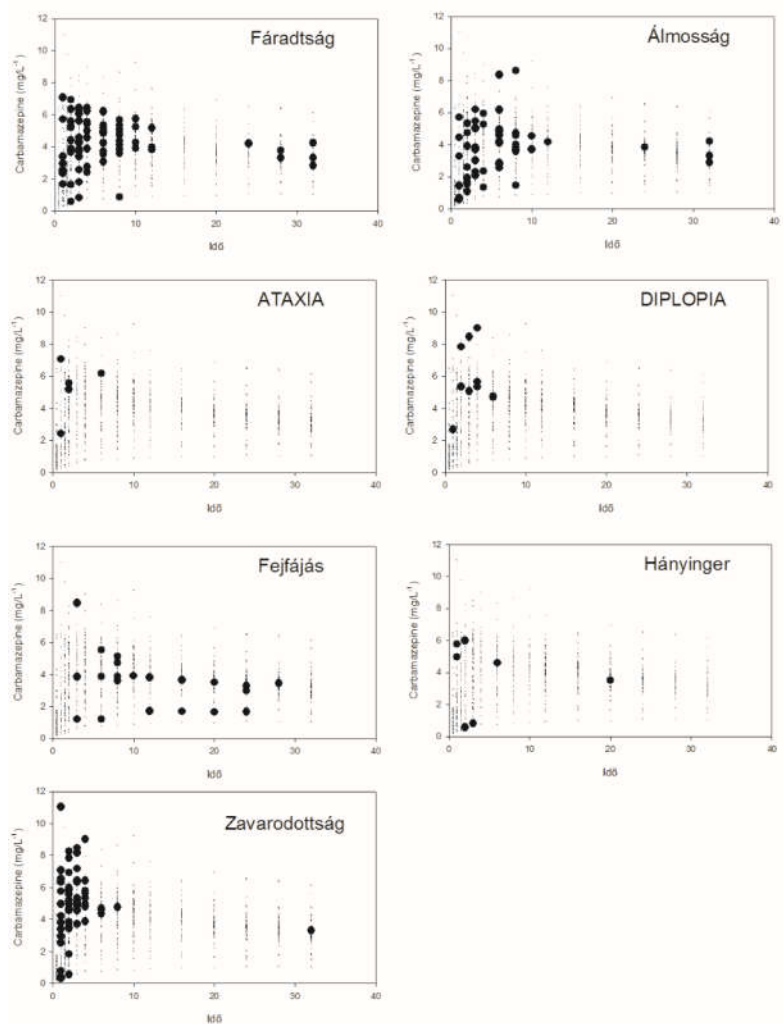
4.16 ábra. Egy bioekvivalencia-vizsgálatban négy, F1–F4 kóddal jelölt készítményt hasonlítottak össze. A megfigyelt koncentrációkra populációs farmakokinetikai módszerrel modellt illesztettünk. Az A és B ábrán a vonal mutatja az illesztett koncentrációkat. Az A ábrán a pontok az átlagkoncentrációkat, a B ábrán az egyes megfigyeléseket jelentik. Az illeszkedés jószágát mutatja, hogy a megfigyelt és egyénileg illesztett koncentrációk közötti összefüggés lineáris (C ábra).

Készítmény	Átlag	ka (h ⁻¹)		Átlag	Vd/F (L)		Cl/F (L.h ⁻¹)		
		LL95	UL95		LL95	UL95	Átlag	LL95	UL95
F1	0.24	0.153	0.327	96.4	87.8	105.7	1.35	1.23	1.47
F2	0.825	0.703	0.947	68.1	60.7	75.4			
F3	1.59	1.32	1.86	70.8	63.4	78.2			
F4	0.472	0.392	0.552	83.5	75.1	92			

4.3 táblázat. Az illesztett populációs farmakokinetikai modell szerint jelentős eltérések vannak mind a felszívódás sebességében, mint annak mértékében a négy készítmény között. Az eltérés különösen jelentős a sebesség (ka) vonatkozásában. LL95, UL95 – alsó és felső konfidenciaintervallum-határok.

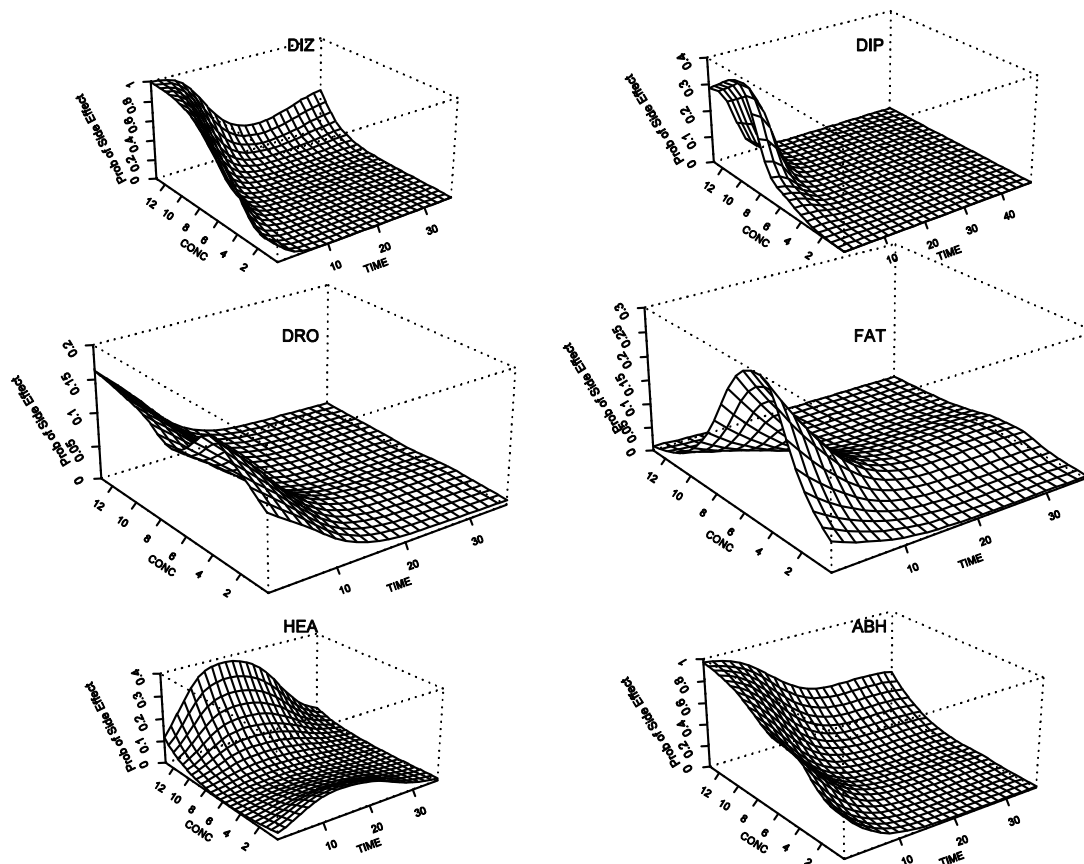
Farmakodinámiás (PD) analízis

A felfedező statisztikai analízis első lépése mindig az adatok szemléletes ábrázolása. Ezen célból ábrázoltam a kinetikai adatokat, de ha az adott kinetikai adathoz valamelyik jelzett mellékhatás tartozott, akkor pont helyett kis fekete telített kör szerepel.



4.17 ábra. A mellékhatások idő- és koncentrációfüggése. Mindegyik alábrán a koncentrációk (pontok) azonosak. A fekete telített kör azt jelöli, hogy az adott megfigyelési időpontban, az adott koncentrációban az ábrán jelzett mellékhatást detektáltak.

Az 4.17 ábrán megfigyelhető, hogy a neurológiai mellékhatások főleg a vizsgálat elején jelentkeznek, és gyakoribbak magasabb koncentrációknál. A mellékhatás és a koncentráció időfüggésének ezen aspektusát ragadja meg a GAM-analízis.

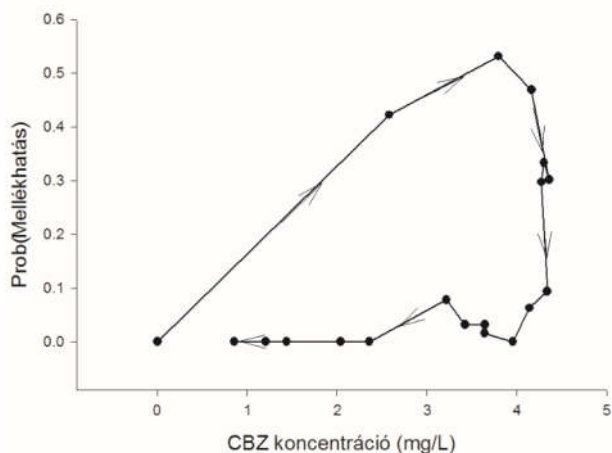


4.18 ábra. A mellékhatás valószínűségének idő- és koncentrációfüggése GAM-analízissel. Ha az időtengely mentén haladunk, akkor azt látjuk, hogy egy adott koncentráció mellett hogyan csökken a mellékhatás kialakulásának veszélye. Ha a koncentrációtengely mellett haladunk, látjuk, hogyan nő a mellékhatás valószínűsége egy adott időpontban. Jelölések: DIZ = zavarodottság, DIP = diplopia, DRO = álmoság, FAT = fáradtság, HEA = fejfájás. A fejfájás időlefutása jelentősen eltér a többi mellékhatástól. Az ABH-val jelölt (All But Headache) ábra azt mutatja, hogy mi annak a valószínűsége, hogy bármely mellékhatást, kivéve a fejfájást, megfigyeljük az idő és a koncentráció függvényében.

Az **4.18 ábra** mutatja, hogy a mellékhatások koncentráció- és időfüggése – a fejfájás kivételével – legalábbis hasonló. Ezért őket a statisztikai erő és megbízhatóság érdekében összevontam, mert így az eseményszám növelésével a statisztika megbízhatóbb. Az összevonásban az is szerepet játszott, hogy egyes, a vizsgálatban szereplő klinikai

paraméterek erősen korreláltak vagy nehezen elkülöníthetők voltak (például fáradtság-álmoság). Ezért a továbbiakban a mellékhatás azt jelenti, hogy a fejfájás kivételével legalább egy a fent felsorolt mellékhatások közül észlelhető volt.

A 4.17 és 4.18 ábrák azt is sugallják, hogy a hatás (esetünkben a mellékhatás valószínűsége) nemcsak a koncentrációtól, hanem az időtől is függ, azaz a farmakológiában is szokásos terminológiával élve hiszterézise van. Ezt igazolja a következő ábra.

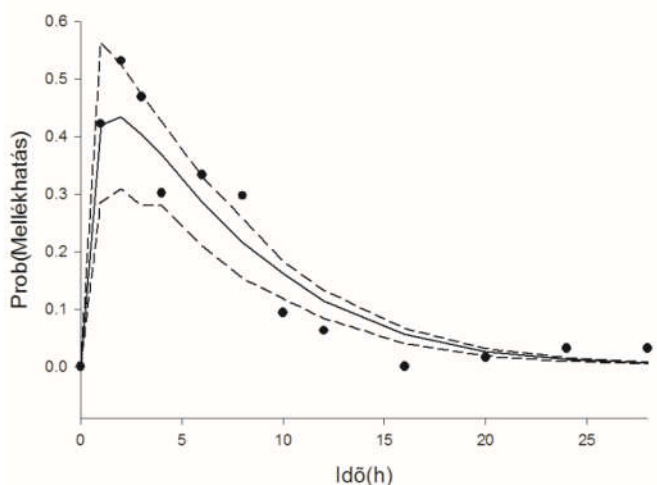


4.19 ábra. A mellékhatás valószínűségének függése a CBZ-koncentrációtól. A nyíl az ábrán mutatja az időfüggést. Eleinte a CBZ-koncentráció felszálló szakaszában az érzékenység nagy, míg lemenő koncentrációszakaszban alacsony. Az óramutató járásával megegyező irányú hiszterézisgörbe a tolerancia jele.

Összefoglalva a grafikus elemzés eredményeit, az adatok arra utaltak, hogy a standard Emax-modellel leírható koncentráció-hatás összefüggést kombinálni kell a paraméterek időbeli változását leíró toleranciakomponenssel. Ezt az elképzelést tükrözi a 4.17 egyenlet. A kevert logisztikus modell paramétereit, valamint a modell által megjósolt valószínűségeket a **4.4 táblázat** és a 4.20 ábra adja.

Paraméter	Becslés	LL95	UL95
A	1	0.33	1.67
B	-0.29	-0.39	-0.2
D	-0.83	-1.08	0.15

4.4 táblázat. A mellékhatás kialakulásának valószínűségére a kevert logisztikus modellt illesztettünk (4.16 egyenlet). A táblázat a modellben szereplő A, B és D paramétereket, valamint az ezen alapuló, a paraméterek alsó és felső 95 konfidencia-intervallumát (LL95 és UL95) tartalmazza.

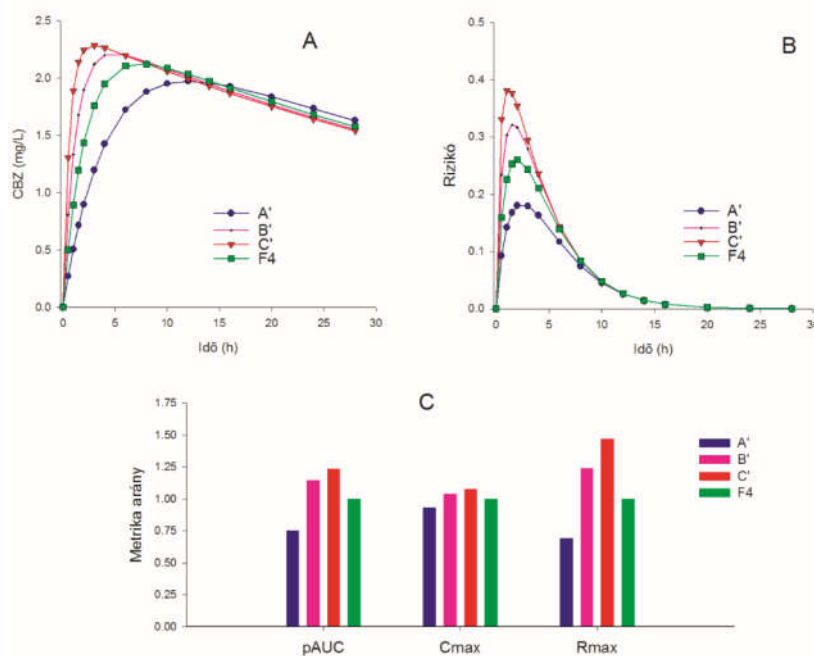


4.20 ábra. A megfigyelt (fekete pont), illetve illesztett (egyeses vonal) mellékhatás valószínűsége az idő függvényében. A szaggatott vonalak az illesztett görbének 95%-os konfidencia-intervallumai.

A **4.20 ábra** mutatja, hogy a kevert logisztikus modell megfelelően illeszti a modellt az adatokhoz. A modell építése során lépésenként (stepwise) ellenőriztük, hogy az egyszerűbb modell elégségesen leírja az adatokat. Hasonlóan a nemparametrikus GAM-eljáráshoz, mind az idő, mind a koncentráció magasan szignifikáns paraméter volt. A parametrikus modell előnye a nemparametrikus eljárásához képest, hogy a kapott paraméterek fontos, és némi átszámolás után könnyen értelmezhető információt hordoznak. A **4.4 táblázatban** a B értéke -0.29. Ebből átszámolva felezési időre azt kapjuk, hogy a tolerancia kialakulásnak felezési ideje 2.33 óra. A D és A paraméterekből megkiszámolhatjuk a kezdeti EC50 értéket, ami 2.29 mg/L-nek adódik. Ez a nulla kezdeti időpontra vett érték, de a tolerancia miatt nő, például 7.74 mg/L 4 óra után és 24.7 mg/L 8 óra után.

A CBZ-re kifejlesztett validált PK/PD modell lehetővé teszi, hogy „mi van, ha” jellegű kérdéseket vizsgáljunk, és választ adjunk az eredeti kérdésre: Lehetséges, hogy a standard 0.80–1.25 kritériumok mellett olyan készítmény kerül a piacra, amelynek több a mellékhatása? Vizsgáljunk például három hipotetikus generikust, amelyek felszívódási állandói megegyeznek a **4.3 táblában** adott F1, F2, és F3 készítmények sebességi állandóival, de minden más paraméterben megegyeznek az F4 készítményével. Az F4-nek azért adunk kitüntetett szerepet, mert valójában is ez volt a nemzetközileg elfogadott originális. Jelöljük ezt a három hipotetikus generikus készítményt A', B', C'-vel megtartva az originális F4 jelölését!

Az **4.21 ábra** bal felső ábrája mutatja, hogy a kezdeti időintervallumban van ugyan eltérés a koncentrációprofilokban, de az eltérés meglehetősen mérsékelt. A kifejlesztett PK/PD modell azonban lehetővé teszi számunkra azt is, hogy megjósoljuk a mellékhatások valószínűségének időbeli lefolyását a négy készítménnyel. Ezt mutatja az **4.21 ábra** jobb felső ábrája. Mint látható, az eltérés sokkal kifejezettebb.

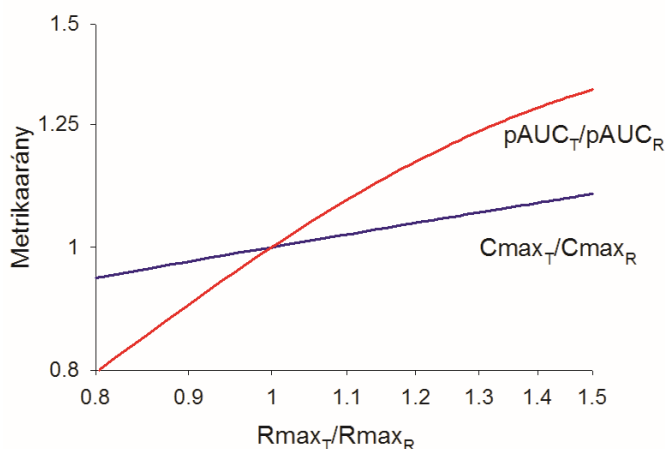


4.21 ábra. A – Három hipotetikus generikus, A', B' és C', valamint a referencia F4 kezdeti vérszintgörbéje. B – A neurológiai mellékhatások várható valószínűsége a négy készítmény bevétele után. C – A farmakokinetikai (Cmax és AUC), valamint a farmakodinámiás (Rmax) metrikák aránya az F4 készítményre vonatkoztatva.

A szubjektív benyomásokat számszerűsíthetjük is a metrikák segítségével. A törzskönyvezés alapja a Cmax. Mint az **4.21 ábra** alsó diagramja mutatja, elvileg mind a három A', B', C' generikus törzskönyvezhető lesz, mert a Cmax-arány mind a három esetben nagyobb, mint

0.80, és kisebb, mint 1.25. Ugyanakkor, ha a mellékhatás maximális rizikóját nézzük ($R_{\max}$, megfelel a B ábrán a csúcshoz), akkor a készítmények közötti különbség lényegesen kifejezettebb. A B' és C' készítményeknél a rizikónövekedés 23.6% és 46.8% a referenciához képest. Ugyanakkor az A' generikus esetén, amelynek leglassabb a felszívódása, az $R_{\max}$ -értéke 30.8% kisebb, mint az originálisé. Ebből következik az is, hogy a neurológiai mellékhatás esélye közelítőleg kétszer nagyobb a C' generikussal az A' generikushoz képest.

A 4.21 ábra megint igazolja ezen értekezés bioekvivalencia-metrikákkal foglalkozó fejezetének fő kulcsproblémáját, miszerint a $C_{\max}$ mint metrika érzékenysége alacsony. Ezért a 4.21 ábrán a pAUC-arányokat is feltüntettem. Mint látható, az eltérés a generikus készítmények között a pAUC tekintetében nagyobb, de – némileg paradox módon – elvileg csak a legjobbnak tekinthető A' készítmény lenne az, amelyik a pAUC-metrika használata esetén nem lenne törzskönyvezhető. Mind a B', mind a C' készítmény esetén a pAUC-arány benne van a 0.80–1.25 intervallumban, tehát elvileg ezek törzskönyvezhetők. A szenzitivitási problémát illusztrálja a következő ábra, amikor pAUC- és $C_{\max}$ -arányokat tüntettem fel az $R_{\max}$ arányában a PK/PD modell paramétereit használva.



4.22 ábra. Összefüggés a farmakodinámiás és farmakokinetikai metrikák között

A 4.22 ábra. segítségével könnyen leolvasható, hogy 25%-os relatív rizikónövekedés csak 5%-os növekedést okoz a $C_{\max}$ -ban és 13%-ot a pAUC-ban. Ez igazolja a metrika fejezetben leírt erőfeszítéseinket, amely érzékenyebb metrika megtalálására irányult.

4.2.3 Karbamazepintabletták bioekvivalenciája szimulált betegcsoportban

Saját közlemény: (S24)

A bioekvivalencia-vizsgálatokat, ha súlyos toxicitási aggodalom nem merül fel, akkor általában a fiatal, egészséges önkénteseken végzik. Az Európai Bioekvivalencia-útmutató (18) szerint ez a legérzékenyebb módja, hogy a gyógyszerkészítmények közti különbséget detektálni lehessen. Ugyanakkor az előzőekben kifejtettük a perempopuláció elméletét, miszerint kinetikai vagy farmakodinámiás tényezők predesztinálják a populáció egy részcsoportját a

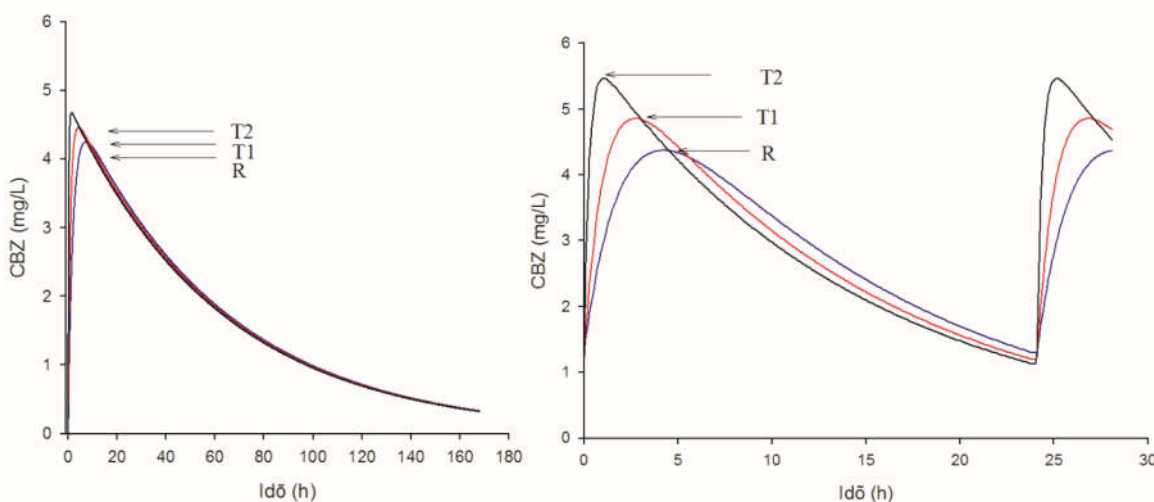
fokozottabb rizikóra. A perempopuláció tagjaira az volt a jellemző, hogy valamilyen paraméter szempontjából az értékeik nem tipikusak, eltérnek az átlagtól. E koncepcióból kiindulva, hogyan változna bioekvivalencia-vizsgálat eredménye, ha nem a normál átlagot képviselő egészséges önkéntesekben, hanem a CBZ-t szedő betegekben végeznék a vizsgálatot. Ebben a betegcsoportban a CI értéke lényegesen más lesz, mert a CBZ erős induktora a metabolikus enzimeknek. Az enzimindukció mértéke dóziszfüggő, és Kudrikaova és munkatársai szerint (54) napi 1200 mg CBZ-dózis mellett a CI értéke 4.33-szorosára nő. Használva ezt az értéket a következő forgatókönyvet szimuláltuk.

Adott az originális R-készítmény, valamint két generikus, T1 és T2, amelyek nem térnek el semmi másban az R-készítménytől csak abban, hogy felszívódási sebességük valamivel gyorsabb. Ez a gyorsabb sebesség abban tükröződik, hogy a megfelelő C_{maxT}/C_{maxR} GMR-arány 1.05, illetve 1.1. A CBZ-vel végzett bioekvivalencia-vizsgálatok adatai elérhetőek (13,14,15). Ezekből számunkra a legfontosabb két adat, hogy a vizsgálatban 26 önkéntes vett részt, és a C_{max} egyéni belüli szórása ($CV_W\%$) 11.6% volt. Ezen adatokkal könnyen kiszámolható, hogy a két T1 és T2 készítmény könnyen teljesíti a kritériumokat. A megfelelő konfidencia-intervallumok $GMR = 1.05$, illetve 1.1 feltéve: (100.9–109.1%) és (105.8–114.3%). Ez igen meggyőző eredménynek tűnik, a felső határ igen messze van a 125%-os limittől.

Mi történne, ha ugyanezt a vizsgálatot olyan betegekben végeznék el, akikben a metabolizmus indukálódott? Használva a **4.3 tábla** paramétereit kiszámolhatjuk, hogyan változik a kezdeti C_{max} -arány, ha CI értéke közel ötszörösére nő. A C_{max} -arányok lényegesen nagyobbak lesznek: 113.2% és 128.9%. A T2 készítmény egyértelműen nem lesz bioekvivalens, de T1 még bele fog férni a határba.

Hasonlóképpen, mi történne, ha nem egyszeres, hanem fenntartó adagolású bioekvivalencia-vizsgálatot végeznénk a gyógyszert szedő, indukálódott metabolikus enzimekkel rendelkező populáción?

Az egyszeres adagolású, egészséges önkénteseken végzett és a fenntartó adagolású, enzimindukált betegekben végzett bioekvivalencia-vizsgálat várható koncentrációgörbéit a **4.23 ábra** mutatja.



4.23 ábra. Az ábra bal oldalán a standard bioekvivalencia-vizsgálati körülmények (egyszeri adagolás, egészséges önkéntes) vannak feltéve, míg a jobb oldali ábra feltevései (többszörös adagolás, enzimindukált beteg) lényegében megfelelnek a terápiás helyzetnek. Bal oldalon az eredeti feltevésnek megfelelően a T1/R és T2/R Cmax-arányok: 105% (100.9%–109.1%) és 110% (105.8%–114.3%). A zárójelben a hipotetikus bioekvivalencia-vizsgálat konfidencia-intervallumait adom meg. Ugyanezen értékek jobb oldalon: 110.1% (108.6–113.4%) és 124.9% (122.2%–127.6%).

Az **4.23 ábra** illusztrálja, hogy elvileg lehetséges, hogy az egészséges önkénteseken meggyőzően bioekvivalensnek bizonyult termék ne legyen az a célpopulációban, amennyiben a célpopuláció farmakokinetikai paraméterei lényegesen eltérnek az egészséges átlagpopuláció paraméteritől.

4.3 Individuális bioekvivalencia

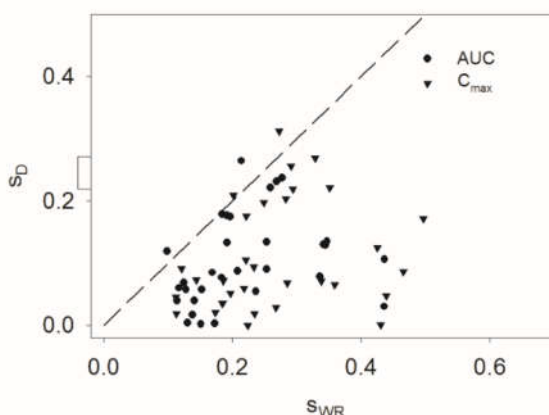
4.3.1 Az egyén x formuláció variancia komponens becslése torzított

Saját közlemények: (S2, S25)

Az 1999-es FDA-útmutató a 2.5.3 fejezetben leírt, alapvetően Anderson és Hauck koncepcióján figyelembe vevő IBE-modellen alapult (8,29). Az IBE-modell szerint egy adott egyénben a várható eltérés három tényezőtől függ: az átlagparaméterek közti eltéréstől ($\mu_T - \mu_R$), az egyénen belüli varianciák különbözőségétől ($\sigma^2_{WT} - \sigma^2_{WR}$), valamint egy σ^2_D -tól, ami az egyén x formuláció (SxF, subject x formulation) interakciót méri. Az 1998 márciusában tartott AAPS/FDA munkaértekezleten az FDA képviselői – legalábbis számunkra – meglepő adatokat prezentáltak. Eszerint az FDA-hoz beadott 3 és 4 periódusos bioekvivalencia-vizsgálatokat analizálva a σ^2_D komponens nemcsak hogy detektálható, hanem bizonyos

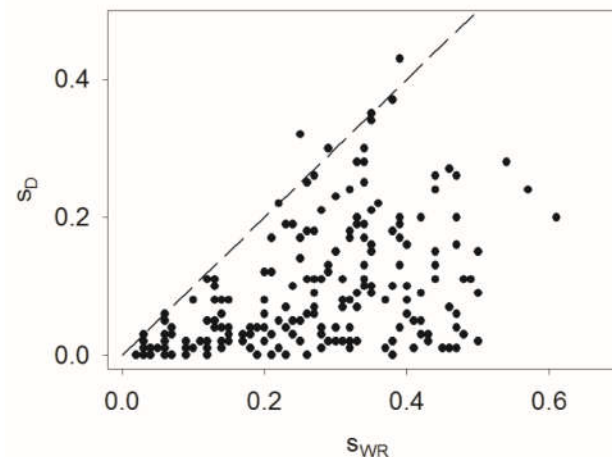
esetekben kimondottan nagymértékű. Ez az állítás két szempontból is fontos. Először is a gyógyszerészeti implikáció szempontjából. Eszerint, ha a σ^2_D tényleg valós jelenséget tükröz, akkor ez azt jelenti, hogy a technológiai paraméterek, mint a tablettázásban használt segédanyagok, nem várt módon lépnek erős kölcsönhatásba a szervezetben. A σ^2_D lehetséges mechanikus magyarázata lehet például egy gyógyszerpumpa x excipients interakció. De σ^2_D direkt gyakorlati jelentőséggel is bír, mivel ez a paraméter csak ismételt adagolású három- (TRT-RTR) vagy négyperiódusú (TRTR-RTTR) vizsgálatból becsülhető. Ennek megfelelően az FDA kötelezően 3 vagy 4 periodusú bioekvivalencia-vizsgálatot írt volna elő, ami igen nagy megterhelést jelentett volna az iparnak. Továbbá az FDA úgy ítélte meg, hogyha $\sigma_D > 0.15$, akkor ez komoly egészségügyi veszélyt, praktikusán a törzskönyvezés megtagadását jelenti.

Az FDA elérhetővé tette ezeket az adatokat. Az adatokat többféleképpen analizáltuk grafikusan, és eközben megfigyeltük, hogy úgy tűnik, mintha valami összefüggés lenne a becsült s_D és s_{WR} komponensek között.



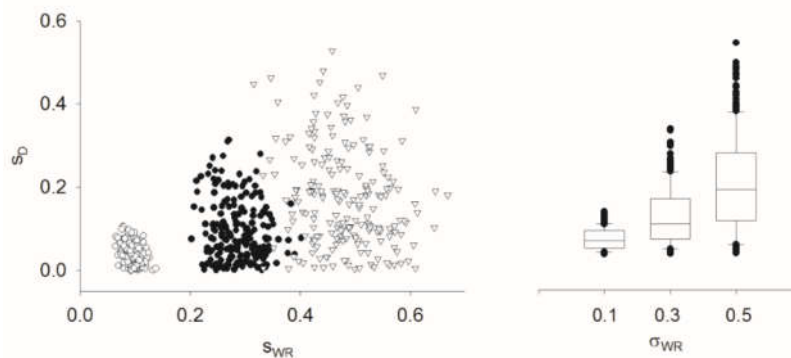
4.24 ábra. Az FDA-hoz benyújtott három- és négyperiódusú bioekvivalencia-vizsgálatok analízise. Az ábra pozitív összefüggést sugall s_D és s_{WR} között, holott elméletben σ^2_D és az σ^2_{WR} független varianciakomponensek.

A megfigyelt, látszólagos pozitív összefüggés arra utalt, hogy esetleg valami idáig fel nem ismert statisztikai összefüggés van a paraméterek között. Hogy ezt az összefüggést megtaláljam, 200 random 4 periódusú TRTR-RTTR vizsgálatot szimuláltunk. A szimulációkban a σ_D értéket 0-nak vettük, míg a σ_{WR} -t egyenletes eloszlású változónak a 0.02–0.5 intervallumban. A szimulált vizsgálatokat az FDA által javasolt módon, kevert lineáris modellel értékeltem ki. A kapott s_D és s_{WR} becsléseket az előző módon ábrázoltam.



4.25 ábra. Összefüggés a becsült s_D és s_{WR} között szimulált négyperiódusú bioekvivalencia-vizsgálatokban. A szimulációban a σ_D nulla volt.

A 4.24 és 4.25 ábra közötti hasonlóság elég meggyőzőnek látszik, ami utalhat arra, hogy valójában az FDA-adatok kompatibilisek a $\sigma_D = 0$ hipotézissel. A kérdés az volt, hogy akkor miért van az, hogy a publikált FDA-kód bármely nem nulla σ_{WR} esetén torzított becslést ad σ_D -re, és a torzítás mértéke nő a σ_{WR} értékével. Ezt világosan mutatja következő ábra, ahol a fent leírt szimulációt megismételtem, de most a σ_{WR} értéke rögzített volt.



4.26. ábra. Összefüggés a becsült s_D és s_{WR} között szimulált négyperiódusú bioekvivalencia-vizsgálatokban. A szimulációban a σ_{WR} értékét 0.1, 0.3 és 0.5-nek vettük. A bal oldali ábrán a szimulált adatok, a jobb oldalon ugyanazon adatok dobozábrája (box-plot).

Természetesen az, hogy a szimulációs eredmények – $\sigma_D = 0$ – hasonlítanak a megfigyelt adatokra, de ez még nem bizonyíték arra, hogy a σ_D valóban 0, tehát további magyarázat kell. Ezért első lépésben megmutattuk, hogy a pozitív torzítás nem szoftverhiba, hanem az FDA

által használt és publikált SAS-programban egy, a kódban nem szereplő „default” beállításának a következménye. A SAS Proc Mixed sajátossága, hogy alaphelyzetben a REML (restricted maximum likelihood) varianciakomponens értékének csak pozitív számot enged meg. Abban az esetben, ha ezt a korlátozást kivettük, akkor ugyan statisztikailag nehezen értelmezhető negatív becsléseket is kaptunk, de a torzítás megszűnt, és a becsült SxF interakció értéke a σ_{WR} értékétől függetlenül 0-hoz közeli szám volt.

Hasonló eredményre jutottunk, ha a REML-módszer helyett a σ_D -t az ANOVA-tábla négyzetösszegeiből (SS, sum of squares) becsültük. Legyen az önkéntesek száma n , és jelölje SS_W az egyénen belüli (within-subject) négyzetösszeget és SS_{SxF} az SxF interakciónak megfelelő négyzetösszeget. Akkor egy TRTR-RTTR elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatban:

$$s_W^2 = \frac{SS_W}{2n} \quad (4.18)$$

$$s_{Fxs}^2 = \frac{SS_{Fxs}}{n-1} \quad (4.19)$$

$$s_D^2 = s_{Fxs}^2 - s_W^2 \quad (4.20)$$

Figyelembe véve, hogy $\text{var}(s^2) = 2 \cdot (n-1) \cdot s^4 / n^2$ összefüggés adódik (55)

$$\text{var}(s_D^2) = 2 \cdot (n-1) \cdot \left(\left[\frac{s_W^2 + s_D^2}{n} \right]^2 + \left[\frac{s_W^2}{n} \right]^2 \right) \quad (4.21)$$

A 4.21 egyenletből, képletből az következik, hogy s_D^2 varianciája s_W negyedik hatványával növekvő érték, és akkor sem lesz 0, ha $s_D^2 = 0$. Ez jól megmagyarázza a 4.26 ábra eredményeit.

4.3.2 A farmakokinetikai változékonyság örökölhető komponensének meghatározása

Saját közlemény: (S20)

A bioekvivalencia-vizsgálatok populációs jellegű modellje, azaz, amikor a hangsúly a varianciakomponensek becslésére tevődik, további érdekes következtetéseket engedett levonni. Mint az előző részekben már kifejtettük, a teljes populációs varianciának két komponense van: az egyének közötti és egyénen belüli variancia.

$$\sigma_{\text{total}}^2 = \sigma_B^2 + \sigma_W^2 \quad (4.22)$$

Ozdemir és munkatársai vezették be az r_{GC} -nek nevezett faktort (56):

$$r_{GC}^2 = \frac{\sigma_B^2}{\sigma_{\text{total}}^2} \quad (4.23)$$

Az r_{GC} rokon a genetikából ismert öröklődési faktorról (heritability coefficient, H^2), és megengedi, hogy ismételt adagolású vizsgálatokból mérjük az öröklődési faktor mértékét, azaz azt, hogy milyen mértékben öröklődik egy tulajdonság. Így például megbecsülhetjük elvileg, hogy milyen mértékben öröklődik az AUC, azaz az a tulajdonság, hogy egy adott

dózisra valakinek magas vagy alacsony lesz az AUC-ja. Ezt azt jelenti, kapcsolódva az előző paragrafus kérdésköréhez, hogy megbecsülhetjük annak a tulajdonságnak az öröklődési mértékét, hogy valaki a perempopulációhoz tartozik vagy nem.

Az Ozdemir és munkatársai (56) által felvetett lehetőség, miszerint az r_{GC} becsülhető keresztezett vizsgálatokból, farmakokinetikai paraméterek esetén bioekvivalencia-vizsgálatokból, egy elméleti lehetőség. Kérdés volt azonban, hogy a bioekvivalencia-vizsgálatok aránylag kis elemszáma megengedi-e majd statisztikailag szignifikáns következtetés levonását: mi az r_{GC}^2 mintaeloszlása, és mik az elemszám-követelmények? Visszavezetve az egymintás ANOVA esetére adódott, hogy az r_{GC}^2 mintaeloszlása az 4.24 egyenletben megadott formába írható.

$$F_{r_{GC}^2} \sim \frac{s_{Total}^2}{s_W^2} * 1/F_{n-1, n*(k-1)} \quad (4.24)$$

A 4.24 egyenletben az $F_{n-1, n*(k-1)}$ a standard F-eloszlás, a k a periódusok (ismétlések) száma és n a vizsgálatba bevont önkéntesek száma. A fenti formula alapján táblázatban adtunk segítséget az elemszám becsléséhez. A publikált táblázat használatát a 4.5 táblázat illusztrálja.

L95%	H0		
	0.9	0.8	0.7
0.8	33	—	—
0.7	14	95	—
0.6	9	33	187
0.5	7	19	60

4.5 táblázat. Elemszám-követelmények r_{GC}^2 meghatározáshoz TR-RT elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatból.

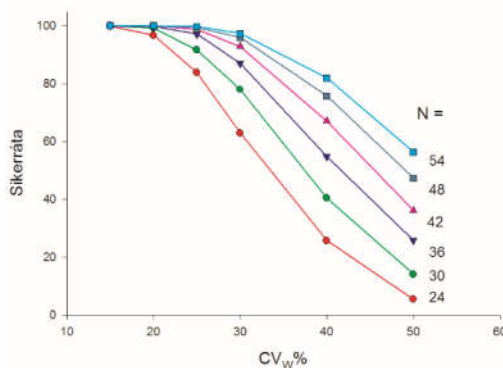
A 4.5 táblázatban a H_0 oszlopok tartalmazzák a kiindulási hipotézist, az LL90% sorok az elérni kívánt alsó 90%-os konfidencia-intervallumot. Például, ha az a H_0 hipotézis, hogy a $r_{GC}^2 = 0.8$, akkor legalább 19 önkéntest kell bevonni a vizsgálatba ahhoz, hogy megmutassuk, hogy az r_{GC}^2 legalább 0.5 a szokásos 5%-os szignifikanciaszinten.

4.4 Nagyvarianciájú gyógyszerek bioekvivalenciájának kiértékelése

4.4.1 A nagyváltozékonyságú gyógyszerek (HVD/P) problémája

Saját közlemény: (S26, S27, S28, S29)

1980-es évek elején bevezetett átlagos bioekvivalencia (ABE) módszer általános elfogadást nyert a generikus gyógyszerek törzskönyvezésében az 1990-es évek végére. De nem adott megoldást a nagyváltozékonyságú gyógyszerek és gyógyszerkészítmények (HVD/P) problémájára. A nemzetközi konszenzus szerint egy készítmény HVD/P, ha a becsült egyéni belüli variáció nagyobb, mint 30% (57). Az FDA adatbázisát használva Davit és munkatársai két okot jelöltek meg (58). A döntő ok az, hogy a hatóanyagnak nagy a „first-pass” metabolizmusa. Ez könnyen érthető is. Tételezzük fel, hogy a hatóanyagnak csak a 10%-a kerül felszívódásra ($F = 0.1$), azaz az extrakciós hányados (E), ami a máj funkcióját jellemzi, 0.9. Ekkor egész kis eltérés a fiziológias E -paraméterben már nagy ingadozást jelent a felszívódó mennyiségben. Például, ha $E = 0.85$, akkor $F = 0.15$, és ha $E = 0.95$, akkor $F = 0.05$. Azaz az E -ben közel 5%-os eltérés – ami könnyen elő fordulhat a máj véráramlásának változása miatt – 50%-os eltérést eredményez a felszívódásban. Ez a mechanizmus jól magyarázza meg az esetek többségét, de Davit és munkatársai megjegyzik, hogy az FDA adatbázisa szerint 20%-ban gyártási technológiai okokra volt visszavezethető a probléma (58). A HVD/P-probléma nagy nehézséget jelentett (és jelent) a generikus gyógyszerfejlesztés számára még abban az esetben is, ha a nagy variabilitás oka technológiai probléma, mivel számos esetben az R-készítmény az, amit a régi elavult technológiával gyártanak, és ez ellen a generikus T-készítmény gyártója semmit sem tehet. A HVD/P-problémát illusztrálja következő ábra:



4.27 ábra. TR-RT elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálat sikerrátája („ereje”) GMR = 1 értéket feltéve az ábrán ábrázolt önkéntes számok (N) mellett. Növekvő egyéni belüli relatív szórás mellett a bioekvivalenciát egyre nehezebb bizonyítani. Mint ahogy az ábra mutatja, ha $CV_w\% = 50\%$, akkor még 54 önkéntessel sem érhető el az elvárt 90%-os „erő”.

FDA-statisztikák szerint a beadványok 15-30%-ában volt az AUC vagy Cmax varianciája nagyobb mint 30% (58). Az utóbbi gyakrabban fordult elő, ami mutatja, hogy HVD/P-probléma a metrikától függő kérdés is. De a hatósághoz beadott vizsgálatok teljesítik a kritériumokat, a probléma a generikus fejlesztés szempontjából komolyabb. Egy jól ismert kanadai CRO (contract research organization) 504 vizsgálat adatait elemezte (S30). A vizsgált esetek között 105 volt nagy variációjú 54% bukási aránnyal, azaz a vizsgálatot be se adták a hatósághoz. Speciális eset a nagyváltozékonyságú kérdéskörben a párhuzamos elrendezésű vizsgálatok esete. Párhuzamos elrendezésű vizsgálat esetén nem az egyéni belüli, hanem a teljes szórás határozza meg az ABE-teszt erejét. Párhuzamos elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatok különösen gyakoriak állatgyógyászati készítmények esetén, ahol gyakran technikailag lehetetlen keresztezett vizsgálatot végrehajtani. A fenti probléma miatt az ipar igen nagy érdeklődéssel várta az 1999-ben megjelent új FDA-útmutatót (29) remélve, hogy megoldást jelent majd a HVD/P-problémára. Az új mutatóban leírt IBE-konceptió látszólag tényleg megoldást jelentett volna a HVD/P-problémára. Csak azért „látszólag”, mert mint megmutattuk a 4.3.2–4.3.3 pontokban, a 2.21 és 2.22 egyenletekben szereplő, az $S \times F$ interakciónak megfelelő populációs σ^2_D komponens az adatok szerint valójában zéró, de torzítva becsüljük. Ezért el kell hagyni, de akkor is van még egy probléma. A probléma lényege az, hogy a 2.21 és 2.22 nevezőjében szereplő, az egyéni belüli szórások különbségét mérő $\sigma^2_{WT} - \sigma^2_{WR}$ tényező konfidencia-intervallumának értéke nem meglepő módon nő a σ^2_{WR} értékétől függően. Ez azért paradox, mert tegyük fel, hogy $\sigma^2_{WT} - \sigma^2_{WR} = 0$. A σ^2_{WR} és egyben σ^2_{WT} növekedésével egyre nagyobb gyakorisággal fog megjelenni jelentős „jutalmazás” illetve „büntetés”. Azaz valójában a bioekvivalencia-eldöntésben a $\sigma^2_{WT} - \sigma^2_{WR}$ becslésének megfelelő tag lesz a domináns, és a valóban érdekes $(\mu_T - \mu_R)^2$ komponensnek nem lesz szerepe a döntésben. Ezért az IBE olyan bioekvivalencia döntéshez vezethet, amelyben a paraméterátlagok közti különbség, azaz a Cmax- és AUC-átlagok közti különbség, nem játszik szerepet. Ez nem elfogadható (S26).

4.4.2 A skálázott és a referencia skálázott átlagos bioekvivalencia-teszt koncepciója

Saját közlemény:(S30, S31)

Az angolul „scaled average bioequivalence” (SABE) teszt – mint lehetőség a HVD/P-probléma megoldására (31) – publikációnkban jelent meg először. A magyar szó szerinti fordítás vitatható, és talán a standardizált átlagos bioekvivalencia megfelelőbb lenne. A „scaled average criterion” kifejezés Schall (59) munkájában azonban már szerepelt mint az IBE egy közbenső formája, amikor feltesszük, hogy $\sigma_{WR} = \sigma_{WT}$ és $\sigma_D = 0$.

A SABE-ekvivalencia hipotézise a következő formában írható le:

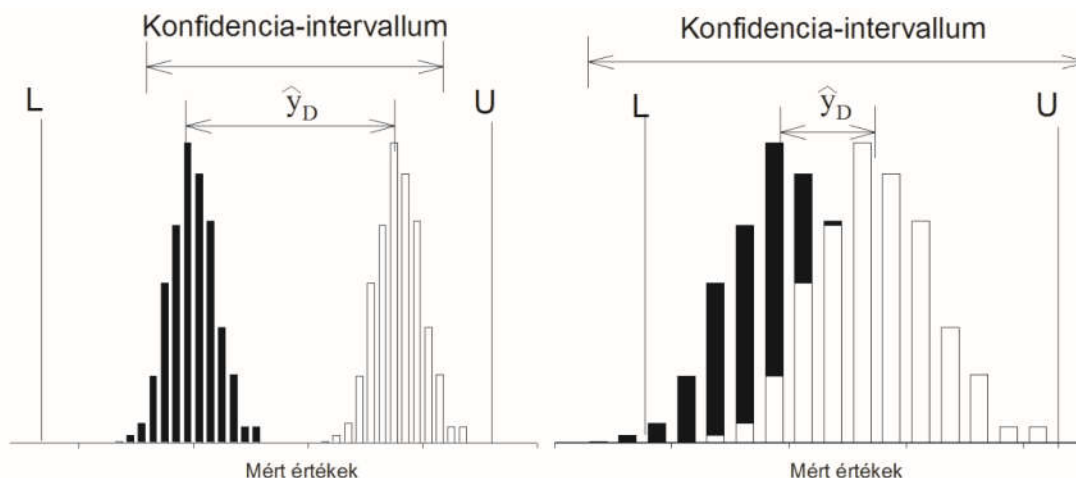
$$-\theta \leq \frac{\mu_T - \mu_R}{\sigma_W} \leq \theta \quad (4.25)$$

Matematikailag az ekvivalencia-hipotézis azt jelenti, hogy most a T- és az R-készítmény közti átlagos különbséget a közös, egymástól el nem eltérő egyéni szórás százalékában fejezem ki. Például, ha $\theta = 1$, akkor a 4.25 egyenlet szerint az átlagos eltérés két készítmény között maximálisan (90%-os biztonsággal) egy szórás egységnek felelhet meg. Az a skála, amelyen az eltérést nézem, az egyéni belüli szórás. A szórással való standardizálás széleskörűen használt metodika a statisztikában. Példaképpen említhetem a standardizált regressziós együtthatók használatát többváltozós regressziós feladatokban. Ez a tény azonban nem indokolja a gyakorlati bevezetést, és más indoklást kell keresni a SABE értelmezéséhez. Ezt a következőkben találtuk meg:

1 – A SABE nem más, mint egy ekvivalencia-teszt a hatásnagyság (effect size) mértéknek eldöntésére. A hatásnagyság fogalma először a pszichológiai szakirodalomban jelent meg, de ma már a hatásnagyság terminológiáját és a mérésére szolgáló indexeket más területeken is széleskörűen használják, mint például a metaanalízisben. Több mint 50 indexszám ismeretes a hatásnagyság mérésére, formailag a SABE a Cohen-féle d-nek felel meg.

2 – A SABE-minta az eloszlásátfedés mértéke.

A **4.28 ábra** illusztrálja, hogy az ABE-konceptió alkalmazása néha ellentmond az intuíciónak.



4.28 ábra. Az ABE-teszt a statisztikai szemléletnek ellentmondó tulajdonságai két hipotetikus bioekvivalencia-kísérlet adatain demonstrálva. A bal oldali ábrán levő vizsgálatban a két minta teljesen eltér, mégis a két készítmény bioekvivalensnek tekinthető, mert az átlagok közti eltérés konfidencia-intervalluma beleesik a regulációs határok által megadott U–L intervallumba. A jobb oldali ábrán a mérések átlapolódnak, de a nagy szórás miatt az átlag konfidencia-intervalluma nem esik bele az U–L regulációs intervallumba.

Rom and Hwang (60) hasonló módon paradoxnak érezte a **4.28 ábrának** megfelelő ABE-konceptiót, és a bioekvivalenciát annak valószínűségével definiálta, hogy az T- és

R-gyógyszert szedő populációk átlapolódnak. A Rom és Hwang által definiált PSR-en (PSR, probability of similar response) alapuló teszt azonos a SABE-val, ha $\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$.

3 – Egy tisztán matematikai, de nagyon elegáns út, amely az eloszlási függvények terében definiált távolság jellegű matematikai konstrukció és az ekvivalencia-tesztek között teremt kapcsolatot. A SABE által definiált standardizált differencia megfeleltethető a valószínűségi függvények terében értelmezett Kullback–Leibler-divergenciának (61).

4 – Boddy és munkatársai (61) még egy korai, 1995-ös cikkben úgy érveltek, hogy a racionális bioekvivalencia-kritérium ismerve a következő: ha két készítmény teljesen azonos ($T = R$), akkor a bioekvivalencia egy 24 önkéntesen végzett TR-RT elrendezésű keresztezett vizsgálatban 90%-os biztonsággal igazolható. Ebből levezették, hogy ez úgy lehetséges, ha az ABE kritériuma nem fix szám, hanem a σ_w függvénye. Az általuk javasolt bioekvivalencia-teszt ezért ilyen formájú:

$$-k * \sigma_w \leq \mu_T - \mu_R \leq k * \sigma_w \quad (4.26)$$

A konstans k értéke jó közelítéssel egynek (a pontos érték 0.997) adódott. A 4.26 egyenlet átrendezésével azonban azt kapjuk, hogy a Boddy által „Fixed multiple of CV”-nek elnevezett eljárás és a SABE definiáló egyenlet megegyezik.

A referencia skálázott átlagos bioekvivalencia (RSABE) a SABE-től abban különbözik, hogy most a nevezőben nem a közös egyéneken belüli, hanem csakis a referenciakészítmény egyéneken belüli szórása szerepel:

$$-\theta \leq \frac{\mu_T - \mu_R}{\sigma_{WR}} \leq \theta \quad (4.27)$$

Az indoklás a váltásra az, hogy el akarjuk kerülni azt a szituációt, hogy a készítményt azért nyilvánítjuk HVD/P-nek, mert az új generikus T-készítmény rossz gyártástechnológiával készült, felszívódása bizonytalan, azaz statisztikai szempontból nagyvarianciájú. A kis változásnak a képletben azonban fontos következményei lesznek:

1 – A bioekvivalenciát csakis ismételt elrendezésű, azaz legalább három periódusból álló bioekvivalencia-vizsgálatból lehet kiértékelni. Három periódusból álló elrendezés lehet a két szekvenciából álló TRT-RTR, vagy a három szekvenciából álló TRR-RTR-RRT elrendezés. Az utóbbit parciális ismételt adagolásnak nevezik (partial replicate design) és jellegzetessége, hogy csak az R-készítményt adagolja kétszer, míg a T- készítményt csak egyszer.

2 – Statisztikailag az RSABE többé nem lesz ekvivalens teszt olyan értelemben, hogy abból, hogy T bioekvivalens R-rel (az RSABE-kritérium teljesült) nem következik, hogy R ekvivalens T-vel. Ez utóbbi esetben σ_{WT} szerepel a nevezőben, azaz a két képlet egyértelműen nem lesz azonos. A gyakorlatban azonban ez nem jelent problémát, mert ez csak akkor következhet be, ha a T-készítmény valójában jobb, mint az R.

3 – Megjegyzendő, hogy RSABE szintén egy hatásmértékhez, az irodalomban Glass d-nek nevezett értékhez köthető (62).

4.4.3 A hatásági határérték (regulatory cutoff) megadása

Saját cikk: (S32)

A 4.27 egyenlet lényegében egy elméleti szabály az ekvivalencia eldöntéshez. Ahhoz, hogy az RSABE a gyakorlatban alkalmazható legyen, a matematikai indoklás mellett szükséges megadni a tesztben szereplő hatásági θ értékét.

A hatásági θ megadásakor abból indultunk ki, hogy az RSABE-nak kompatibilisnek kell lennie a standard ABE eljárási szabállyal. Ez alatt azt értettük, hogy a bioekvivalencia-szabályozást úgy képzeljük el, hogy amennyiben a készítmény nem HVD/P, azaz a becsült s_{WR} kisebb, mint egy σ_0 küszöbérték, úgy az bioekvivalenciát ABE-val, de ha nagyobb σ_0 -nál, akkor RSABE-val kell kiértékelni. Abban a pontban, mikor σ_{WR} egyenlő σ_0 -val, mindkét szabályt alkalmazhatjuk, ami lehetővé teszi, hogy megadjuk a θ értékét. Átrendezve az RSABE- kritériumot és behelyettesítve $\sigma_{WR} = \sigma_0$ feltételt azt kapjuk, hogy

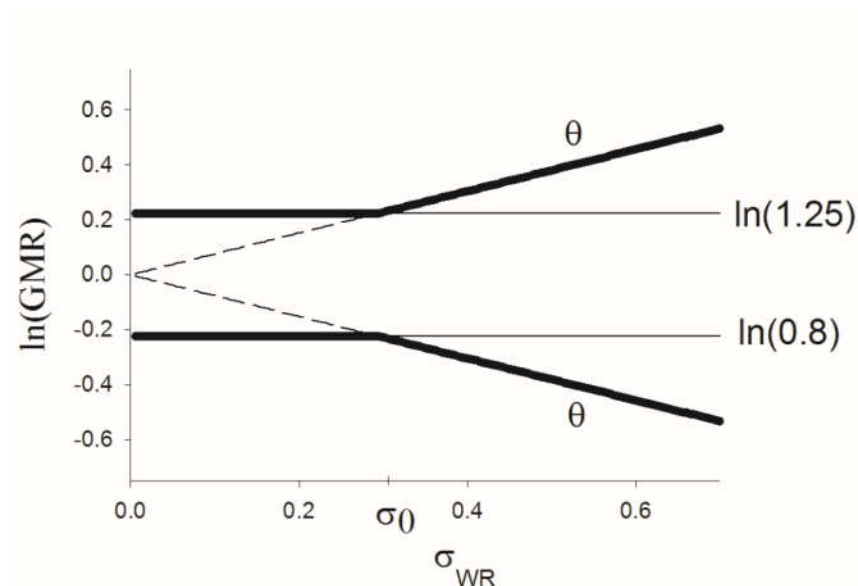
$$-\theta * \sigma_0 \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta * \sigma_0 \quad (4.28)$$

De ez egy ABE-szabály, és tudjuk, hogy a döntésnek RSABE-val és ABE-val azonosnak kell lennie, ha $\sigma_{WR} = \sigma_0$. Ez csak úgy lehet, ha

$$\sigma_0 \theta = \ln(1.25) \quad (4.29)$$

ahol $\ln(1.25)$ az általánosan elfogadott ABE-limit. Mivel nemzetközi ajánlás szerint egy készítmény nagyvarianciájú, ha $CV_{WR} > 30\%$ (57), amiből a $\sigma_0 = 0.294$ adódik. Ezt az értéket a 4.29 egyenletbe behelyettesítve és θ -ra átrendezve az adódik, hogy az RSABE-eljárásban a θ -nak 0.76-nak kell lennie. Mint látható θ -t a σ_0 határozza meg. A θ meghatározásához

használt gondolatmenetet a **4.29 ábra** is illusztrálja.



4.29 ábra. A bioekvivalencia kiértékelésének kevert („mixed”) stratégiája. Ha a becsült σ_{WR} kisebb, mint a σ_0 regulációs konstans, akkor a logGMR-nek az $[\ln(0.8), \ln(1.25)]$ intervallumban kell lennie. Ha σ_{WR} nagyobb, mint a σ_0 , akkor RSABE-val kell kiértékelni, de ebben az esetben a megengedett intervallum szélessége nő a változékonysággal. A regulációs konstans ebben az esetben a meredekség mértéke. A $\sigma_0 = \sigma_{WR}$ pontban a két szabálynak azonos $\ln(\text{GMR})$ intervallumot definiáln, amiből következik, hogy a θ -nak 0.76-nak kell lennie.

4.4.4 Az RSABE-módszer FDA-implementálása és annak bírálata

Saját cikk: (S33, S34)

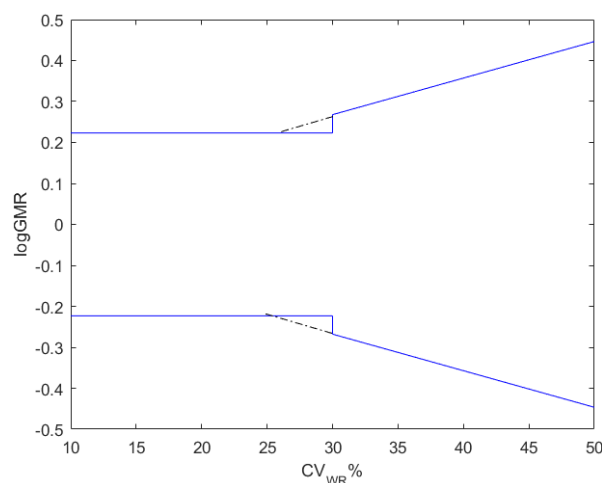
A fentebb leírt RSABE-módszert az amerikai gyógyszerhatóság a következő változtatásokkal használja a gyakorlatban (63):

- 1 – Bevezetett egy további kritériumot, amit GMR-megkötésnek (GMR restriction) nevezhetnénk. A megkötés lényege, hogy a GMR-értéknek a $CV_{WR}\%$ értékétől függetlenül a 0.80–1.25 intervallumban kell lennie.
- 2 – A hatásági kritériumot $\theta = 0.89$ -ben szabta meg.

Bírálatunkban megmutattuk, hogy mindkét lényegi eltérés az általunk javasolt kiértékelési szabálytól ellentmondásos és szakmailag nehezen indokolható hatásági szabályozáshoz vezet.

A GMR-megkötés lényegében egy második 50%-os döntési hibával történő pontbecslés ugyanarra a paraméterre, amit az RSABE-teszt mér. Az RSABE esetén a különbséget súlyozom egy számmal (konkrétan $1/s_{WR}$ -rel). Ha s_{WR} aránylag kicsi, akkor az RSABE-teszt lesz a domináns, mert az a szigorúbb, mivel csak 5% fokú hibát enged meg. Ha az s_{WR} nagy, akkor viszont, miután az RSABE-ben szereplő súlyozott érték kicsi lesz, a GMR- megkötés lesz a domináns. Szimulációnk szerint a GMR-megkötés lényegében $CV_{WR}\% = 60\%$ környékén lesz domináns, azaz az RSABE+GMR teszt eredményét a GMR-teszt fogja megszabni.

A következő ábra mutatja, hogy furcsa anomális szakadás történik az FDA ajánlott θ -val, ha CV_{WR} értéke 30% körül van.



4.30 ábra. A megengedett logGMR intervallum az FDA-útmutatóban szereplő $\theta = 0.89$ hatásági határértékkel. A fekete szaggatott vonal az FDA által elméletileg elfogadható, de valójában nem alkalmazható határokat jelöli.

Ahogy a **4.30 ábra** mutatja, kis növekmény a CV_{WR} körül azzal jár, hogy ugrásszerűen tágul a megengedett határ. Ez lényegében kedvezőbbé teszi, hogy növelje egy kísérlettervező a vizsgálat szórását. Ellentmondásos, hogy a nagyobb szórás relatíve alapvetően előnyt jelent, és a bioekvivalencia kisebb elemszámmal is bizonyítható lesz. A szimuláció mutatta, hogy a szakadás következtében jelentősen megnövekszik annak az esélye, hogy nem HVD/P-készítményt tévesen HVD/P-készítménnyé nyilvánítsunk, és így az eljárás hibája a nominális 5% felé megy. A kevert stratégián alapuló HVD/P-kiértékelés lokálisan a CV_{WR} környezetében mindig megnöveli a döntési hibát, mert annak eldöntése, hogy valami HVD/P vagy nem, lényegében egy „pontteszt”. Pontteszt esetén statisztikát nem számolok, a teszt lényege, hogy a megfigyelt értéket egy küszöbszámmal hasonlítom össze. De a fogyasztói kockázat növekedése kifejezetten, ha a $CV_{WR}\%$ nem folytonos, mint ezt a következő tábla mutatja:

Limit	SABE	SABE+GMR
0.76	6.98	6.98

4.6 táblázat. Fogyasztói kockázat (%) függése a hatásági határtól. Háromperiódusos TRT-RTR elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatokat szimuláltunk $GMR = 1.25$ és $CV_{WR}\% = CV_{WT}\% = 30\%$ feltételekkel. Ebben a határesetben a sikerráta (fogyasztói rizikó) nem haladhatná meg az 5%-ot. A szimulált vizsgálatok az FDA által javasolt kevert stratégiával és Hyslop-módszerrel voltak kiértékelve. A SABE+GMR oszlop esetén további megkötés volt, hogy a becsült $\log GMR$ -nek kisebbnek kellett lenni, mint $\ln(1.25)$ (GMR-megkötés).

Az **4.6 táblázat** két érdekes tényre hívja fel a figyelmet. Az egyik az, hogy GMR-megkötés semmifajta hatással nincs a fogyasztói kockázatra, a $CV_{WR}\% = 30\%$. Ez várható is volt az előzetes eredmények alapján. A másik következtetés az, hogy a fogyasztói kockázat mindenképpen nő, és ez a növekedés különösen kifejezett az FDA által ajánlott θ esetén. Kritikánkra válaszolva az FDA kifejtette (63), hogy valójában úgy gondolja, hogy már 25%-os $CV_{WR}\%$ értéktől mód van a határ tágitására. Ez matematikailag elfogadható érvelés, de ugyanakkor mutatja, hogy az FDA álláspontjának védelmében eltér az általa korábban elfogadott nemzetközi konszenzustól, amely 30% $CV_{WR}\%$ -nál szabta meg a határt, amettől egy készítmény HVD/P-nek számít.

4.4.5 RSABE-algoritmusok

Saját közlemények: (S6, S30, S31, S32, S35)

A 4.27 egyenlet egy definíció, egy elméleti szabály, de kezdetben nem volt ismeretes, hogy a definíció alapján hogyan kell kiszámolni a döntési szabályt. A feladat nem triviális, és négy megoldást is adtunk, amelyek az irodalomban előzetesen leírt módszerek módosításán alapulnak. Időrendi sorrendben az általunk adott négy algoritmus a módosított Hyslop-algoritmus, az ABEL (Average Bioequivalence with Expanding Limits) metodika, valamint az úgynevezett Exact algoritmusok két variánsa.

Hyslop algoritmusának alkalmazása a RSABE kiértékelésére

Felhasználva, hogy az RSABE az IBE egy egyszerűsített formája, adódott, hogy a Hyslop által leírt IBE kiértékelési algoritmust (31) egyszerűsítsük úgy, hogy a σ_D tényezőt nullának vesszük.

Ennek alapján a következő algoritmust ajánlottuk az RSABE kiértékelésre:

A kiindulási pont a négyzetre emelt és átrendezett (linearizált) 4.27 egyenletet:

$$(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta^2 * \sigma_{WR}^2 \leq 0$$

Az első lépésben behelyettesítjük a becsléseket. Legyen

$$1. \quad E_m = (\hat{y}_T - \hat{y}_R)^2$$

$$2. \quad E_s = \theta^2 * s_{WR}^2$$

Az E_m és E_s konfidencia-intervalluma tankönyvi formulákkal könnyen számolható:

$$3. \quad C_m = [\text{Abs}(\hat{y}_T - \hat{y}_R) + t * se_D]^2$$

$$4. \quad C_s = \theta^2 * df * s_{WR}^2 / \chi^2$$

A t and χ^2 inverz eloszlási függvényeket 0.95 értéknél kell kiértékelni. A szabadságfok az n_i -k összege, ahol n_i a személyek száma az i -dik szekvenciában, és összesen van s szekvencia. Például TRT-RTR elrendezés esetén a C_m tényező szabadságfoka $n_T + n_R - 2$, míg a C_s szabadságfoka csak $n_R - 1$.

A konfidencia-intervallumot Howe módszerével számoljuk (30), a részleteket illetően lásd a 2.5.3 alfejezetet!

Legyen L_m és L_s az E_m és E_s becslések konfidencia-intervallumainak a hossza. L_m és L_s értékét az algoritmus 5. és 6. pontjában számoljuk ki.

$$5. \quad L_m = (C_m - E_m)^2$$

$$6. \quad L_s = (C_s - E_s)^2$$

A CI konfidencia-intervallum felső határát az előző 1–6. lépésekben kapott értékek összegeként kapom.

$$7. \quad CI = E_m - E_s + (L_m + L_s)^{1/2}$$

Az RSABE szerinti bioekvivalencia bizonyított, ha CI kisebb, mint 0.

Az ABEL-eljárás

A módosított Hyslop-módszer legnagyobb problémájának a szemléletesség teljes hiányát tartottuk. Alapvetően az algoritmus eredménye egy szám, amelynek semmifajta értelmezést nem tudunk adni azon kívül, hogy ha pozitív, akkor a készítmény nem bioekvivalens, és ha negatív, akkor meg az. A szemléletesség hiánya messze nem egy elhanyagolható szempont. Nem csak az eredmény, hanem maga az algoritmus sem szemléletes, és ha nem is komplikált, de mindenesetre statisztikai programozást igényel. Ezért adtunk egy ABEL-nek nevezett alternatív algoritmust a HVD/P-gyógyszerek bioekvivalenciájának eldöntésére. A név az „Average Bioequivalence with Expanding Limit” rövidítése annak hangsúlyozására, hogy valójában nem RSABE-, hanem egy ABE-algoritmusról van szó, ahol az ekvivalencia-limit a becsült s_{WR} -tól függ.

ABEL-algoritmus

$$1. \quad \text{Legyen } \theta = 0.76 * s_{WR}$$

$$2. \quad L = (\hat{y}_T - \hat{y}_R) - t(0.95, df) * se$$

$$3. \quad U = (\hat{y}_T - \hat{y}_R) + t(0.95, df) * se$$

A df-érték az ANOVA-tábla maradék négyzetösszegének (RMS, residual mean squares) szabadságfoka.

T és R bioekvivalens egymással, ha

$$4. \quad -s_{WR} * \theta \leq L \text{ és } U \leq s_{WR} * \theta$$

Az ABEL-algoritmus által ajánlott határértékeket a következő táblázat adja:

CV _{WR} %	L	U
30	80.00	125.00
35	77.23	129.48
40	74.62	134.02
45	72.15	138.59
50	69.84	143.19

4.7 táblázat. Az ABEL-eljáráshoz tartozó hatósági határértékek $\theta = 0.76$ konstans alkalmazása esetén. Ezek az értékek jelenleg hivatalosak az EMA bioekvivalencia-útmutatójában (18).

Az ABEL-algoritmus visszavezeti a problémát a jól ismert ABE-módszerre, és nem kívánja meg, hogy megváltoztassuk a konfidencia-intervallum számolását. Így semmifajta személeti változást nem igényel. Statisztikai szempontból alapvetően megegyezik a Boddy és munkatársai (61) által javasolt módszerrel, de kiemeltük, hogy a statisztikai indoklás teljességgel más. Ugyanakkor a kezdetektől hangsúlyoztuk, hogy statisztikai értelemben nem teljesen korrekt, mert a hatósági „konstans” már nem konstans matematikai értelemben.

Az ncConf- és ncTOST-algoritmusok

Az ABEL-módszer egy egyszerű, közérthető eljárás, de statisztikai értelemben számos bírálat érte, mert a fogyasztói kockázat (Type I error) valamivel nagyobb, mint a nominális 5%. Ezért célul tűztük ki egy olyan eljárás kidolgozását, amely egyszerű, közérthető, de matematikai szempontból mégis korrekt. Miután a minta-statisztikaeloszlásából vezettük le az algoritmust Schallt követve (59), „Exact” algoritmusoknak hívtuk az ajánlott ncConf- és ncTOST-eljárásokat (S6, S35).

Az Exact algoritmusok megértéséhez első lépésben tegyük fel, hogy a $\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$, azaz a T- és az R-készítmények egyéni belüli szórása megegyezik. Az RSABE operatív definíciója lesz az a definíció, amely alapján döntést hozhatunk:

$$\text{Prob}(-\theta \leq \bar{Y}_D / S_{WR} \leq \theta) > 0.9 \quad (4.30)$$

A 4.30 egyenlet azt jelenti, hogy az ekvivalencia akkor áll fent, ha tudunk két olyan L és U random változót, az intervallumbecslés alsó és felső határait, amelynél a 4.30 egyenlőtlenség teljesül. A 4.30 állítás a döntés szempontjából egyenértékű azzal az állítással, hogy a bioekvivalencia-vizsgálat végrehajtása után a $(\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR}$ populációs paraméterre számított konfidencia-intervallum az adott $[-\theta, \theta]$ intervallumba esik. Patnik megkülönböztetésként, a fogalmi zavar elkerülése végett a 4.30 egyenletet konfidencia valószínűségi állításnak hívja (64). A probléma az, hogy az $\bar{Y}_D / S_{WR}$ eloszlása nem standard. Ezért visszavezetjük a feladatot egy ismertebb problémára, az $\bar{Y}_D / S_{WR}$ statisztika helyett a $k^{-1} \bar{Y}_D / S_{WR}$ statisztikát használjuk fel a konfidencia-intervallum megadására, ahol k egy, az elrendezéstől függő konstans és

$$\sigma_D = k * \sigma_{WR} \quad (4.31)$$

A feladat azért könnyebb, mert $k^{-1} \bar{Y}_D / S_{WR}$ nemcentrális t eloszlású valószínűségi változó. Ezt az alábbi módon bizonyítottuk (S6). Írjuk fel a $\bar{Y}_D$ mintaeloszlás normális eloszlású véletlen változó eloszlását! Behelyettesítve a 4.31-ből a k definícióját az $\bar{Y}_D$ eloszlása:

$$\bar{Y}_D \sim N(\mu_T - \mu_R, k * \sigma_{WR}) \quad (4.32)$$

Az S_{WR} eloszlása:

$$S_{WR} \sim \sigma_{WR} \sqrt{\chi^2 / df} \quad (4.33)$$

Az $\bar{Y}_D$ - t S_{WR} -rel elosztva, és σ_{WR} -rel egyszerűsítve a kapott változó eloszlása:

$$\frac{\bar{Y}_D}{S_{WR}} \sim \frac{N(\lambda', k)}{\sqrt{\chi^2 / df}} \quad (4.34)$$

ahol $\lambda' = (\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR}$.

Ennek megfelelően a $k^{-1} \bar{Y}_D / S_{WR}$ eloszlása adódik, ha a számlálóban levő normál eloszlású változót k^{-1} -gyel szorozzuk

$$k^{-1} \frac{\bar{Y}_D}{S_{WR}} \sim \frac{N(\lambda, 1)}{\sqrt{\chi^2 / df}} \quad (4.35)$$

ahol $\lambda = k^{-1}(\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR}$.

Mivel az egyenlet jobb oldalán álló kifejezés df szabadságfokú, nemcentrális t eloszlású változó definíciója, állításunkat bizonyítottuk.

A fentiekben csak feltettük, hogy a k elrendezéstől függő konstans létezik, és nem adtunk meg módszert a kiszámítására. A bizonyítást kontrasztok felhasználásával oldottuk meg. A

kontrasztokon alapuló megközelítés egy elegáns módszer, ami lehetővé teszi, hogy ne egyénenként, hanem a cellaátlagok és az s_w ismertében számoljuk ki a konfidencia-intervallumát. Cellaátlagnak nevezem egy adott kezeléssel, adott szekvenciában, adott periódusban mért átlagokat vagy azok becsléseit. Azaz egy TR-RT elrendezésű vizsgálat esetén két cellaátlag van az első szekvenciában: $\bar{y}_{T11}$, $\bar{y}_{R12}$ míg a második szekvenciában a cellaátlagok: $\bar{y}_{R21}$, $\bar{y}_{T22}$. Az indexelés alsó indexe a formuláció, szekvencia, periódus indexelésének felel meg. A három indexből az egyik felesleges, de az explicit jelöléssel könnyebben követhető a számolás logikája.

A kontraszt módszer alapja annak felismerése, hogy a cellaátlagok többváltozós normál eloszlást követnek. Fókuszáljunk az első szekvenciára, és tételezzük fel, hogy a T- és az R-készítmény egyénen belüli és egyének közötti szórásai megegyeznek, azaz $\sigma_{WR} = \sigma_{WT} = \sigma_W$ és $\sigma_{BR} = \sigma_{BT} = \sigma_B$.

Ekkor a két cellaátlag egy kétváltozós normál eloszlással jellemezhető

$$\begin{bmatrix} \bar{Y}_{T11} \\ \bar{Y}_{R21} \end{bmatrix} \sim N \begin{pmatrix} \mu_T \\ \mu_R \end{pmatrix}, V \quad (4.36)$$

ahol a V variancia-kovariancia mátrixformáját a 4.36 mutatja.

$$V = 1/n_1 * \begin{bmatrix} \sigma_B^2 + \sigma_W^2 & \sigma_B^2 \\ \sigma_B^2 & \sigma_B^2 + \sigma_W^2 \end{bmatrix} \quad (4.37)$$

Azaz a V mátrix diagonálisában a teljes varianciák szerepelnek, míg a kovariancia egyenlő a személyek közötti varianciával. Mivel az átlagok szórásának becsléséről van szó, osztom n_1 -gyel ahol n_1 az egyének száma szekvenciában. V szimmetrikus mátrix struktúrája példa az úgynevezett „compound” vagy „exchangeable” struktúrájú variancia-kovariancia mátrixra.

Definiáljunk a c kontrasztvektort:

$$c = [1 \quad -1] \quad (4.38)$$

A c kontrasztvektorral beszorozva a cellaátlagok random vektorát az átlagvektor eloszlása felírható mint:

$$c * \begin{bmatrix} \bar{Y}_{T11} \\ \bar{Y}_{R21} \end{bmatrix} \sim N \left(\mu_T - \mu_R, c * \left(\frac{V}{n_1} \right) * c^t \right) \quad (4.39)$$

ahol kis „t” felső index a transzponálást jelöli. Végrehajtva a szorzást azt kapom, hogy

$$c * \begin{bmatrix} \bar{Y}_{T11} \\ \bar{Y}_{R21} \end{bmatrix} \sim N \left(\mu_T - \mu_R, 2 * \frac{\sigma_W^2}{n_1} \right) \quad (4.40)$$

Azaz a két cellaátlag random vektorát c -vel beszorozva egy olyan valószínűségi változót kapok, amelynek várható értéke $\mu_T - \mu_R$ várható varianciája, $(2/n_1) * \sigma_W^2$. A kontrasztvektorok

segítségével tömören lehet felírni a kívánt összefüggéseket, és könnyen általánosítható a tetszőleges elrendezésre. Példaképpen a teljes 2x2 vizsgálatra vonatkozólag legyen a cellaátlagok várható értékeinek oszlopvektora $\bar{Y} = [\bar{Y}_{T11}, \bar{Y}_{R21}, \bar{Y}_{T22}, \bar{Y}_{R21}]$, valamint a c sorvektor $= [1/2, -1/2, 1/2, -1/2]$. Mint látható, c egy standardizált kontrasztvektor, azaz nem csak hogy elemeinek összege zéró, de a pozitív és negatív elemek összessége 1, illetve -1. A teljes 2x2 vizsgálat esetén a V mátrixblokk diagonális lesz:

$$V_{2 \times 2} = \begin{bmatrix} \frac{V}{n_1} & 0 \\ 0 & \frac{V}{n_2} \end{bmatrix} \quad (4.41)$$

A $c * V_{2 \times 2} * c^t$ mátrixszorzásokat végrehajtva azt kapjuk, hogy

$$c * \bar{Y}_D \sim N(\mu_T - \mu_R, 0.5 * (\frac{\sigma_W^2}{n_1} + \frac{\sigma_W^2}{n_2})) \quad (4.42)$$

A módszer könnyen kiterjeszthető három- vagy többperiódusú keresztezett vizsgálat esetére. Például egy TRT-RTR elrendezés esetén V egy 3x3 dimenziójú mátrix lesz, ahol $V(i,i) = (\sigma_B^2 + \sigma_W^2)/n_i$ és, ha $i \neq j$, akkor $V(i,j) = \sigma_B^2/n_i$, ahol n_i az adott szekvenciában levő egyének száma. $V_{2 \times 3}$ struktúrája megegyezik $V_{2 \times 2}$ -ével, azaz a blokk diagonálisan tartalmazza a V mátrixokat. Legyenek az $\bar{Y}$ oszlop vektorelemei $[\bar{Y}_{T11}, \bar{Y}_{R21}, \bar{Y}_{T13}, \bar{Y}_{R21}, \bar{Y}_{T22}, \bar{Y}_{R23}]$, míg a c standardizált kontraszt sorvektor $c = [1/4, -1/2, 1/4, -1/4, 1/2, -1/4]$.

Végrehajthatjuk $c * V_{2 \times 3} * c^t$ szorzást, mint az előbb, de a minket érdeklő σ_D , azaz a becsült különbség standard hibája könnyebben is megkapható az alábbi képlettel:

$$\sigma_D = \sqrt{\sigma_W^2 * \sum \frac{c_i^2}{n_i}} \quad (4.43)$$

ahol c_i a c kontrasztvektor eleme, és n_i az $\bar{Y}$ oszlopvektor i -edik eleméhez tartozó cella elemszáma. A képlet valójában azt mondja, hogy σ_D lényegében egy súlyozott összeg, ahol a súlyok az egyes cellaátlagokhoz tartozó c_i kontrasztértékek, illetve a cellához tartozó elemszám négyzetgyökének a reciprok értéke. Ez megengedi, hogy a képletet általánosítsuk. Tételezzük fel, hogy a T- és az R-készítmények egyéni belüli szórása eltér, azaz legyen $z^2 = \sigma_{WT}^2 / \sigma_{WR}^2$. Ekkor a különbség standard hibájának képlete az alábbi formába írható:

$$\sigma_D = \sqrt{\sigma_W^2 * \sum \left(\frac{c_{iR}^2}{n_{iR}} + \frac{z^2 c_{iT}^2}{n_{iT}} \right)} \quad (4.44)$$

ahol az iR indexek azon cellaátlagokat jelölik, ahol az önkéntesek az R-készítményt kapták, míg az iT index esetén az önkéntesek a T-készítményt kapták.

Visszatérve TRT-RTR példához, tegyük fel, hogy a két szekvenciában az önkéntesek száma egyaránt $n/2$ és $\sigma_{WT}^2 = \sigma_{WR}^2$. A 4.44 képletbe beírva a kontraszt négyzetösszeget (0.75) azt kapom, hogy az $\bar{Y}_D$ szórásának elméleti (populációs) értéke:

$$\sigma_D = \sigma_w \sqrt{1.5/n} \quad (4.45)$$

Hasonló módon levezethető, hogy TRTR-RTRR elrendezés esetén:

$$\sigma_D = \sigma_w \sqrt{1/n} \quad (4.46)$$

Összefoglalva tehát azt láthatjuk, hogy a különbség elméleti (populációs) szórása

$$\sigma_D = \sigma_w \sqrt{c/n} \quad (4.47)$$

alakban írható, ahol TR-RT elrendezés esetén $c = 2$ -vel, TRT-RTR elrendezés esetén $c = 1.5$ -del és TRTR-RTRT elrendezés esetén $c = 1$ -gyel. Látni kell azonban, hogy k csak akkor konstans, ha feltesszük, hogy $\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$, vagy általánosabban $\sigma_{WT} = z^* \sigma_{WR}$, de z ismert. Amennyiben ez nem így van, akkor becsülni kell. Ez aránylag könnyű, amennyiben egyes ismételt elrendezésű vizsgálatok esetén, mint a TRTR-RTRT vagy RTR-RTR, de csak elvileg lehetséges a hatóságilag ajánlott, részlegesen ismételt TRR-RTR-RRT elrendezés (partial replicate design) esetén. Megoldást jelent azonban Schall ötlete (59) aki a k direkt becslését ajánlotta standard lineáris modellt illesztve a bioekvivalencia-vizsgálat adataira. A k értéket a logGMR (tipikusan a „Treat” faktor) standard hibája, valamint a könnyen becsülhető s_{WR} arányaként kapjuk meg. Ekkor azonban k már nem egy konstans, hanem függ a vizsgálati elrendezéstől, valamint az egyéni belüli szórások arányától.

Miután megállapítottuk, hogy $k^{-1}\bar{Y}_D / s_{WR}$ nemcentrális t eloszlású valószínűségi változó, visszatérhetünk az eredeti problémára. A teszt konstruálásához az ötlet az, hogy a

$$\text{Prob}(-\theta \leq \bar{Y}_D / s_{WR} \leq \theta) \geq 0.9 \quad (4.48)$$

definiáló egyenlet helyett az alábbi az alábbi konfidencia-valószínűségi állítást értékeljük ki:

$$\text{Prob}(-k^{-1}\theta \leq k^{-1}\bar{Y}_D / s_{WR} \leq k^{-1}\theta) \geq 0.9 \quad (4.49)$$

Nyilvánvaló, hogy a 4.48 csak akkor és csak akkor igaz, ha a 4.49 igaz, és ez fordítva is így van. Azonban $k^{-1}\bar{Y}_D / s_{WR}$ eloszlása ismert, míg $\bar{Y}_D / s_{WR}$ változó eloszlású nem. Ennek megfelelően a 4.49 ismert eloszlásfüggvények felhasználásával kiértékelhető, míg a 4.48 nem. A 4.49 egyenlet által definiált döntési szabály kiértékeléséhez két algoritmust is adtunk. Hasonlóan az ABE-hez az egyik a konfidencia-intervallumon alapuló eljárás, a másik a TOST-variáns (lásd 2.5). Ezeket ncConf-nek és ncTOST-nak neveztük utalva egyfelől az algoritmusra, másfelől arra, hogy mindkét esetben a kiindulási pont a nemcentrális t eloszlási feltevés. Mindkét algoritmusnak két változata van. Az egyik, amikor feltesszük, hogy $\sigma_{WR} = \sigma_{WT}$ (homoszkedaszticitási feltevés). Ekkor a k értéket a fent leírt módon, a vizsgálati elrendezéstől

függő módon, kontrasztok segítségével számoljuk. Abban az esetben, ha ezzel a feltevessel nem élünk, akkor a k -t a becsült se_D/s_{WR} arányból számoljuk ki. (59).

NcConf

1. Legyen $\bar{y}_D/s_{WR}$ a $(\mu_T - \mu_R)/\sigma_{WR}$ becslése, azaz osszuk a logGMR értéket a referenciakészítmény becsült egyéni belüli szórásával!
- 2a. Ha (IF) feltesszük, hogy $\sigma_{WR} = \sigma_{WT}$, akkor számoljuk ki a k értéket a 4.44–4.47 egyenletek segítségével! Például, $k = (1.5/n)^{0.5}$ egy kétszekvenciás háromperiódusos TRT-RTR esetén, ahol n az egyének száma a vizsgálatban.
- 2b. Egyébként (ELSE) feltesszük, hogy $\sigma_{WR} = \sigma_{WT}$. Ekkor legyen $k = se_D/s_{WR}$, azaz ahol se_D és s_{WR} becsléseket standard lineáris modell illesztése.
3. Becsüljük az alsó és felső konfidencialimiteket a $k^{-1}(\mu_T - \mu_R)/\sigma_{WR}$ populációs értékre! A df szabadságfok az s_{WR} szabadságfoka. A df szabadságfok általában egyenlő $(n-s)$ -sel, ahol n az önkéntesek száma és s a szekvenciák száma. A konfidencia-intervallumot nemlineáris egyenletek L -re és U -ra való megoldásaként kapom (65). Két egyenletet kell numerikusan megoldani:

$$t(0.95, df, L) = k^{-1}\bar{y}_D/s_{WR} \text{ és } qt(0.05, df, U) = k^{-1}\bar{y}_D/s_{WR}$$

ahol a qt a nemcentrális t eloszlás kvantillise.

4. A bioekvivalenciát kimondhatjuk, ha $L \geq -k^{-1}\theta$ és $U \leq k^{-1}\theta$. A $(\mu_T - \mu_R)/\sigma_{WR}$ populációs érték konfidencia-határai a 90%-os szinten k^*L és k^*U .

Az NcConf-algoritmus alapja az úgynevezett inverz konfidenciaintervallum-eljárás (65). A λ nemcentralitás paraméterhez olyan L -t és U -t keresünk, hogy a $\text{Prob}(\lambda|L) = 1 - \alpha$ és $\text{Prob}(\lambda|U) = \alpha$ egyenlőségek fennálljanak. Az $[L, U]$ konfidencia-intervallum ekkor pontosan $1-2\alpha$, azaz 0.9 konfidenciával fedi le az igazi értéket.

A másik megoldás két egyoldali t -teszt (TOST) végrehajtása:

$$H_{01}: k^{-1}\theta \leq k^{-1}(\mu_T - \mu_R)/\sigma_{WR} \text{ és } H_{02}: -k^{-1}\theta \geq k^{-1}(\mu_T - \mu_R)/\sigma_{WR}. \quad (4.50)$$

Ha mind a H_{01} mind a H_{02} hipotézist elutasítom 5%-os szinten, akkor 90%-os konfidenciával következtetek arra, hogy a standardizált különbség a $[-k^{-1}\theta, k^{-1}\theta]$ intervallumban van 90% megbízhatósággal. A TOST-eljárásnak megfelelő algoritmus az NcTOST.

NcTOST

$$1. \quad L_0 = qt(0.95, df, -k^{-1}\theta), \quad U_0 = qt(0.05, df, k^{-1}\theta)$$

A df szabadságfok megint egyenlő az s_{WR} szabadságfokával. A 2. lépésben egy logikai állítás igazságát kell megállapítani.

$$2. \quad L_0 \leq k^{-1}\bar{y}_D/s_{WR} \leq U_0$$

Ha a 2. igaz, akkor az RSABE-hipotézist elfogadjuk, ellenkező esetben elutasítjuk.

Megfigyelendő, hogy az L_0 és U_0 előre definiált konstansok, a bioekvivalencia-vizsgálat eredménye nélkül is számolhatók. Az $[L_0, U_0]$ nem egy konfidencia-intervallum, hanem egy hatósági intervallum (lásd 2.2. ábra). A bioekvivalenciát elfogadjuk, ha $k^{-1}\bar{y}_D/s_{WR}$ pontbecslés beleesik az $[L_0, U_0]$ intervallumba, egyébként az RSABE-hipotézist elutasítjuk.

Hedges-korrekción

Az ncConf-algoritmus konfidencia-intervallumot egy adott $\lambda = (\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR}$ populációs értékre, az ncTOST-eljárás segítségével eldönthetjük, hogy a $\lambda = (\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR}$ populációs paraméter benne van-e a $[-\theta, \theta]$ hatósági intervallumban. Hedges azonban megmutatta (66), hogy a nemcentrális t eloszlás populációs várható értéke (δ) nem egyenlő a λ nemcentralitási paraméterrel. A kettő közti összefüggés

$$\delta = H_f^{-1}\lambda \quad (4.51)$$

H_f függ az s_{WR} szabadságfokától, és közelíthető a képlettel:

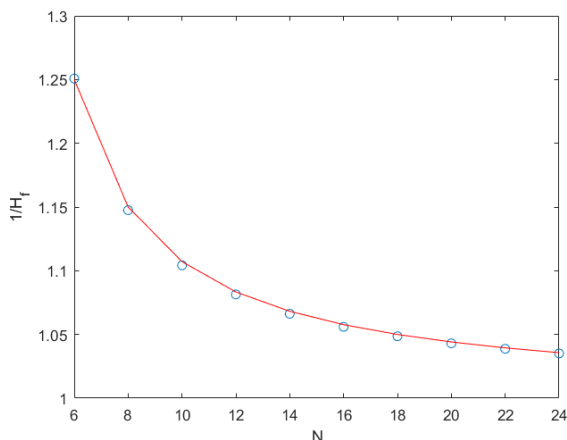
$$H_f = 1 - 3/(4df - 1) \quad (4.52)$$

A 4.52 egyenletből következik, hogy a H_f mindig kisebb, mint 1. A szabadságfok növekedésével 1-hez tart, de aszimptotikusan sem éri el. Ennek megfelelően H_f^{-1} mindig nagyobb, mint 1.

Azt, hogy mit jelent a 4.52 összefüggés a gyakorlatban, az alábbi egyszerű szimulációs vizsgálattal illusztrálom:

1. Szimuláljunk egymillió TRTR-RTTR elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatot $N = 6, 8, \dots, 24$ önkéntessel. A bennünket érdeklő szimulációs paraméterek legyenek $\mu_R = 0$, $\mu_T = 0.2$ és $\sigma_{WR} = 0.5$. Behelyettesítve: $\lambda = 0.4$, mert $(\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR} = 0.4$.
2. Mindegyik i -dik szimulált vizsgálatból N_j elemszámnál számoljuk az $\bar{y}_{Dij}/s_{WRij}$ arányt.
3. Számoljuk ki $I_j = \Sigma(\bar{y}_{Dij}/s_{WRij}) * 10^{-6}$ átlagokat minden egyes N_j esetén! Ezek lesznek az elméleti δ becslései.
4. Az $1/H_f$ értéket becsülhetem, mint az I_j/λ arányt.

A következő ábra illusztrálja a szimulált és a Hedges képlete szerint számolt I_j/λ arányt.



4.31 ábra. Szimulációval, illetve a Hedges által adott összefüggéssel számolt I_j/λ arányok. A piros vonal a Hedges-formula által adott érték, a kék körök a szimulált értékek.

A naiv becslés szerint – mivel egymillió átlag jól becsüli a szimuláció paraméterét – az I_j/λ hányadosnak közel 1-nek kéne lennie mindenütt. Azonban az ábra mutatja, ez nem így van, az $\bar{Y}_D / S_{WR}$ várható értéke nem egyezik meg a populációs paraméterek arányával. Matematikailag a $\delta = E(\bar{Y}_D / S_{WR})$ várható értéke nagyobb mint λ , tart hozzá, de soha nem lesz λ -val egyenlő. Kérdés az, hogy akkor λ -ra vagy δ -ra adjunk, pontosabban $k^{-1}\lambda$ -ra vagy $k^{-1}\delta$ -ra adjunk eljárást. Mind a kettő logikus választás lehet, de mind a Hyslop-, mind az ABEL-algoritmus – és ennek megfelelően az útmutatók – a várható értékre, azaz δ -ra, tesznek megkötést. A következő kérdés, hogy hogyan módosítsuk a fenti ncTOST- és ncConf-algoritmusokat a Hedges-korrektció figyelembe vételével. Szerencsére a módosítás egyszerű, a hatásági θ értéket kell H_f -fel szorozni. Ez következik a 4.51 egyenletből, mert ha a $[-H_f k^{-1}\theta, H_f k^{-1}\theta]$ intervallum lefedi λ -t 90%-os biztonsággal (konfidenciával), akkor a végpontokat szorozva H_f^{-1} -gyel azt kapjuk, hogy a $[-k^{-1}\theta, k^{-1}\theta]$ intervallum lefedi a δ -t 90%-os biztonsággal. Azaz a tesztelőstratégia az, hogy λ -ra tesztelek, de δ -ra vonatkoztatva vonok le állítást. Hasonlóképpen a TOST-megközelítés alapján a

$$H_{01}: H_f k^{-1}\theta \leq \lambda \text{ és } H_{02}: -H_f k^{-1}\theta \geq \lambda \quad (4.53)$$

null hipotézisek ekvivalensek a

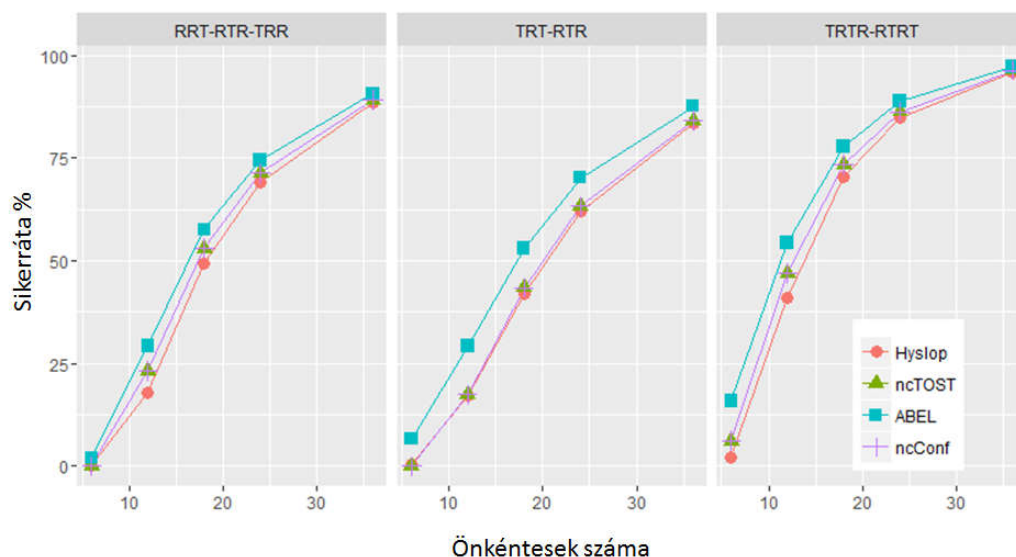
$$H_{01}: k^{-1}\theta \leq \delta \text{ és } H_{02}: -k^{-1}\theta \geq \delta \quad (4.54)$$

nullhipotézisekkel.

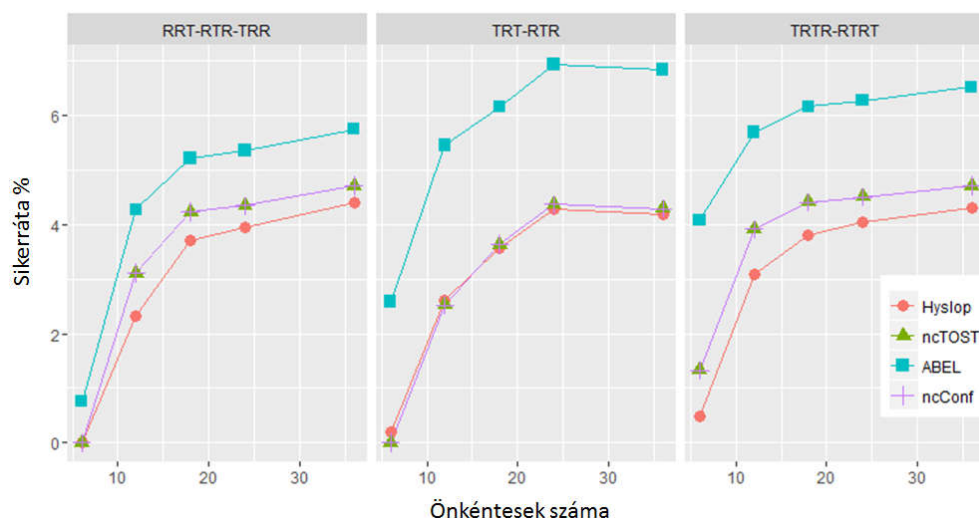
Algoritmikusan a Hedges-korrektció azt jelenti, hogy a fenti NcTOST- és NcConf-algoritmusokban a $k^{-1}\theta$ kifejezést helyettesítjük a $H_f k^{-1}\theta$ kifejezéssel. A továbbiakban, mikor az NcConf- és NcTOST-algoritmusokra hivatkozom, ez csak a Hedges-korrektciót figyelembe vevő változatra vonatkozik.

Az ABEL-, Hyslop- és Exact (NcConf és NcTOST) algoritmusok összehasonlítása szimulációval

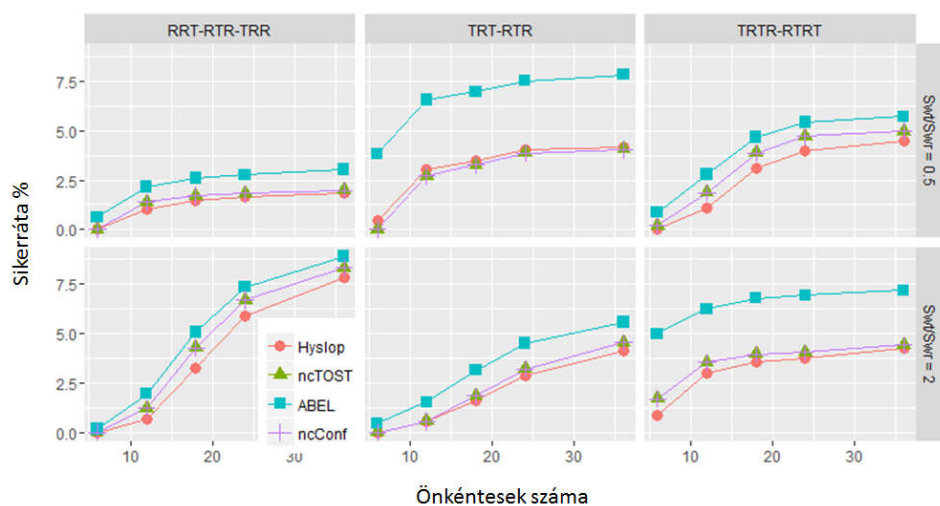
Mind a négy algoritmus tartalmaz valamilyen approximációs lépést vagy hipotézist. Ezért intenzív szimulációs vizsgálatokat végeztünk annak megállapítására, hogy ezek hogyan befolyásolják az RSABE-teszt erejét, illetve az elsőfajú hibát. A szimulációs programot R-ben írtuk, és 50 000 TRT-RTR, TRR-RTR-RRT és TRTR-RTRT elrendezésű bioekvivalencia-vizsgálatot szimuláltunk. A főbb eredményeket az alábbi négy ábra mutatja.



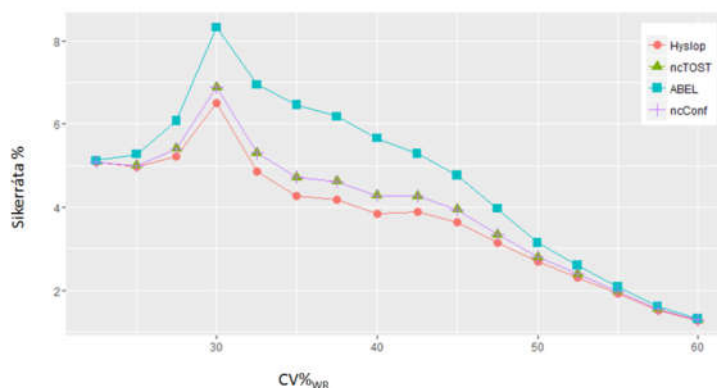
4.32 ábra. 50 000 bioekvivalencia-vizsgálatot szimuláltunk $CV_{WR} = 40\%$, $GMR = 1.05$ és feltételek mellett $N = 6, 12, 18, 24$ és 36 önkéntest feltételezve. Mindegyik vizsgálatot a fent leírt négy algoritmussal értékeltem ki. Az ábra mutatja annak a gyakoriságát, hogy a két készítményt bioekvivalensnek minősítjük. A regulációs határérték $(\theta) = 0.76$.



4.33 ábra. A fogyasztói rizikót úgy definiáljuk, mint annak valószínűségét, hogy a készítményt bioekvivalensnek minősítjük, holott nem az. Az ábra a becsült maximális fogyasztói rizikót mutatja, a rizikót, amikor $(\mu_T - \mu_R) / \sigma_{WR} = \theta$. Ez a $GMR = 1.34$ feltételnek felel meg a $CV_{WR} = 40\%$ szimulációs paraméterválasztás esetén.



4.34 ábra. A fogyasztói rizikó függése a heteroszkedaszticitástól. A szimulált vizsgálatokban a σ_{WT}/σ_{WR} arány 0.5 (felső sor) vagy 2 (alsó sor). A szimulációs feltételek a felső sorban $CV_{WR} = 30.68\%$, $CV_{WT} = 65.82\%$ (ami megfelel annak, hogy $\sigma_{WT} = 0.3$, $\sigma_{WR} = 0.6$). Az alsó sorban a feltételek $CV_{WR} = 65.82\%$, $CV_{WT} = 30.68\%$, ami megfelel annak, hogy $\sigma_{WT} = 0.6$ és $\sigma_{WR} = 0.3$. A GMR mindkét esetben 1.25.



4.35 ábra. Az EMA bioekvivalencia-útmutatója (67) az alábbi kritériumokat szabja meg arra, hogy egy bioekvivalencia-vizsgálat eredményét elfogadjuk. Ezek: ha $CV_{WR} < 30\%$, akkor $\theta = 0.223$; ha $CV_{WR} > 50\%$, akkor $\theta = 0.359$; a logGMR-értéknek mindenképpen -0.223 és 0.223 között kell lennie; ha a CV_{WR} 30% és 50% között van, az akkor vizsgálatot ABEL-algoritmussal kell kiszámolni. Az ábra mutatja a maximális fogyasztói rizikó függését CV_{WR} -től, ha a vizsgálatot az EMA-útmutató szerinti további szabályok figyelembe vételével értékeljük ki. Egyéb feltételek: $CV_{WR} = CV_{WT}$, $N = 24$, TRTR-RTTR elrendezés.

Eredményeinkből az alábbi következtetéseket lehetett levonni:

- 1- A két Exact algoritmus, az NcConf és az NcTOST, teljesen megegyező módon viselkedik a fogyasztói rizikó és statisztikai erő (sikerráta) szempontjából. (**4.32 ábra**)
- 2- Mindkét Exact algoritmus hatékonyabb, mint a jelenleg az FDA által is használt Hyslop-algoritmus. A különbség nem elhanyagolható. Például a sikerráta TRTR-RTTR elrendezés esetén, ha 12 fő vesz részt a vizsgálatban, 47.1% bármelyik Exact algoritmussal, míg a megfelelő érték 40.9% a Hyslop-algoritmus esetén. (**4.32 ábra**)
- 3- Az Exact algoritmusok és Hyslop-algoritmus esetén a fogyasztói kockázat az 5%-os határérték alatt marad. A **4.33 ábra** a $\sigma_{WT} = \sigma_{WR}$ esetet mutatja, de az Exact algoritmusban szereplő k értéke becsült. Az ABEL-módszer esetén a fogyasztói kockázat még ebben az esetben is nagyobb, mint 5%.
- 4- A fogyasztói kockázat nagyobb lehet, mint 5% két speciális esetben. Az egyik eset az, amikor CV_{WR} közelítőleg 0.3. Ekkor a „kevert” algoritmusstratégia következtében a bioekvivalencia-vizsgálatot p valószínűséggel ABE-, $1-p$ valószínűséggel pedig RSABE-kritérium szerint értékeljük ki a CHMP bioekvivalencia-útmutatóját követve. Munoz és munkatársai (68) azonban megmutatták, hogy ez a kevert kiértékelési stratégia nem szabályos, a döntési függvény nem folytonos. Ez magyarázza a teszt elsőfajú hibájának a növekedését (**4.35 ábra**). A másik eset a parciális RTR-TRR-RTR elrendezés esete. Ekkor, ha a $\sigma_{WT} > \sigma_{WR}$, az elsőfajú hiba nagyobb lehet, mint 5%, ahogy ezt a **4.34 ábra** két alsó bal panelja illusztrálja. Mindkét speciális esetben a probléma jelentkezik az ABEL- és a Hyslop-algoritmusoknál is, azaz nem algoritmikus specifikus.

Összefoglalva, az NcTOST-algoritmus egyszerűen számolható, mint az ABEL, de ugyanakkor a fogyasztói kockázat a fenti két speciális esetet leszámítva 5% alatt marad (4.33, 4.35 ábrák). Az NcConf-algoritmus az első- és másodfajú hiba szempontjából megegyezik az NcTOST-algoritmussal. Hátránya, hogy komplikáltabb számolni, előnye, hogy megadja a konfidencia-intervallumokat is.

Felmerül a kérdés, hogy az „Exact” algoritmus név mennyiben jogos, mivel a $k = \sigma_D / \sigma_{WR}$ arányt becslem, és általában nem tételezem fel, hogy $\sigma_{WR} = \sigma_{WT}$. A kérdés jogos, de valójában a k csak egy segédváltozó, amelyet azért használtunk, hogy nemcentrális T- eloszlásra normalizáljuk a RSABE-statisztikát. Bár valóban megmutatható, ha k -t becsülöm az adatokból, akkor az Exact eljárásban is felléphet egy becslésből származó plusz hibatag, de mint az utolsó három ábra eredményei mutatják, ez a hibatag kellően kicsi, és nincs érdemi hatása. Ennek oka, hogy mint ahogy a 4.49 és a 4.50 egyenletek mutatják, a pontbecslést és a határértékeket egyaránt szorzom k^{-1} -gyel. Így a k^{-1} becslési hibája mindkét értéket azonos irányba tolja el, és ezért a bioekvivalencia-döntést a k becslési hibája kevésbé befolyásolja. Az Exact elnevezést egyébként először Schall használta (59). Algoritmusunk és az összefoglaló névválasztás tükrözi, hogy az NcConf- és az NcTOST-algoritmusok a Schall által leírt „Exact” algoritmus továbbfejlesztései.

4.4.6 A mintanagyság követelményei nagyvarianciájú gyógyszerek törzskönyvezéséhez

Saját közlemény: (S5,S28)

A 2010-es új Európai Bioekvivalencia-útmutató (67) lehetővé tette a közleményünkben (S31) leírt ABEL-módszer alkalmazását, az általunk ajánlott $\theta = 0.76$ kritériummal, a HVD/P-készítmények törzskönyvezésére. Kiegészítésképpen azonban átvette a tervezett FDA-útmutatóból a GMR-megkötést, és a kierjesztés mértékét maximálta, azaz rögzítette, hogy ha a becsült $CV_{WR}\%$ nagyobb, mint 50%, akkor már nem nőhetnek tovább a hatósági határértékek. Így a [69.84% - 143.19%] a maximális konfidencia-intervallum, amit az európai útmutató megenged a GMR-értékre. Továbbá az európai útmutató, mint bizalomépítő intézkedést, átvette az FDA-tervezet útmutatójából GMR-megkötés ötletét.

A gyakorlati statisztikai munkában legfontosabb kérdés, hogy mennyi legyen egy adott bioekvivalencia-vizsgálathoz a bevonandó önkéntesek száma. Miután az EU- és USA-elvárások eltérnek, ezért két részletes táblázatot közzeltünk (S5).

Az **4.8 résztáblázat** illusztrálja ezt a munkát.

GMR	80% erő			90% erő		
	1.0	1.1	1.2	1.0	1.1	1.2

CV _{WR} %						
30%	21	38	>201	26	55	>201
35%	21	31	103	26	44	178
40%	21	28	96	26	39	>201
50%	21	27	137	27	40	>201
60%	22	28	194	29	48	>201
70%	24	31	>201	34	59	>201
80%	27	38	>201	41	76	>201

4.8 táblázat. Mintanagyság követelmény 80%-os, illetve 90%-os erő eléréshez a táblázatban feltüntetett CV_{WR}% és GMR mellett. TRT-RTR elrendezésű vizsgálat, FDA-követelményrendszer.

Hasonló, részletesebb táblázatokat szerekesztettem szimulációkból az európai követelményrendszerre. A táblázatok nemcsak a TRT-RTR, hanem a 4 periódusos RTTR-TRTR elrendezést is figyelembe vették.

A táblázatokban szereplő értékeket szimulációval határoztuk meg, mivel analitikus formula az elemszám meghatározásra a fent vázolt hatósági követelményrendszer mellett nem ismeretes. A szimulációs program megírása nem volt triviális feladat, mert a program helyességét egyfelől igazolni kellett, de ugyanakkor az optimalizálás a nagyszámú szimuláció miatt (minden egyes szám legalább 10 000 szimuláció eredménye) kiemelt jelentőséggel bírt.

4.5 Nem hagyományos készítmények bioekvivalenciája

A technológia fejlődése révén a múlt század 90-es éveiben két új, fizikai-kémiai tulajdonságaiban fundamentálisan eltérő gyógyszerkategória jelent meg, melyekre tipikusan mint „nano-” illetve „biogyszerekként” szoktak hivatkozni. Húsz év elteltével az elsőgenerációs nano- illetve biológiai gyógyszerekre a szabadalmak lejártak, és a 2010-es évek elejétől megjelent az igény, hogy a generikus gyógyszerekhez hasonlóan a nano- illetve biológiai gyógyszerek követő másolatait egyszerűsített módon törzskönyvezzék. Az egyszerűsített törzskönyvezés alapfeltétele az ilyen vonatkozású hatásági követelmények megszabása. Hatásági követelményeket, útmutatókat azonban nem lehet tapasztalat, konkrét beadványok ismerete nélkül szerkeszteni. Ezért a hatásági követelmények jelenleg egy olyan dinamikus változó követelményrendszer, amely egyfelől tükrözi az e téren felhalmozódott és a szakirodalomból elérhető tudást, illetve a hatósághoz folyamatosan érkező „másolatgyógyszerekkel” kapcsolatos, többnyire bizalmas információon alapuló tapasztalatot.

4.5.1 Szempontok a „nanogyszerek” egyszerűsített törzskönyvezéséhez

Saját közlemény: (S36)

Mint az EMA Nanomedicines Drafting Group-jának tagja számos „követő nanogyszer” törzskönyvezési követelmény meghatározásában vettem részt. A szempontokat, amelyek a követő nanogyszerek törzskönyvezéséhez szükségesek az (S36)-ben foglaltuk össze. Farmakokinetikai szempontból, amely területért a szerző volt a felelős, a fontosabb megállapítások a következők voltak:

1 – A hagyományos, orálisan adott kismolekulájú készítményeknél a technológiai paraméterek a felszívódást befolyásolják. Ezzel szemben a nanogyszerek általában adott iv. készítmények, ahol a technológiai paraméterek befolyásolják az eloszlást, és az eliminációs sebességet. Ezért a hagyományos bioekvivalencia-konceptió, amely a felszívódás mértékének és sebességének hasonló mértékén alapul, általánosságban nem alkalmazható. A vérszintek hasonlósága nem garantálja az azonos hatékonyságot és terápiás kockázatot.

2 – Az eloszlás összehasonlítása megköveteli nem klinikai és kiegészítő in-vitro vizsgálatok végzését. A hasonló eloszlás bizonyítása különösen fontos, amennyiben speciális terápiás előnyt jelent a szelektív eloszlás („tumorban felhalmozódik”). Statisztikai teszt a szervek közötti eloszlások összehasonlítására – ami nyilván egy többváltozós feladat –, azonban jelenleg nem adható, és minden egyes beadvány egyéni elbírálást igényel.

4.5.2 Biológiai és biohasonló készítmények: felírhatóság, gyógyszerelváltás, cserélhetőség

Saját közlemény: (S27, S37, S38)

Antitestválasz előidézése az adott gyógyszer ellen szinte minden biológiai gyógyszer esetében potenciális aggályként merül fel. A kezelőorvosok között gyakori vélelem az, hogy amennyiben egy adott biológiai szerrel a kezelést elkezdték, akkor nem célszerű váltani, mert ez megnövelheti a nem kívánt immunválasz esélyét a biológiai gyógyszer ellen. Ezért az alábbi fogalmakat kell megkülönböztetni:

Felírható	készítményt olyan betegnek rendeltek, aki még soha nem részesült az adott biológiai terápiában.
Gyógyszerelváltás	azonos terápiás célra az aktuálisan alkalmazott gyógyszer helyett egy másikat írnak fel.
Helyettesítés	gyógyszereszi helyettesítés a gyógyszertárban.

A helyettesítésből nyilván következik a felírhatóság, de fordítva nem. Jelenleg az EU-ban eltér, hogy mit jelent az, hogy egy készítmény biohasonló. Franciaországban például abból, hogy biohasonló következik, hogy helyettesíthető, az USA-ban állami (azaz nem szövetségi) szinten szabályozott, hogy az FDA által jóváhagyott biohasonló készítmény helyettesíthető-e a gyógyszerész által vagy nem. Magyarországon az az orvosi ajánlás az, hogy felírható, azaz ha egy beteg már szedi az adott gyógyszert, akkor már ne váltsanak. A helyettesítés azonban nincs engedélyezve, bár váltásra néha sor kerül a társadalombiztosítási támogatási és a közbeszerzési eljárások szabályai miatt. Megmutattuk, hogy statisztikai szempontból a felírhatóság megfelel a Hauck és Anderson által leírt (8) individuális bioekvivalencia (IBE) koncepciónak. Azonban a kiemelten fontos monoklonális antitestek felezési ideje hosszú, a felezési idejük akár egy hónap is lehet. További probléma a „carry-over” hatás, azaz az előző periódusban adott gyógyszer olyan hatást, tipikusan immunválaszt indukál, amely áthúzódik a következő periódusra. Ezért az IBE kiértékelésre ajánlott, három és négy periódusból álló vizsgálatok kivitelezése problémás. Ezeknél valamennyivel könnyebben kivitelezhető, a gyakorlatban egyébként igen ritkán használt, 4 szekvenciás 2 periódusú T-T, R-R, T-R, R-T elrendezés.

A helyettesítés vizsgálatokor azonban nem szabad kiindulni abból, hogy csak egyetlen egy T-készítmény van vagy lesz. Valójában legalább két T „biohasonló” készítményt, T_1 -et és T_2 -t kell feltételezni, és ezért definiáltuk a helyettesíthetőségi útvonal fogalmát mint az (R, T_1, T_2) halmaz elemeiből képzett ismétléses permutációk halmazának egy elemét. Példaképpen az $R \rightarrow T_1 \rightarrow T_2$ vagy az $R \rightarrow T_2 \rightarrow T_1$ sőt $R \rightarrow T_2 \rightarrow T_1 \rightarrow R$ is egy-egy helyettesíthetőségi útvonal. A T_1 - és a T_2 -helyettesíthetőség elbírálásához elméletileg azt kellene belátni, hogy a terápiás hatás bármely két útvonal esetén közel azonos. A biohasonló készítményeknél a helyettesíthetőségi kérdés orvosi szempontból így hangzik: Igaz-e az, hogy ha az R- készítményről a T- készítményre váltok, akkor a T-készítménnyel való kezelés kevésbé hatékonyabb? Statisztikai szempontból erre kérdésre úgy válaszolhatok, hogy figyelembe veszem azokat a sorozatokat,

ahol a beteg először R-t majd T-t, illetve fordítva előbb a T- majd az R-gyógyszert kapja. A T és T* illetve az R és R* gyógyszer azonos, a csillag csak a szekvencia megkülönböztetésére szolgál. Amennyiben T és T*, illetve az R és R* hatékonysága azonos, úgy a hatékonyság független az útvonaltól. Azaz a helyettesítési útvonalak ekvivalencia-problémáját vissza lehet vezetni arra az esetre, hogy a helyettesítési sorozatokban szereplő készítmények hatékonysága pozíciófüggetlen. Arra, hogy ezt a szép elméleti konstrukciót hogyan lehet a gyakorlatban megvalósítani az (S41) közleményben adtunk példát.

4.5.3 Antireumás biológiai gyógyszerek hatásának függése az alkalmazási sorrendtől

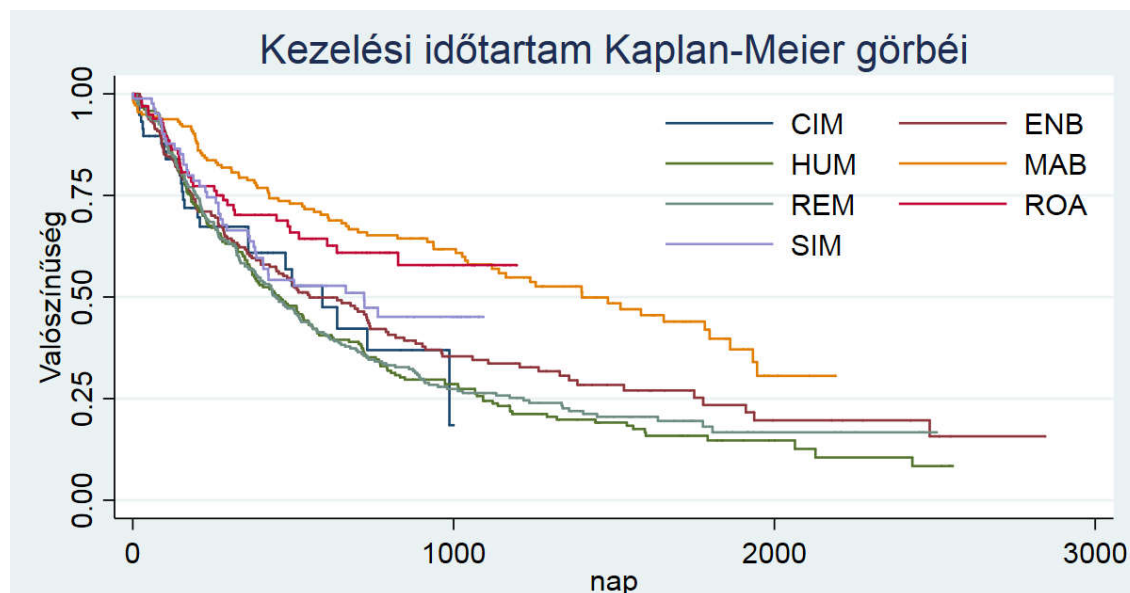
Saját közlemény: (S7)

A rheumatoid arthritis (RA) prevalenciája 0.3%–1% között van. A terápiában számos monoklonális antitestet használnak úgymint: (a szögletes zárójelben az általunk használt rövidítések) adalimumab [ADA]; certolizumab pegol [CTZ]; etanercept [ETA]; golimumab [GOL]; infliximab [INF]; rituximab [RTX]; tocilizumab [TCZ]. Az adott biológiai gyógyszerrel való kezelést nem ritkán meg kell szakítani, mert vagy elveszti hatástalanságát a kezelés, vagy mellékhatás lép fel. Azonban az, hogy egy biológiai terápiával a kezelést be kell fejezni, nem jelenti azt, hogy egy másik biológiai gyógyszer ne lenne hatásos, sőt nem ritka a további váltás. Így egy RA beteg biológiai „gyógyszerútvonala” mondjuk ETA->ADA->RTX, míg egy másiké ADA->ETA. Szekanecz és munkatársai vizsgálták (69) a kérdést, hogy milyen tényezők befolyásolják a kezelés sikerét, van-e optimális útvonal. A kapcsolat a biohasonló készítmények helyettesítési problémájával egyértelmű, a kérdés megint az, hogy függ-e a pozíciótól a hatás, azaz attól, hogy hányadszorra kapja az adott készítményt a beteg. Szekanecz és munkatársai a kérdés vizsgálatához a DEOEC Reumatológiai Tanszékén gondozott betegek regiszterében rögzített betegek adatait használták fel. Ez az adatbázis szolgált a mi kiinduló analízisünk alapjául is. A betegregiszterben 540 beteg szerepelt, a nők aránya 84.4% volt. Az adatbázisba történő átlagos felvételi életkor 53.6 év (SD = 12.8, a legfiatalabb beteg 17, a legidősebb 85 éves volt. A betegség a legtöbb páciensnél hosszabb ideje fennállt (átlag = 12.1, SD = 9.2, minimum = 1, maximum = 56 év).

Paraméter	Érték	
	Negatív/Nem	Pozitív/Igen
Rheumatoid faktor (RF, N=526 beteg)	194 (37.2%)	327 (62.8%)
Anti-CCP (N=524 beteg)	183 (35.0%)	341 (65.0%)
Glükokortikoid-használat (N=1099 kezelési periódus)	674 (61.3%)	425 (38.7%)
DMARD (N=1105 kezelési periódus)	875 (79.2%)	230 (20.8%)

4.9 táblázat. Betegek jellemzői (Betegszám vagy kezelési periódus arányában)

Az ötlet az analízishez az volt, hogy a hatásosság mértékét azzal az időtartammal mérjük, ameddig a beteg kapja kezelést. A **4.36 ábra** mutatja a kezelések időtartamának Kaplan–Meier-analízisét.



4.36 ábra. Az időben csökken annak a valószínűsége, hogy egy beteg az adott biológiai terápiát kapja. A megfigyelt valószínűségeket a Kaplan–Meier-módszer szerint számoltuk ki. A kezelés befejezésének oka lehetett a hatástalanság, mellékhatás vagy bármely egyéb ok (pl. terhesség).

A kezelések hosszának időtartamát a statisztikában használatos terminológiával, úgynevezett túlélési idő segítségével jellemezhetem. A túlélési idők elemzésére az egyik leggyakoribb módszer, a Cox-regresszió, amely a proporcionális kockázmodellen alapul. Ez egy regressziós módszer, amely lehetővé teszi, hogy a túlélést befolyásoló egyes faktorok hatását elkülönítsük, és kvantitatív módon becsljük. Cox-regresszió esetén nem a túlélési időt, hanem az azzal szoros összefüggésben levő kockázfüggvényt modellezem regressziós eszközökkel a 4.55 egyenlet formájában.

$$\frac{\log(h_i(t))}{\log(h_0)} = \beta_{i1}x_1 + \beta_{i2}x_2 \dots \dots + \beta_{in}x_n \quad (4.55)$$

Az egyenlet azt mondja, hogy az i -edik egyén relatív kockázójának logaritmusát egy választott csoport alaphazárdjához képest lineárisan függ az egyénre jellemző $j = 1..n$ darab változótól (x_i) és a populációra jellemző regressziós együtthatóktól (β_j). A becsült β_j regressziós együtthatók helyett általában azok hatványkitevős formáját (e^{β_j}) közlik, mert az könnyen interpretálható, és mutatja, hogy egységnyi változás hányszorosára növeli vagy csökkenti a relatív kockázatot. A Cox-regressziós modell lehetővé teszi az ismételt eseménnyel kapcsolatos kockáz becslését is. A Cox-regressziós analízist a **4.9 táblázatban** mutatott beteganyagon

Stata 14 (Stata Corp, TX) programcsomag segítségével végeztem el, a hatványkitevőre emelt regressziós együtthatókat a **4.10 táblázat** mutatja.

Változó	Kezelés abbahagyása hatástalanság miatt			Kezelés abbahagyása mellékhatás miatt			Kezelés abbahagyása bármilyen ok miatt		
	β	Std. Err.	p	β	Std. Err.	P	β	Std. Err.	p
Kezelési sorrend	1.272	0.087	<0.001	1.349	0.128	0.002	1.260	0.070	<0.001
Kor	1.007	0.004	0.066	1.006	0.006	0.361	1.007	0.003	0.015
Férfi	0.898	0.153	0.528	0.620	0.142	0.036	0.769	0.097	0.037
RF	1.048	0.138	0.725	0.900	0.154	0.536	1.003	0.094	0.973
anti-CCP	0.878	0.115	0.317	0.914	0.158	0.601	0.898	0.085	0.257
Szteroid +	0.931	0.108	0.537	1.112	0.183	0.519	0.985	0.084	0.856
sDMARD +	0.818	0.121	0.175	0.585	0.127	0.014	0.707	0.077	0.001
Betegség hossza	1.000	0.006	0.972	1.015	0.007	0.037	1.006	0.004	0.109
Terápiás szünet	0.604	0.116	0.009	0.829	0.207	0.454	0.730	0.088	0.009
Készítmény									
ETA	1.220	0.444	0.584	0.630	0.261	0.265	0.767	0.181	0.26
ADA	1.772	0.633	0.109	0.554	0.228	0.152	0.976	0.225	0.916
RTX	0.450	0.172	0.036	0.505	0.234	0.139	0.434	0.108	0.001
INF	1.552	0.565	0.227	1.040	0.416	0.923	1.088	0.256	0.72
TCZ	0.597	0.257	0.23	0.474	0.246	0.151	0.455	0.137	0.009
GOL	0.942	0.392	0.886	0.918	0.426	0.854	0.746	0.209	0.295

4.10 táblázat. Betegek demográfiai jellemzői a betegszám (n = 502) vagy a kezelési periódus arányában (n=1026). Kövér betű: $p < 0.05$ β – Cox kockázati regressziós modell együtthatója. ADA: adalimumab – Humira, CTZ: certolizumab pegol – Cimzia, ETA: etanercept – Enbrel, GOL: golimumab – Simponi, INF: infliximab – Remicade, RTX: rituximab – Mabthera, TCZ: tocilizumab – Ro-Actemra.

A **4.10 táblázat** adataihoz figyelembe kell venni, hogy az alap hazárdesetnek egy, a Cimziát első kezelésben kapó férfit választottunk. Így a táblázat azt mutatja, hogy a rituximab (RTX) kezelés lényegesen hatékonyabb (hosszabb ideig tart) a Cimziához képest, míg az Infliximab (INF) kevésbé hat. Ha a **4.10 táblázatban** szereplő együttható nagyobb, mint egy, akkor az adott tényező a kezelés hatásossága ellen hat. A minket érdeklő paraméter az ismétlési sorszám (első sor), ami 1.27, illetve 1.34. Azaz második adás esetén 1.27, harmadik adás esetén $1.27^2=1.61$ -szeresére nő annak a házárda, hogy a kezelés hatástalanság miatt abbamarad. Fontos hangsúlyozni, hogy ez az aránylag magas, szignifikáns növekedés nem

azért van, mert a beteg „később” kapja a 2., 3. stb. kezelést. Ez magának a váltásnak a következménye. Természetesen számos orvosi tényező lehet, ami miatt az előzetes kezelés csökkenti a követő terápia sikerét. De analízisünk megmutatta, hogy a hatás létezik, és klinikailag jelentős. Az analízis azt is megmutatta, hogy biohasznos készítmények esetén csakis a receptfelírási adatok nyomon követésével elvileg képesek leszünk a helyettesíthetőség – az előző pontban megfogalmazott – koncepciójának a bizonyítására.

5. Összefoglalás

5.1 Új tudományos eredmények

Bioekvivalencia-metrikák

- Elkülönítettem a farmakokinetikai metrika mint minőség ellenőrző paraméter és a farmakokinetikai metrika mint terápiás hatékonyságot definiáló paraméter fogalmát. Definiáltam a kinetikai szenzitivitás fogalmát.
- Megmutattam, hogy bioekvivalencia-vizsgálatokban az AUC extrapolálása szükségtelen, sőt előnytelen. Hasonlóan a C_{max}/AUC_{τ} használata észszerűbb, mint a C_{max}/AUC_{inf} .
- Megmutattam, hogy hosszú felezési idejű készítmények esetén elégséges a plazmaszintek mérése a beadást követő hetvenkét órában. Az AUC_{0-72} metrika használatát bioekvivalencia-vizsgálatokban elsőként javasoltam.
- Levezettem a T időpontban csonkolt AUC_{0-T} metrika szórásának és átlagának függését a kinetikai paraméterek eloszlási tulajdonságaiból.
- Új, magas kinetikai érzékenységu metrikák bevezetését javasoltam, mint az Intercept (I) metrika.
- Levezettem, hogy a mérési pontok számának növelésével a C_{max} , T_{max} , PTF% a kinetikai metrikák torzított becsléséhez vezet. Levezettem a T_{max} mintaeloszlását, és megmutattam, hogyan függ a T_{max} mintaeloszlása a kinetikai paraméterek eloszlásától.
- Megmutattam, hogy a pAUC (parcialis AUC) érzékenyebb metrika, mint a C_{max} .
- Példát adtam és indokoltam, hogy miért szükséges a PAUC-metrika használata módosított felszívódású készítmények bioekvivalenciájának összehasonlítására.

Keskeny terápiás indexű gyógyszerek bioekvivalenciája

- Egy egyszerű „küszöb” PK/PD-modellt használva demonstráltam, hogy az átlagtól távol eső perempopulációban a generikus váltással kapcsolatos rizikó hatványozottan jelenhet meg.
- PK/PD-összefüggést állapítottam meg a karbamazepin vérszintje és a neurológiai mellékhatások között. Igazoltam, hogy ezekhez a mellékhatásokhoz gyors tolerancia alakul ki, meghatároztam a hatás felezési idejét és az EC_{50} értéket.
- A karbamazepin példáján megmutattam, hogy keskeny terápiás indexű gyógyszerek esetén egy kiegészítő, érzékeny metrika, mint a PAUC használata észszerűbb megoldás, mint a hagyományos követelmények szűkítése.
- A karbamazepin enzimindukáló hatása miatt a karbamazepint szedő betegekben a karbamazepin kinetikája jelentősen eltér az egészséges önkéntesekétől. Megmutattam, hogy ezért az egészséges önkéntesen bizonyítottan bioekvivalens készítmények nagy valószínűséggel nem lesznek bioekvivalensek a betegpopulációban.

Individuális bioekvivalencia, bioekvivalencia-vizsgálatok genetikai analízise

- Szimulációval igazoltam, hogy az FDA által bevezetni tervezett IBE-konceptió téves statisztikai számításra alapult, az FDA által megtalálni vélt Subject x Formulation interakció statisztikai műtermék.
- Elméletileg levezettem az Egyén x Formuláció (SxF) interakciós variancia komponensének függését az egyéni belüli varianciától.
- Elméletileg és szimulációval igazoltam, hogy az IBE olyan döntési eljárás vezet, amelyben az egyéni belüli szórásnégyzetek különbsége válik a döntést determináló kritériummá, ha σ_{WR} „elég nagy”.
- Elemszámbecslést adtam, a farmakokinetikai paraméterek öröklődési komponensének meghatározására bioekvivalencia-vizsgálatokból.

Nagyvarianciájú gyógyszerek bioekvivalenciája

- A skálázott (SABE) és a referencia skálázott bioekvivalenciát (RSABE) elsőként ajánlottam a nagyváltozékonyságú gyógyszerek bioekvivalenciájának kiértékelésére.
- Kapcsolatot teremtettem a skálázott bioekvivalencia és az elsősorban a pszichológiában használt relatív hatásnagyság (effect size) Cohen-fajta d és Glass által bevezetett q mérőszámok között. A Cohen d a SABE-, a Glass q az RSABE-kritériumnak felel meg.
- Az IBE kapcsán bevezetett kevert stratégiát ajánlottam nagyvarianciájú gyógyszerek bioekvivalenciájának kiértékelésére. Megmutattam, hogy a skálázott bioekvivalencia esetén a kevert algoritmusalkalmazás megköveteli, hogy a skálázott bioekvivalencia hatásági küszöbszáma $\ln(1.25)/\sigma_0$ legyen. Nemzetközi ajánlás szerint egy készítmény nagyvarianciájú készítménynek tekinthető, ha a farmakokinetikai paraméterek egyéni belüli relatív szórása nagyobb, mint 30%. Ebből adódik, hogy a skálázott bioekvivalencia hatásági küszöbszámának kerekítve 0.76-nak kell lennie.
- Megmutattam, hogy a skálázott bioekvivalencia közelítőleg kiértékelhető a már az irodalomban ismert ABEL-módszer segítségével, de egyben hangsúlyoztam a módszer statisztikai korlátait is.
- Elsőként ajánlottam közelítő módszert az RSABE kiértékelésre. A módszer a Hyslop által IBE kiértékelésre használt módszer egyszerűsítésén alapul.
- Az ABEL-eljárás szemléletes és könnyen számolható, de fogyasztói kockázat alkalmazása esetén nagyobb, mint a megengedett 5%-os nominális érték. A Hyslop-módszer esetén a legtöbb esetben a fogyasztói kockázat a nominális 5% alatt marad, de a módszer nem optimális a gyártó szempontjából, és a teszt eredménye nem szemléletes. Ezért kifejlesztettem a nemcentrális t eloszláson alapuló ncTOST- és ncConf-algoritmusokat, amelyeknél a fogyasztói kockázat a nominális 5% marad, de mégis hatékonyabb, és könnyebben interpretálható eredményt ad, mint a Hyslop ötletén alapuló algoritmus.
- Megmutattam, hogy az RSABE-statisztika pontbecslése erősen torzított, de ez korrigálható a Hedges által bevezetett korrekciós függvény segítségével.

- Ugyanakkor rámutattam arra is, hogy jelenleg az EMA mint az FDA által ajánlott parciális RTR-RRT-TRR elrendezés olyan torzításhoz vezet, amely nem korrigálható módon növeli a fogyasztói kockázatot.
- Elemszámbecslést adtam nagyvarianciájú készítmények bioekvivalenciájának bizonyításához figyelembe véve a hatályos EMA/CHMP- és FDA-útmutatókat.
- Jelenleg a nagyvarianciájú készítményekre vonatkozó FDA- és EMA/CHMP-útmutató több pontban eltér. Megmutattam, hogy az FDA által használt regulációs kritérium fokozott fogyasztói kockázattal jár a már korábban elfogadott nemzetközi standard szerint. Továbbá a kiegészítéskeppen bevezetett pontbecslésre vonatkozó kritérium nagyobb varianciák esetén dominálja a skálázott bioekvivalencia-kritériumot, és olyan döntési szabályhoz vezet, amelynek hibája eléri az 50%-ot.

Nem hagyományos készítmények bioekvivalenciája

- Tisztáztam, hogy a nem hagyományos, nano- és biohasonló készítmények esetén a hagyományos bioekvivalencia-konceptió nem alkalmazható, mert mind az eloszlás, mind az elimináció formulációfüggő.
- Statisztikai háttérét adtam biohasonló készítmények esetén az alábbi fogalmaknak: felírhatóság, gyógyszerelváltás, helyettesíthetőség.
- Egy, a biológiai készítmények használatát rögzítő adatbázis adatait használva megmutattam, hogy a helyettesíthetőség hogyan bizonyítható, legalábbis rheumatoid arthritisben használt monoklonális antitestek esetén.
- Túlélési analízis segítségével igazoltam, hogy az átállás az egyik monoklonális antitestről a másikra, az összes külső körülményt figyelembe véve, 27%-kal növeli a terápiás kudarc kockázatát hatástalanság miatt és 35%-kal a mellékhatások miatt.

5.2 Gyakorlati hasznosítás

A bioekvivalencia-vizsgálatok kiemelt szerepet töltenek be a gyógyszerfejlesztésben. A generikus gyógyszerek ezen alapulnak, és hatósági jóváhagyás csak úgy lehetséges, ha a hatósági útmutatóban szereplő szabályoknak a bioekvivalencia-vizsgálat minden szempontból eleget tesz. A jó útmutatónak természetesen tudományosan megalapozottnak és lehetőleg egyértelműnek kell lennie, mert ez lényegében kötelező mind a gyártó, mind a hatóság számára. A gyártók részéről erős igény van a minél részletesebb útmutatóra, mert ez csökkenti a fejlesztői bizonytalanságot. Ugyanakkor egy olyan útmutató, amely észszerűtlen követelményeket támaszt, teljes mértékben visszavethet egyes fejlesztéseket. A hatóságok igyekeznek megfelelni ezen elvárásoknak, és ez nem teszi lehetővé azt, hogy a hatóság csak akkor bocsásson ki útmutatót, amikor már minden tudományos kérdés tisztázódott. Ezért a hatósági útmutatók állandó fejlődésben vannak. Az első bioekvivalencia-útmutatókat az FDA, illetve az EMA jogelődje 1992-ben bocsátotta ki (70,71). Mai szemmel ezek az útmutatók nagyon egyszerűek. Rögzítették, hogy az elfogadás feltétele, hogy az AUC_{inf} és a C_{max} konfidencia-intervalluma a 0.80–1.25 intervallumban legyen. Egyéb metrikákkal, a nagyvarianciájú készítmények problémájával, a keskeny terápiás indexű készítmények,

multifázisos komplikált felszívódású készítmények problémájával nem foglalkoztak. Ebben az időben az a kifejezés, hogy biohasonló természetesen nem is létezett. A dolgozat szerzője a bioekvivalencia koncepciójának korai formálódási szakaszában ismerkedett meg a témával a Torontói Egyetem (Kanada) Gyógyszertani Intézetében eltöltött posztdoktori éve alatt. Laszlo Endrenyi PhD témavezetése alatt. Ő úttörője volt a klinikai vizsgálatok szimulációs megközelítésének. A technika elsajátítása egyéb statisztikai eszközökkel kiegészítve lehetővé tette az elmúlt 25+ év során, hogy a bioekvivalencia számos kérdését tisztázza. Hogy ezek az elméleti eredmények mennyire hasznosultak a gyakorlatban, az nagymértékben attól függ, hogy mennyire jelentek meg a hatósági útmutatókban, illetve a gyógyszeripar gyakorlatában (S39). A hatósági útmutatók intenzív szakmai konzultációk eredményei, mert az EMA-t és az FDA-t egyaránt jogszabály és belső határozat kötelezi az egyetemi-akadémiai kutatókkal, illetve az gyártók képviselőivel való konzultációra. Az értekezés szerzője ennek a konzultációs folyamatnak nemcsak mint kutató, hanem mint hatósági képviselő is részese volt EMA/CHMP farmakokinetikai munkacsoport tagjaként. Az alábbiakban megpróbálom összefoglalni, hogy a fent felsorolt eredményeim és javaslataim hogyan jelentek meg az angolul publikált iránymutató útmutatókban [EU (18,19), USA (72,73), AUS = Ausztrália (67), CND = Kanada (74,75)].

- Csakis az AUC_{τ} -re vonatkozik döntési kritérium (EU, AUS, CND).
- Hosszú felezési idejű gyógyszerek esetén ($t_{1/2} > 24h$) a döntést a CHMP elfogadta: a vérszint követése elegendő az első 72 órában. (EU, AUS, CND)
- Módosított multifázisos készítmények esetén bevezetésre került pAUC mint egy harmadik metrika (EU, USA, AUS).
- Nagyváltozékonyságú készítmények bioekvivalenciájának kiértékelésére a skálázott átlagos bioekvivalencia módszere (SABE és RSABE) erősen csökkent a szükséges mintaszámot, az etikailag megengedhető kívánalmakat, és a generikus vállalatok költségeit (USA, EU, CND, AUS).
- Nagyvarianciájú készítmények bioekvivalenciája kiértékelhető az ABEL-algoritmussal, ahol a hatósági határértékek egy $\theta = 0.76$ értékű konstans segítségével számolható ki (EU, AUS, CND).
- Nagyvarianciájú készítmények bioekvivalenciája kiértékelhető a Hyslop-algoritmussal (USA).

Az individuális bioekvivalencia egy speciális eset, mert ezt egyedül az FDA (USA) kívánta bevezetni (29), de később ezt az útmutatót az FDA visszavonta (73). Ennek nyilván több mint egy oka volt, és az FDA sohasem adott teljes magyarázatot. De annak bizonyítása, hogy maga koncepció egy tévesen feltételezett egyén x formuláció interakción alapul, feltehetőleg komoly jelentőséggel bírhatott. Mindenesetre az individuális bioekvivalencia koncepciójának lényegében a visszavonását bejelentő útmutatóban (73) citálják az idevonatkozó cikkünket, valamint az új útmutatóval kapcsolatos FDA-meghallgatáson így utaltak az egyén x

formuláció interakcióra: „the subject by formulation interaction turned out to be an unintelligible parameter from both the agency and the exterior scientific community”(76).

Összefoglalva a metrikákkal, valamint a nagyvarianciájú gyógyszerekkel kapcsolatos eredményeim útmutatókban való megjelenését: a biztonság megtartása mellett csökkenjen a generikus gyártókra háruló teher. Ez vonatkozik az individuális bioekvivalencia koncepciójának elvetésére is, mert annak bevezetése egy szükségtelen, de egyben igen költséges követelmény lett volna. De nem minden javaslatomat fogadták el. Szűkített bioekvivalencia-intervallumok alkalmazása helyett továbbra is célszerűbbnek látnám alternatív, érzékenyebb metrikák alkalmazását keskeny terápiás szélességű gyógyszerek esetén (S19). Esetleg amikor a beteg- és az önkéntespopuláció farmakokinetikai szempontból eltér, akkor annak megkövetelését, hogy a bioekvivalenciát betegpopuláción végezzék el, vagy a követelményeket a betegpopuláció kinetikai sajátosságait figyelembe véve szabják meg. Útmutatók kiadása hosszú és bonyolult jogi procedúra. Ezért még hosszabb időnek kell eltelnie ahhoz, hogy kiderüljön, hogy tudományos publikációkban már megjelent újabb javaslataim, mint az „Exact” eljárások vagy regiszter használata biohasonló készítmények helyettesítésének eldöntésére, valaha is megjelennek-e hatósági útmutatókban.

Munkám hatását az ipari oldalra nehezebben lehet bizonyítani, mivel a generikus gyógyszergyártóknak különösebb érdekük a tudományos publicitáshoz nem fűződik. Mindenesetre például a Research Gate szerint az RSABE használatához szükséges mintaszám-táblázataimat (S5) csaknem 2000 olvasó használta. Ezeket a táblázatokat két, iparban dolgozó, szakmailag igen elismert statisztikus, Patterson és Jones iparban dolgozó statisztikusoknak szóló könyve teljes mértékben reprodukálta (26).

Az értekezéshez kapcsolódó saját közlemények listája

- S1. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Algorithms for robust nonlinear regression with heteroscedastic errors. Int J Biomed Comput. 1996;42(3):181-190.
IF: **0.562** Független idéző: **1** Összesen: **1**
- S2. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Subject-by-formulation interaction in determinations of individual bioequivalence: bias and prevalence. Pharm Res. 1999;16(2):186-190.
IF: **2.847** Független idéző: **19** Összesen: **21** Minősítés: **D1**
- S3. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Truncated AUC evaluates effectively the bioequivalence of drugs with long half-lives. Int J Clin Pharmacol Ther. 1997;35(4):142-150.
IF: **0.519** Független idéző: **29** Összesen: **33**
- S4. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Evaluation of some properties of individual bioequivalence (IBE) from replicate-design studies. Int J Clin Pharmacol Ther. 2001;39(4):162-166.
IF: **1.35** Független idéző: **8** Összesen: **9** Minősítés: **Q2**
- S5. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Sample sizes for designing bioequivalence studies for highly variable drugs. J Pharm Pharm Sci. 2012;15(1):73-84.
IF: **2.198** Független idéző: **30** Összesen: **31** Minősítés: **Q1**
- S6. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. An exact procedure for the evaluation of reference-scaled average bioequivalence. AAPS J. 2016;18(2):476-489.
IF: **3.423** Független idéző: **0** Összesen: **1** Minősítés: **D1**
- S7. Brodsky V, Biro A, Szekanecz Z, Soos B, Baji P, Rencz F, **Tothfalusi L**, Gulacsi L, Pentek M. Determinants of biological drug survival in rheumatoid arthritis: evidence from a Hungarian rheumatology center over 8 years of retrospective data. Clinicoecon Outcomes Res. 2017;9:139-147.
IF: Független idéző: **0** Összesen: **0** Minősítés: **Q1**
- S8. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Estimation of Cmax and Tmax in populations after single and multiple drug administrations. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2003;30(5):363-385.
IF: **1.625** Független idéző: **2** Összesen: **5** Minősítés: **Q2**
- S9. Endrenyi L, **Tothfalusi L**, Zha J. Metrics assessing absorption rates: principles, and determination of bioequivalence in the steady state. In: Henning H. Blume, Kamal K Midha editors. Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies International Conference of FIP "Bio-International '94" Munich, Germany,; FIP; 1994. p. 77-87.
- S10. Zha J, **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Properties of metrics applied for the evaluation of bioequivalence. Drug Information Journal. 1995;29(3):989-996.
IF: Független idéző: **7** Összesen: **15** Minősítés:
- S11. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Without extrapolation, Cmax/AUC is an effective metric in investigations of bioequivalence. Pharm Res. 1995;12(6):937-942.
IF: **2.06** Független idéző: **29** Összesen: **37** Minősítés:
- S12. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Secondary metrics for the assessment of bioequivalence. J Pharm Sci. 1997;86(3):401-402.
IF: **1.543** Független idéző: **13** Összesen: **15** Minősítés:

- S13. Endrenyi L, Blume HH, **Tothfalusi L**. The two main goals of bioequivalence studies. AAPS J. 2017;19(4):885-890.
IF: **3.423*** Független idéző: 0 Összesen: 0 Minősítés: **D1**
- S14. Endrenyi L, Csizmadia F, **Tothfalusi L**, Chen ML. Metrics comparing simulated early concentration profiles for the determination of bioequivalence. Pharm Res. 1998;15(8):1292-1299.
IF: **2.53** Független idéző: **15** Összesen: **20** Minősítés:
- S15. Ring A, **Tothfalusi L**, Endrenyi L, Weiss M. Sensitivity of empirical metrics of rate of absorption in bioequivalence studies. Pharm Res. 2000;17(5):583-588.
IF: **2.475** Független idéző: **7** Összesen: **7** Minősítés:
- S16. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Do regulatory bioequivalence requirements adequately reflect the therapeutic equivalence of modified-release drug products? J Pharm Pharm Sci. 2010;13(1):107-113.
IF: **1.914** Független idéző: **16** Összesen: **20** Minősítés: **Q1**
- S17. Kondra PM, Endrenyi L, **Tothfalusi L**. The need for additional metrics to assess therapeutic equivalence of some multiphasic modified-release products. Clin Ther. 2011;33(9):1214-1219.
IF: **2.321** Független idéző: **4** Összesen: **4** Minősítés: **Q1**
- S18. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Metrics for the evaluation of bioequivalence of modified-release formulations. AAPS J. 2012;14(4):813-819.
IF: **4.386** Független idéző: **16** Összesen: **17** Minősítés: **D1**
- S19. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Determination of bioequivalence for drugs with narrow therapeutic index: Reduction of the regulatory burden. J Pharm Pharm Sci. 2013;16(5):676-682.
IF: **1.681** Független idéző: **8** Összesen: **8** Minősítés: **Q1**
- S20. Kalow W, Ozdemir V, Tang BK, **Tothfalusi L**, Endrenyi L. The science of pharmacological variability: an essay. Clin Pharmacol Ther. 1999;66(5):445-447.
IF: **4.846** Független idéző: **21** Összesen: **35** Minősítés:
- S21. Kalow W, Ozdemir V, **Tothfalusi L**. Multigenic traits and risk assessment in pharmacology: a population approach. Pharmacogenomics J. 2001;1(4):234-236.
IF: Független idéző: **4** Összesen: **5** Minősítés:
- S22. V. Ozdemir, W. Kalow, **L. Tothfalusi**, L. Bertilsson, L. Endrenyi, J.E. Graham. Multigenic control of drug response and regulatory decision-making in pharmacogenomics: The need for an upper-bound estimate of genetic contributions. Current Pharmacogenomics. 2005(3):53 - 71.
IF: Független idéző: **12** Összesen: **27** Minősítés:
- S23. **Tothfalusi L**, Speidl S, Endrenyi L. Exposure-response analysis reveals that clinically important toxicity difference can exist between bioequivalent carbamazepine tablets. Br J Clin Pharmacol. 2008;65(1):110-122.
IF: **3.128** Független idéző: **23** Összesen: **29** Minősítés: **Q1**

- S24. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Approvable generic carbamazepine formulations may not be bioequivalent in target patient populations. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013;51(6):525-528.
IF: **1.044** Független idéző: **5** Összesen: **6** Minősítés: **Q2**
- S25. Endrenyi L, Taback N, **Tothfalusi L**. Properties of the estimated variance component for subject-by-formulation interaction in studies of individual bioequivalence. *Stat Med*. 2000;19(20):2867-2878.
IF: **1.717** Független idéző: **22** Összesen: **26** Minősítés: **Q1**
- S26. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Evaluation of bioequivalence of highly-variable drugs. *Clinical Research and Regulatory Affairs*. 2008;25(2):93–117.
IF: Független idéző: **2** Összesen: **3** Minősítés:
- S27. Chow SC, Endrenyi L, Chi E, Yang LY, **Tothfalusi L**: Statistical issues in bioavailability /bioequivalence studies. *Journal of Bioequivalence and Bioavailability*. 2011(S1):2-8
IF: Független idéző: **4** Összesen: **4** Minősítés:
- S28. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Evaluation of bioequivalence of highly variable drugs. In: Kanfer I, L Shargel, editors. *Generic Drug Product Development: Bioequivalence Issues*. CRC Press 2007. pp. 97- 122 Boca Raton, FL
- S29. **Tóthfalusi L**, Borvendég J Bioekvivalencia vizsgálatok kiértékelésének néhány problémája a nemzetközi szabályozás tükrében vizsgálva *Gyógyszereink*. 2002; 53: 168-170
- S30. **Tothfalusi L**, Endrenyi L, Arieta AG. Evaluation of bioequivalence for highly variable drugs with scaled average bioequivalence. *Clinical Pharmacokinetics*. 2009;48(11):725-743.
IF: **4.56** Független idéző: **48** Összesen: **62** Minősítés: **D1**
- S31. **Tothfalusi L**, Endrenyi L, Midha KK, Rawson MJ, Hubbard JW. Evaluation of the bioequivalence of highly-variable drugs and drug products. *Pharm Res*. 2001;18(6):728-733.
IF: **2.801** Független idéző: **52** Összesen: **64** Minősítés: **D1**
- S32. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Limits for the scaled average bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *Pharm Res*. 2003;20(3):382-389.
IF: **2.609** Független idéző: **58** Összesen: **69** Minősítés: **D1**
- S33. **Tothfalusi L**, Endrenyi L, Midha KK. Scaling or wider bioequivalence limits for highly variable drugs and for the special case of Cmax. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2003;41(5):217-225.
IF: **0.923** Független idéző: **37** Összesen: **42** Minősítés: **Q2**
- S34. Endrenyi L, **Tothfalusi L**. Regulatory conditions for the determination of bioequivalence of highly variable drugs. *J Pharm Pharm Sci*. 2009;12(1):138-149.
IF: **1.619** Független idéző: **26** Összesen: **35** Minősítés: **Q2**
- S35. **Tothfalusi L**, Endrenyi L. Algorithms for evaluating reference scaled average bioequivalence: Power, bias, and consumer risk. *Stat Med*. 2017;36(27):4378-4390.
IF: **1.861*** Független idéző: **0** Összesen: **0** Minősítés: **Q1**

- S36. Ehmann F, Sakai-Kato K, Duncan R, de la Ossa DHP, Pita R, Vidal JM, Kohli A, **Tothfalusi L**, Sanh A, Tinton S, Robert JL, Lima BS, Amati MP. Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines. *Nanomedicine*. 2013;8(5):849-856.
IF: **5.824** Független idéző: **55** Összesen: **62** Minősítés: **D1**
- S37. Endrenyi L, Chang C, Chow SC, **Tothfalusi L**. On the interchangeability of biologic drug products. *Stat Med*. 2013;32(3):434-441.
IF: **2.037** Független idéző: **12** Összesen: **16** Minősítés: **Q1**
- S38. **Tothfalusi L**, Endrenyi L, Chow SC. Statistical and regulatory considerations in assessments of interchangeability of biological drug products. *Eur J Health Econ*. 2014;15:S5-S11.
IF: **1.774** Független idéző: **26** Összesen: **26** Minősítés: **Q1**

Az értekezéshez kapcsolódó saját közlemények tudományometriai összefoglalója

Hivatkozott közlemények száma:	38
Ebből első vagy utolsó szerző:	30
Összesített IF:	69.59
Független idézők:	605*
Összes idézők:	748*
D1 minősítésű:	8
Q1 minősítésű:	10
Q2 minősítésű:	5

*MTMT által ellenőrzött, lektorált, tudományos folyóiratban vagy könyvben megjelent idézet.

Irodalomjegyzék

1. Yu A, Sun D, Li BV, Yu LX. FDA Bioequivalence Standards. Springer, New York, NY; 2014.
2. European Economic Community (EEC. Investigation of Bioavailability and Bioequivalence Legislative basis Directive 65/65/EEC as amended, Directive 75/318/EEC as amended. 1991.
3. Midha KK, Rawson MJ, Hubbard JW. The bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2005;43(10):485–98.
4. Pollard S, Nashan B, Johnston A, Hoyer P, Belitsky P, Keown P, et al. A pharmacokinetic and clinical review of the potential clinical impact of using different formulations of cyclosporin A. *Clin Ther*. 2003;25(6):1654–69.
5. Besag FM. Is generic prescribing acceptable in epilepsy? *Drug Saf*. 2000;23(3):173–82.
6. Rostami-Hodjegan A, Jackson PR, Tucker GT. Sensitivity of Indirect Metrics for Assessing “Rate” in Bioequivalence Studies—Moving the “Goalposts” or Changing the “Game.” *J Pharm Sci*. 1994; 83(11):1554–7.
7. Sheiner LB. Bioequivalence revisited. *Stat Med*. 1992;11(13):1777–88.
8. Hauck WW, Anderson S. Individual bioequivalence: what matters to the patient. *Stat Med*. 1991;10(6):959; discussion 959-960.
9. Njue C. Statistical considerations for confirmatory clinical trials for similar biotherapeutic products. *Biologicals*. 2011;39(5):266–9.
10. Crommelin DJA, Shah VP, Klebovich I, McNeil SE, Weinstein V, Flühmann B, et al. The similarity question for biologicals and non-biological complex drugs. *Eur J Pharm Sci*. 2015; 30(76):10–7.
11. Simon, Pál. FEJEZETEK AZ EGÉSZSÉGÜGYI INFORMATIKA HAZAI TÖRTÉNETÉBŐL [Internet]. Templar Stuido; Available from: http://itf.njszt.hu/23r4r23r/uploads/2015/04/EuInfo_v2x_sp.pdf
12. Ene I. Ette, Paul J. Williams. *Pharmacometrics: The Science of Quantitative Pharmacology*. Wiley, Hoboken, NJ; 2007.
13. Kanewala U, Bieman JM. Testing Scientific Software: A Systematic Literature Review. *Inf Softw Technol*. 2014;56(10):1219–32.
14. Ludwig SP, Kosinski KB, Harris J. Hatch-Waxman in the Federal Courts: From 1994–2004. *Drug Dev Ind Pharm*. 2005;31(2):215–22.
15. Carpenter D, Tobbell DA. Bioequivalence: the regulatory career of a pharmaceutical concept. *Bull Hist Med*. 2011;85(1):93–131.
16. Skelly JP. A History of Biopharmaceutics in the Food and Drug Administration 1968–1993. *AAPS J*. 2009;12(1):44–50.
17. Dobson, Sz. Az Országos Gyógyszerészeti Intézet tevékenysége a KGST gyógyszerügyi szabályozási együttműködésében. *Gyógyszereink*. 2010;60(6):97–144.

18. Guideline on the investigation of bioequivalence. [Internet]. European Medicines Agency; 2010. Available from:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf
19. Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms (EMA/CPMP/EWP/280/96 Corr1) [Internet]. European Medicines Agency; Available from:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/03/WC500140482.pdf
20. Requirements for clinical documentation for orally inhaled products (OIP) including the requirements for demonstration of therapeutic equivalence between two inhaled products for use in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in adults and for use in the treatment of asthma in children and adolescents [Internet]. European Medicines Agency; 2009. Available from:
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_001151.jsp&mid=WC0b01ac0580034cf6
21. Cook JA, Davit BM, Polli JE. Impact of Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers. *Mol Pharm.* 2010;7(5):1539–44.
22. Rowland M, PhD TNTP. *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Concepts and Applications*. Fourth edition. LWW, Philadelphia, PA; 2010.
23. Schuirmann DJ. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1987;15(6):657–80.
24. Westlake WJ. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. *J Pharm Sci.* 1972;61(8):1340–1.
25. Shein-Chung Chow, Jen-pei Liu. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. Third edition. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton FL; 2009.
26. Scott D. Patterson, Byron Jones. *Bioequivalence and Statistics in Clinical Pharmacology*. Second edition. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton FL; 2017.
27. Dieter Hauschke, Volker Steinijans, Iris Pigeot. *Bioequivalence Studies in Drug Development: Methods and Applications*. Wiley, Chichester, England; 2007
28. Schall R, Luus HG. On population and individual bioequivalence. *Stat Med.* 1993;12(12):1109–24.
29. *Guidance for Industry Average, Population, and Individual Approaches to Establishing Bioequivalence*. Food and Drug Administration; 1999.
30. Howe, W. Approximate confidence limits on the mean of $X + Y$ where X and Y are two tabled independent random variables. *J Am Stat Assoc* 1974 69(347) 789-794.
31. Hyslop T, Hsuan F, Holder DJ. A small sample confidence interval approach to assess individual bioequivalence. *Stat Med.* 2000;19(20):2885–97.

32. Zou GY, Donner A. Construction of confidence limits about effect measures: a general approach. *Stat Med*. 2008;27(10):1693–702.
33. McConnell S. *Code Complete: A Practical Handbook of Software Construction*, Second Edition. 2nd edition. Microsoft Press; Redmond, Wash: 2004.
34. Oliveira S, Stewart DE. *Writing Scientific Software: A Guide to Good Style*. 1 edition. Cambridge University Press; Cambridge; New York: 2006.
35. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicine Agency; 2009.
36. Choi L, Caffo B, Rohde C. Optimal sampling times in bioequivalence studies using a simulated annealing algorithm. *Stat Comput*. 2007;17(4):337–47.
37. Martinez MN, Jackson AJ. Suitability of various noninfinity area under the plasma concentration-time curve (AUC) estimates for use in bioequivalence determinations: relationship to AUC from zero to time infinity (AUC0-INF). *Pharm Res*. 1991;8(4):512–7.
38. Romero AJ, Bon C, Johnson E, Rosenbaum SE, Rhodes CT. Dse and Limitations of the Truncated Area Under the Curve in Bioequivalence Testing. *Clin Res Pract Drug Regul Aff*. 1990, 8(2):123–51.
39. Midha KK, Hubbard JW, Rawson M, Gavalas L. The application of partial areas in assessment of rate and extent of absorption in bioequivalence studies of conventional release products: experimental evidence. *Eur J Pharm Sci*. 1994;2(5):351–63.
40. Peter L. Bonate *Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation*. Second Edition. Springer, New York, NY; 2011.
41. Bois FY, Tozer TN, Hauck WW, Chen ML, Patnaik R, Williams RL. Bioequivalence: performance of several measures of extent of absorption. *Pharm Res*. 1994;11(5):715–22.
42. Gaudreault J, Potvin D, Lavigne J, Lalonde RL. Truncated area under the curve as a measure of relative extent of bioavailability: evaluation using experimental data and Monte Carlo simulations. *Pharm Res*. 1998;15(10):1621–9.
43. Endrenyi L, Fritsch S, Yan W. Cmax/AUC is a clearer measure than Cmax for absorption rates in investigations of bioequivalence. *Int J Clin Pharmacol*. 1991;29(10):394–9.
44. Endrenyi L, Al-Shaikh P. Sensitive and specific determination of the equivalence of absorption rates. *Pharm Res*. 1995;12(12):1856–64.
45. Reppas C, Lacey LF, Keene ON, Macheras P, Bye A. Evaluation of different metrics as indirect measures of rate of drug absorption from extended release dosage forms at steady-state. *Pharm Res*. 1995;12(1):103–7.
46. Chen M-L. An Alternative Approach for Assessment of Rate of Absorption in Bioequivalence Studies. *Pharm Res*. 1992;9(11):1380–5.
47. González MA, Pentikis HS, Anderl N, Benedict MF, DeCory HH, Dirksen SJH, et al. Methylphenidate bioavailability from two extended-release formulations. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2002;40(4):175–84.

48. Yacobi A, Zlotnick S, Colaizzi JL, Moros D, Masson E, Abolfathi Z, et al. A multiple-dose safety and bioequivalence study of a narrow therapeutic index drug: a case for carbamazepine. *Clin Pharmacol Ther.* 1999;65(4):389–94.
49. Crawford P, Feely M, Guberman A, Kramer G. Are there potential problems with generic substitution of antiepileptic drugs? *Seizure.* 2006;15(3):165–76.
50. Neuvonen PJ. Bioavailability and central side effects of different carbamazepine tablets. *Int J Clin Pharmacol.* 1985;23(4):226–32.
51. Olling M, Mensinga TT, Barends DM, Groen C, Lake OA, Meulenbelt J. Bioavailability of carbamazepine from four different products and the occurrence of side effects. *Biopharm Drug Dispos.* 1999;20(1):19–28.
52. Hastie T, Tibshirani R. Generalized Additive Models: Some Applications. *J Am Stat Assoc.* 1987;82(398):371–86.
53. Karalis V, Macheras P. Pharmacodynamic considerations in bioequivalence assessment: comparison of novel and existing metrics. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci.* 2003 ;19(1):45–56.
54. Kudriakova TB, Sirota LA, Rozova GI, Gorkov VA. Autoinduction and steady-state pharmacokinetics of carbamazepine and its major metabolites. *Br J Clin Pharmacol.* 1992;33(6):611–5.
55. Casella G, Berger RL. *Statistical Inference.* Second edition, Duxbury Press; Belmont, CA; 2011.
56. Ozdemir V, Kalow W, Tang BK, Paterson AD, Walker SE, Endrenyi L, et al. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics.* 2000;10(5):373–88.
57. Haidar SH, Davit B, Chen M-L, Conner D, Lee L, Li QH, et al. Bioequivalence approaches for highly variable drugs and drug products. *Pharm Res.* 2008;25(1):237–41.
58. Davit BM, Conner DP, Fabian-Fritsch B, Haidar SH, Jiang X, Patel DT, et al. Highly variable drugs: observations from bioequivalence data submitted to the FDA for new generic drug applications. *AAPS J.* 2008;10(1):148–56.
59. Schall R. Assessment of individual and population bioequivalence using the probability that bioavailabilities are similar. *Biometrics.* 1995;51(2):615–26.
60. Rom DM, Hwang E. Testing for individual and population equivalence based on the proportion of similar responses. *Stat Med.* 1996;15(14):1489–505.
61. Boddy AW, Snikeris FC, Kringle RO, Wei GC, Oppermann JA, Midha KK. An approach for widening the bioequivalence acceptance limits in the case of highly variable drugs. *Pharm Res.* 1995;12(12):1865–8.
62. Glass GV, McGaw B, Smith ML. *Meta-Analysis in Social Research.* First edition. SAGE Publications, Beverly Hills CA; 1981.

63. Davit BM, Chen M-L, Conner DP, Haidar SH, Kim S, Lee CH, et al. Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. *AAPS J.* 2012;14(4):915–24.
64. Panik M. *Advanced Statistics from an Elementary Point of View- First Edition.* Elsevier, Burlington MA; 2005
65. Kelley, K. Confidence Intervals for Standardized Effect Sizes: Theory, Application, and Implementation. *J Stat Softw.* 2007;20(8):1–24.
66. Hedges LV. Distribution Theory for Glass's Estimator of Effect size and Related Estimators. *J Educ Stat.* 1981;6(2):107–28.
67. Guideline on the Investigation of Bioequivalence (as adopted by TGA) [Internet]. Therapeutic Goods Administration. Department of Health (Australia); Available from: <https://www.tga.gov.au/clinical-efficacy-and-safety-guidelines>
68. Muñoz J, Alcaide D, Ocaña J. Consumer's risk in the EMA and FDA regulatory approaches for bioequivalence in highly variable drugs. *Stat Med.* 2016;35(12):1933–43.
69. Szekanecz Zoltán; Váncsa Andrea; Soós Boglárka; Szabó Zoltán; Szamosi Szilvia; Bodnár Nóra; Gulyás Katalin; Horváth Ágnes; Németh Ágnes; Gaál Veronika; Pethő Zsófia; Szűcs Gabriella; Szántó Sándor. Biológiai terápia váltások rheumatoid arthritisben – a személyre szabott orvoslás útján. *Immunológiai Szemle.* 2012(4):29–39.
70. The Division of Bioequivalence, Office of Generic Drugs, FDA. Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design [Internet]. 1992. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072878.pdf>
71. Note for guidance: investigation of bioavailability and bioequivalence. Committee for Proprietary Medicinal Products, EMEA; 1991.
72. Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Considerations. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2000.
73. Guidance for Industry Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2001.
74. Conduct and Analysis of Comparative Bioavailability Studies [Internet]. Health Canada; 2012. Available from: https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/dhp-mps/alt_formats/pdf/prodpharma/applic-demande/guide-ld/bio/gd_cbs_ebc_ld-eng.pdf
75. Policy on Bioequivalence Standards for Highly Variable Drug Products [Internet]. Therapeutic Products Directorate, Health Canada; 2016. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/announcements/notice-policy-bioequivalence-standards-highly-variable-drug-products.html>

76. Background Information for Advisory Committee Meeting October 6, 2006 [Internet]. U.S. Food and Drug Administration; Available from:
<https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/cder06.html#PharmScience>