

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΙΡΑΙΩΣ



ΤΜΗΜΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΙΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ
ΚΑΙ
ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΑ p -values**

Σταυρούλα Ν. Πουλοπούλου

Διπλωματική Εργασία

που υποβλήθηκε στο Τμήμα Στατιστικής και
Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου
Πειραιώς ως μέρος των απαιτήσεων για την
απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος
Ειδίκευσης στην Εφαρμοσμένη Στατιστική

Πειραιάς
Ιούλιος 2004

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΕΙΡΑΙΩΣ



ΤΜΗΜΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΙΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ
ΚΑΙ
ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΑ p -values**

Σταυρούλα Ν. Πουλοπούλου

Διπλωματική Εργασία

που υποβλήθηκε στο Τμήμα Στατιστικής και
Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου
Πειραιώς ως μέρος των απαιτήσεων για την
απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος
Ειδίκευσης στην Εφαρμοσμένη Στατιστική

Πειραιάς
Ιούλιος 2004

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εγκρίθηκε ομόφωνα από την Τριμελή Εξεταστική Επιτροπή που ορίστηκε από τη ΓΣΕΣ του Τμήματος Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Πειραιώς στην υπ' αριθμ. συνεδρίασή του σύμφωνα με τον Εσωτερικό Κανονισμό Λειτουργίας του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών στην Εφαρμοσμένη Στατιστική

Τα μέλη της Επιτροπής ήταν:

- Τάκης Παπαϊωάννου, (Επιβλέπων)
- Ουρανία Δαφνή,
- Μαρία Κατέρη

Η έγκριση της Διπλωματικής Εργασίας από το Τμήμα Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Πειραιώς δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

UNIVERSITY OF PIRAEUS



DEPARTMENT OF STATISTICS
AND INSURANCE SCIENCE

POSTGRADUATE PROGRAM IN
APPLIED STATISTICS

**BIOEQUIVALENCE STUDIES
AND
GENERALIZED p -values**

By

Stavroula N. Pouloupoulou

MSc Dissertation

submitted to the Department of Statistics and
Insurance Science of the University of Piraeus in
partial fulfillment of the requirements for the
degree of Master of Science in Applied Statistics

Piraeus, Greece
July 2004

*Στους φίλους
που με άντεξαν*

Ευχαριστίες

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της εργασίας αυτής.

Στον κ. Τάκη Παπαϊωάννου, Καθηγητή του Τμήματος Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Πειραιά, που με παρότρυνε να ασχοληθώ με μελέτες βιοϊσοδυναμίας και δέχτηκε να αναλάβει την επίβλεψη της διπλωματικής μου εργασίας.

Στην κ. Ουρανία Δαφνή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Νοσηλευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την συμμετοχή της στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Στην κ. Μαρία Κατέρη, Επίκουρη Καθηγήτρια του τμήματος Στατιστικής και ασφαλιστικής επιστήμης του Πανεπιστημίου Πειραιά, για την συμμετοχή της στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Για την πρακτική και ηθική υποστήριξη ευχαριστώ θερμά τους φίλους και συμφοιτητές μου Αναστασία Ελευθεράκη και Γιώργο Μακρυνιώτη. Καθώς και τον αδελφό μου Παναγιώτη που με φροντίδα διάβασε το κείμενο και μου υπέδειξε γλωσσικές διορθώσεις. Τέλος ευχαριστώ ιδιαίτερα την φίλη μου Έλλη, τόσο για την βοήθεια που μου προσέφερε στην μετάφραση ξένων ορολογιών και κειμένων, όσο και για την ηθική και ψυχολογική της υποστήριξη.

Σταυρούλα Πουλοπούλου

Ιούλιος 2004

Περίληψη

Ο σκοπός των μελετών βιοϊσοδυναμίας είναι η αποτίμηση της βιοϊσοδυναμίας δυο προϊόντων, όπου για την αποτίμηση αυτή χρησιμοποιούνται βασικοί φαρμακευτικοί παράμετροι όπως AUC, C_{max} και t_{max} . Στόχος των μελετών αυτών είναι η διερεύνηση της "ισοδυναμίας" των περιθώριων κατανομών των φαρμακοκινητικών αποκρίσεων για τα δυο προϊόντα, η οποία πραγματοποιείται κυρίως με την σύγκριση των μέσων τιμών των φαρμακοκινητικών αυτών αποκρίσεων κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας ή της λογαριθμοκανονικότητας. Αρκετοί μέθοδοι έχουν προταθεί για την αποτίμηση της **μέσης βιοϊσοδυναμίας**, οι οποίες κυρίως βασίζονται στην σύγκριση των μέσων τιμών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων κάτω από την υπόθεση ίσων διακυμάνσεων των φαρμακοκινητικών παραμέτρων των δυο προϊόντων. Σε αυτήν την εργασία προτείνουμε την εφαρμογή της ιδέας των **γενικευμένων p -values**, που προτάθηκε από τους Tsui και Weerahandi το 1989, σε προβλήματα ελέγχου μέσης βιοϊσοδυναμίας για την παραγωγή ελέγχων σύγκρισης της μέσης βιοδιαθεσιμότητας στην περίπτωση άνισων διακυμάνσεων. Γενικότερα στην εργασία αυτή παρουσιάζουμε ακριβείς τρόπους αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας για τους δυο βασικούς σχεδιασμούς των μελετών βιοϊσοδυναμίας, τον παράλληλο και τον διασταυρούμενο σχεδιασμό στις περιπτώσεις που οι φαρμακοκινητικές αποκρίσεις ακολουθούν κανονική ή λογαριθμοκανονική κατανομών με ίσες ή άνισες διακυμάνσεις.

Abstract

The aim of the bioequivalence studies is the evaluation of the bioequivalence of two products. For this evaluation are used basic pharmaceutical parameters such as AUC, C_{\max} and t_{\max} . What we envisage in these studies is the investigation of the "equivalence" of the marginal distributions of the pharmacokinetics responses for the two products, which is made mainly by the comparison of the average values of these certain pharmacokinetic responses under the normality or lognormality assumption. Many methods are suggested for the evaluation of the **average bioequivalence**, which are mainly based on the comparison of the average values of the pharmacokinetics parameters under the assumption of equal variances of the pharmacokinetics parameters of the two products. In this thesis, we propose to apply the idea of the **generalized p-values**, that was suggested by Tsui and Weerahandi in 1989, in testing problems of the average bioequivalence for the production of comparison tests of the average bioavailability in the case of unequal variances. Generally, in this thesis we present exact ways of the average bioequivalence evaluation for the two basic bioequivalence studies designs; the parallel and crossover design, in the cases where the pharmacokinetics responses follow normal or lognormal distribution with equal or unequal variances.

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Ιστορία των μελετών βιοϊσοδυναμίας,	1
1.2 Μορφές – Δόσεις – Τρόποι χορήγησης	2
1.3 Φαρμακοκινητικοί Παράμετροι.	3
1.4 Προσδιορισμός Βιοϊσοδυναμίας.	5
1.5 Κλινικά Σημαντικές Διαφορές – Κανόνες Απόφασης.	8
1.6 Στατιστική θεώρηση.	9
1.6.1 Επιλογή μοντέλου και υπόθεση κανονικότητας.	9
1.6.2 Εντός και μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα.	10
1.6.3 Διαστηματική Υπόθεση και Τεστ δυο μονόπλευρων υποθέσεων (<i>TOST test</i>).	11
1.6.4 Σχεδιασμοί Μελετών Βιοϊσοδυναμίας.	14
2. ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΑ p-values	17
2.1 Εισαγωγή	17
2.2 Παραγωγή γενικευμένων ποσοτήτων.	20
2.3 Εφαρμογές των γενικευμένων p-values	21
2.3.1 Σύγκριση των μέσων τιμών δυο κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις - Πρόβλημα των BEHRENS & FISHER.	21
2.3.2 Λόγος δυο μέσων τιμών κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις - Πρόβλημα του Fieller.	24
2.3.3 Έλεγχος της μέσης τιμής λογαριθμοκανονικής κατανομής.	28
2.3.4 Έλεγχος της μέσης τιμής δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών.	30
3. ΠΑΡΑΛΛΗΛΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (PARALLEL DESIGN)	35
3.1 Περιγραφή παράλληλου σχεδιασμού και σύγκριση με τον διασταυρούμενο.	35
3.2 Υπόθεση κανονικότητας.	37
3.2.1 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση κανονικών κατανομών ίσων διακυμάνσεων σ^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.	37
3.2.2 Έλεγχος ίσων διακυμάνσεων μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.	40
3.2.3 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις σ_T^2 , σ_R^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.	40

3.3	Υπόθεση λογαριθμοκανονικότητας.	43
3.3.1	Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση λογαριθμοκανονικών κατανομών ίσων διακυμάνσεων σ^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.	44
3.3.2	Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση λογαριθμοκανονικών κατανομών με άνισες διακύμανσης σ_T^2 , σ_R^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.	46
4.	ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (CROSSOVER DESIGN)	51
4.1	Περίοδος Εξάλειψης και Μεταφερόμενες επιδράσεις.	52
4.2	Στατιστικό Μοντέλο - Διασταυρούμενος σχεδιασμός για δυο μορφές ενός φαρμάκου.	53
4.3	Υπόθεση κανονικότητας.	55
4.3.1	Στατιστική συμπερασματολογία για τις επιδράσεις σε ένα τυπικό 2x2 διασταυρούμενο σχεδιασμό.	58
4.3.1.1	Μεταφερόμενες επιδράσεις των φαρμάκων.	58
4.3.1.2	Κύρια επίδραση του φαρμάκου.	61
4.3.1.3	Επίδραση της περιόδου.	64
4.3.1.4	Ανάλυση διακύμανσης	65
4.3.2	Στατιστικοί μέθοδοι για την σύγκριση της μέσης βιοδιαθεσιμότητας.	67
4.3.2.1	Μέθοδος εύρεσης διαστήματος εμπιστοσύνης.	70
4.3.2.2	Μέθοδος διαστηματικών ελέγχων υποθέσεων (<i>interval hypotheses testing</i>).	72
4.3.3	Μεταβλητότητα και διαδικασίες απόφασης.	73
4.4	Υπόθεση λογαριθμοκανονικότητας.	76
4.4.1	Πολλαπλασιαστικό (ή λογαριθμικό) μοντέλο.	76
4.4.2	Ποσότητες βιοϊσοδυναμίας.	77
4.4.3	Αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στηριζόμενοι στο λόγο των κύριων επιδράσεων των δυο μορφών	80
4.4.4	Αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στηριζόμενοι στο λόγο των περιθώριων μέσων των δυο μορφών	81
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	87
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	92

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο :

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορία των μελετών βιοϊσοδυναμίας

Ο όρος **βιοδιαθεσιμότητα** προέρχεται από την έκφραση βιολογική διαθεσιμότητα ενός φαρμάκου και ορίζεται ως ο ρυθμός και η έκταση σύμφωνα με τα οποία το ενεργό συστατικό ή το θεραπευτικό τμήμα απορροφάται και γίνεται διαθέσιμο στο σημείο δράσης του φαρμάκου. Επομένως **μελέτες σύγκρισης βιοδιαθεσιμότητας** ονομάζονται οι μελέτες οι οποίες αναφέρονται στην σύγκριση των βιοδιαθεσιμοτήτων διαφορετικών μορφών (*formulations*) του ίδιου φαρμάκου ή διαφορετικών φαρμάκων ή φαρμακευτικών προϊόντων.

Πριν συνεχίσουμε στο να δώσουμε τον ορισμό την βιοϊσοδυναμίας και την σχετική ορολογία καλό είναι να αναφερθούμε στις διαφορετικές φαρμακευτικές σχέσεις μεταξύ δυο προϊόντων. Δυο φαρμακευτικά προϊόντα θεωρούνται **φαρμακευτικά ισοδύναμα** εάν περιέχουν το ίδιο ακριβώς ποσό της ίδιας ή των ίδιων ενεργών συστατικών, άσχετα αν προέρχονται από διαφορετικούς παρασκευαστές. Ενώ δυο φαρμακευτικά προϊόντα ονομάζονται **φαρμακευτικά εναλλακτικά** αν και τα δυο περιέχουν την ίδια θεραπευτική ουσία αλλά όχι υποχρεωτικά στην ίδια ποσότητα. Επομένως δυο φάρμακα θεωρούνται **βιοϊσοδύναμα** αν είναι φαρμακευτικά ισοδύναμα ή φαρμακευτικά εναλλακτικά και αν ο ρυθμός και η έκταση της απορρόφησης τους δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές όταν χορηγούνται σε ίδια ποσότητα και κάτω από τις ίδιες συνθήκες.

Η έναρξη των μελετών απορρόφησης ενός εξωγενούς δοτού παρασκευάσματος εντοπίζεται πίσω στο 1912, ενώ η ιδέα της βιοδιαθεσιμότητας παρουσιάστηκε 30 χρόνια μετά, το 1945. Τα τελευταία χρόνια παρουσιάστηκαν δυο νέες κατηγορίες φαρμάκων τα "*ουσιωδώς όμοια*" (*essentially similar*) φάρμακα, τα οποία περιέχουν την ίδια δραστική ουσία και είναι βιοϊσοδύναμα, και τα φάρμακα "*generics*" τα οποία

παρασκευάζονται από εταιρείες διαφορετικές από εκείνη που παρήγαγε το πρωτότυπο προϊόν (*innovator*). Για τις δυο αυτές κατηγορίες φαρμάκων συνήθως δεν απαιτούνται εγκρίσεις του τύπου “νέο προϊόν, νέα αίτηση, πλήρης φάκελος”, οι οποίες απαιτούν μεγάλης κλίμακας δοκιμές με στόχο την αποτίμηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας, ούτε και ανάλυση πλεονεκτήματος – κινδύνου (*benefit – risk*) για το φαρμακευτικό προϊόν. Απαιτούνται όμως μελέτες βιοϊσοδυναμίας.

Από τις αρχές του 1970 μέχρι σήμερα η εξέλιξη των μελετών βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας μπορεί να χωριστεί σε τρεις φάσεις. Στην πρώτη φάση από το 1970 μέχρι το 1984 ο παγκόσμιος οργανισμός φαρμάκων (FDA) ενέκρινε μόνο generics φάρμακα μέσω μελετών βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας. Η δεύτερη φάση ξεκίνησε από το 1984 μέχρι το 1992 όπου ο παγκόσμιος οργανισμός φαρμάκων (FDA) εξέδωσε οδηγό με τις στατιστικές διαδικασίες που πρέπει να χρησιμοποιούνται σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας διασταυρούμενο σχεδιασμό δυο θεραπειών (*Two – Treatment Crossover Design*). Τέλος στην τρίτη φάση από το 1992 μέχρι σήμερα αναπτύχθηκε η ιδέα της πληθυσμιακής (*population*) και της ατομικής (*individual*) βιοϊσοδυναμίας.

1.2 Μορφές – Δόσεις – Τρόποι χορήγησης

Όταν ένα φάρμακο δίνεται σε έναν ανθρώπινο οργανισμό το φάρμακο γενικά περνάει από τη φάση απορρόφησης (*absorption phase*), στη φάση διανομής (*distribution phase*), τη φάση μεταβολισμού (*metabolism phase*) και τελικά στη φάση εξάλειψης (*elimination phase*) μέσα στο σώμα. Επειδή τα κλινικά αποτελέσματα συνδέονται με τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας ενός φαρμάκου στο αίμα ή στο πλάσμα του αίματος, οι πληροφορίες για την βιοδιαθεσιμότητα είναι χρήσιμες για την αποτίμηση της δραστηριότητας και της ασφάλειας του φαρμάκου. Η βιοδιαθεσιμότητα συνήθως καθορίζεται από κάποιες φαρμακοκινητικές παραμέτρους, οι οποίες μπορούν να εκτιμηθούν από την συγκέντρωση του αίματος ή την καμπύλη πλάσματος και συχνά εξαρτώνται από την μορφή της δόσης και τον τρόπο διαχειρισής της.

Στην φαρμακοκινητική βιομηχανία, όταν ένα φάρμακο ανακαλύπτεται είναι σημαντικό να σχεδιαστεί μια κατάλληλη μορφή δόσης έτσι ώστε να διανέμονται στο σώμα αποτελεσματικότερα και ευνοϊκότερα τα θεραπευτικά αποτελέσματα του. Οι συνηθέστερες μορφές δόσεις είναι τα δισκία, δισκία λεπτού υμενίου, κάψουλες, πόσιμη μορφή και εναισίμη μορφή. Οι τρόποι χορήγησης μιας δόσης μπορεί να επηρεάσουν

επίσης την βιοδιαθεσιμότητα ενός φαρμάκου. Για το λόγο αυτό υπάρχουν αρκετοί δυνατοί τρόποι χορήγησης ενός φάρμακου σε έναν ανθρώπινο οργανισμό, οι οποίοι μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε ενδοαγγυακοί και εξωαγγυακοί. Επομένως επειδή διαφορετικές μορφές και δίοδοι δόσεων μπορεί να επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα ενός φαρμάκου, μια μελέτη σύγκρισης βιοδιαθεσιμότητας (μελέτη βιοϊσοδυναμίας) θα πρέπει να περιλαμβάνει και συγκρίσεις μεταξύ διαφορετικών μορφών δόσης του ίδιου φαρμάκου, generics φαρμάκων και του πρωτότυπου φαρμάκου, τα οποία περιέχουν την ίδια ποσότητα ενεργού συστατικού.

1.3 Φαρμακοκινητικοί Παράμετροι

Σε μια μελέτη σύγκρισης βιοδιαθεσιμοτήτων η συγκέντρωση του ενεργού συστατικού ενός φάρμακου στο αίμα ή στο πλάσμα του αίματος (*time curve*) χρησιμοποιείται για την μελέτη της απορρόφησης και εξάλειψης του φαρμάκου. Η συγκέντρωση αυτή ορίζεται ως η μάζα του ενεργού συστατικού προς τον όγκο στον οποίο περιέχεται η μάζα αυτή και μπορεί να καθοριστεί παίρνοντας δείγματα αίματος αμέσως πριν και σε ποικίλα χρονικά σημεία μετά την χορήγηση του φαρμάκου. Η κατανομή της συγκέντρωσης του ενεργού συστατικού ενός φάρμακου στο αίμα ή στο πλάσμα του αίματος μελετάται από τις μέσες τιμές πολλών φαρμακοκινητικών παραμέτρων, όπως η περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του αίματος (*time curve*) AUC, η μέγιστη συγκέντρωση του αίματος C_{max} και το χρονικό σημείο που επιτυγχάνεται η μέγιστη συγκέντρωση t_{max} . Βασική σχέση (ή συνάρτηση) η οποία προσδιορίζει αυτούς τους φαρμακοκινητικούς παραμέτρους είναι η:

$$C = C(t) \quad \text{ή} \quad C = C(t, D)$$

όπου C είναι η συγκέντρωση του ενεργού συστατικού του φαρμάκου στο αίμα ή το πλάσμα του αίματος την χρονική στιγμή t και D η δόση του φαρμάκου. Η συνάρτηση C(t) θεωρείται αρνητικής εκθετικής μορφής, δηλαδή ae^{-bt} , όπου a, b θετικές σταθερές. Για παράδειγμα, για το μοντέλο single – compartment λαμβάνοντας υπόψη τις διάφορες φάσεις της πορείας του φαρμάκου στο σώμα έχει προταθεί το μοντέλο:

$$C(t) = \frac{k_a \cdot F \cdot D_o}{V(k_a - k_e)} \cdot (e^{-k_e t} - e^{-k_a t})$$

όπου k_a και k_e είναι οι σταθερές των ρυθμών (*rate constants*) της απορρόφησης (*absorption*) και της εξάλειψης (*elimination*) αντίστοιχα, D_o το ποσό της δόσης που χορηγείται τη χρονική στιγμή $t = 0$, V ο όγκος διανομής και F το κλάσμα της δόσης που φτάνει στο κυκλοφορικό σύστημα (*systemic circulation*). Με βάση το μοντέλο αυτό τα t_{max} και C_{max} δίνονται από τους τύπους :

$$t_{max} = \frac{2,303}{k_a - k_e} \cdot \log\left(\frac{k_a}{k_e}\right)$$

$$C_{max} = \frac{k_a \cdot F \cdot D_o}{V(k_a - k_e)} \cdot (e^{-k_e t_{max}} - e^{-k_a t_{max}})$$

Συχνότερα, για τον υπολογισμό του βαθμού της απορρόφησης ή του ολικού ποσού του φαρμάκου που απορροφήθηκε από το σώμα μέχρι τη χρονική στιγμή t_k χρησιμοποιείται η περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του αίματος (*Area Under Curve*):

$$AUC_{t_k} = \int_0^{t_k} C(t) dt$$

Πολλές είναι οι μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό αυτού, όπως η μέθοδο της γραμμικής παρεμβολής όπου με την βοήθεια του τραπεζοειδή κανόνα αν $C_0, C_1, C_2, \dots, C_k$ οι συγκεντρώσεις του ενεργού συστατικού του φαρμάκου στο αίμα ή το πλάσμα του αίματος που λαμβάνουμε τις χρονικές στιγμές $t_0, t_1, t_2, \dots, t_k$ τότε έχουμε :

$$AUC_{t_k} = \sum_{i=1}^k \left(\frac{C_{i-1} + C_i}{2} \right) (t_i - t_{i-1}) \quad (\text{Chow και Liu 1992})$$

Το AUC όμως θα πρέπει να το υπολογίζουμε από την χρονική στιγμή μηδέν μέχρι το άπειρο. Το AUC σε αυτήν την περίπτωση συμβολίζεται με AUC_{∞} και είναι το:

$$AUC_{\infty} = \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (\text{area under curve})$$

$$= \int_0^{t_k} C(t) dt + \int_{t_k}^{\infty} C(t) dt$$

$$= AUC_{t_k} + \text{Εμβαδόν}_{(t_k \rightarrow \infty)}$$

Αν υποθέσουμε ότι κατά την περίοδο εξάλειψης (*elimination*) η συγκέντρωση $C(t)$ δίνεται από την σχέση:

$$C(t) = C_0 e^{-k_e t}$$

όπου C_0 η αρχική συγκέντρωση ή η συγκέντρωση στο τελευταίο t_{max} . Έτσι το Εμβαδόν $(t_k \rightarrow \infty)$ μπορεί να υπολογισθεί από την σχέση:

$$\text{Εμβαδόν}_{(t_k \rightarrow \infty)} = \int_{t_k}^{\infty} C_0 e^{-k_e t} dt = \frac{C_0 e^{-k_e t}}{k_e} = \frac{C_k}{k_e},$$

οπότε μια εκτίμηση του εμβαδού αυτού προκύπτει αντικαθιστώντας το k_e με έναν εκτιμητή του \hat{k}_e . Παρατηρούμε ότι αν λογαριθμίσουμε το $C(t)$ θα έχουμε:

$$\ln C(t) = \ln C_0 - k_e t$$

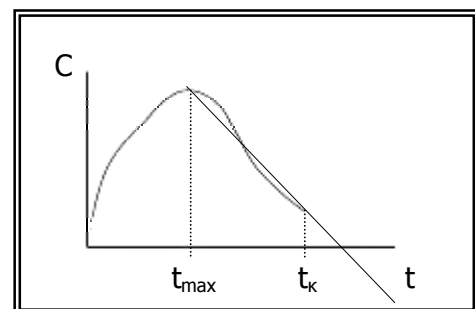
Επομένως το k_e μπορεί να εκτιμηθεί με απλή γραμμική παλινδρόμηση χρησιμοποιώντας όλες τις συγκεντρώσεις μετά το C_{max} , οπότε έχουμε:

$$k_e = -\hat{\beta}_1$$

όπου $\hat{\beta}_1$ ο συντελεστής παλινδρόμησης, δηλαδή η κλίση (*slope*) λ της ευθείας που

προσαρμόζουμε στο τελικό τμήμα της καμπύλης συγκέντρωσης του αίματος. Τέλος, πολλαπλασιάζουμε την ποσότητα αυτή με το -2.303 για μετατροπή σε δεκαδικούς λογάριθμους. Άρα το AUC_{∞} μπορεί να εκτιμηθεί από την σχέση :

$$AUC_{\infty} = AUC_{t_k} + \frac{C_k}{\lambda(-2.303)} \quad (\text{Παπαϊωάννου 2002,2003})$$



1.4 Προσδιορισμός Βιοϊσοδυναμίας.

“ Όταν δυο παραγωγές φαρμάκων είναι ισοδύναμες ως προς το βαθμό και το ποσό του οποίου το ενεργό συστατικό του φαρμάκου ή το θεραπευτικό τμήμα απορροφάται

και γίνεται διαθέσιμο στην θέση που ενεργεί το φάρμακο, τότε υποθέτουμε ότι είναι **θεραπευτικά ισοδύναμα**". Δοθέντος της παραπάνω θεμελιώδους υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας, οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας αποτελούν υποκατάστατο των κλινικών δοκιμών για την αποτίμηση της θεραπευτικής ισοδυναμίας όσον αφορά την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια μεταξύ των φαρμάκων. Για το λόγο αυτό ο σκοπός των δοκιμών βιοϊσοδυναμίας είναι να αναγνωρίζουν φαρμακευτικά ισοδύναμα ή φαρμακευτικά εναλλακτικά προϊόντα. Έτσι βιοϊσοδύναμα φάρμακα είναι θεραπευτικά ισοδύναμα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά.

Όπως αναφέρουν οι Hauch και Anderson (1992) και οι Chow και Liu (1995) η ικανότητα ενός φαρμάκου να αποτελέσει εναλλακτικό κάποιου άλλου ταξινομείται είτε σε ικανότητα συνταγογράφησης (*prescribability*) είτε σε ανταλλαξιμότητα (*switchability*). Η ικανότητα συνταγογράφησης (*prescribability*) ενός φαρμάκου αναφέρεται ως η επιλογή του ιατρού να συνταγογραφήσει σε ένα νέο ασθενή του το καινοτόμο φάρμακο έχοντας να επιλέξει ανάμεσα σε αυτό και σε ένα αριθμό generics αντίγραφα του, τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι είναι βιοϊσοδύναμα με το καινοτόμο. Η ικανότητα συνταγογράφησης συνήθως αποτιμάται με την πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία. Από την άλλη η ανταλλαξιμότητα (*switchability*) συνδέεται με την δυνατότητα αλλαγής ενός καινοτόμου φαρμάκου σε ένα generics φάρμακο, του οποίου η συγκέντρωση σε ενεργό συστατικό έχει αναλυθεί ποσοτικά σε ένα σταθερό, αποτελεσματικό και ασφαλή επίπεδο. Για να διασφαλίσουμε την ύπαρξη της ανταλλαξιμότητας ενός φαρμάκου συνιστάται να εξασφαλίσουμε την ύπαρξη της βιοϊσοδυναμίας εντός κάθε ατόμου.

Αφού ορίσαμε την υπόθεση βιοϊσοδυναμίας θα πρέπει να δούμε πως και με τι θα αποτιμήσουμε την βιοϊσοδυναμία. Για την αποτίμησή της θα χρησιμοποιήσουμε τις βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC_{∞} , C_{max} και t_{max} . Η στατιστική ιδέα για την αποτίμηση της βιοϊσοδυναμίας έγκειται στη διερεύνηση της εγγύτητας μεταξύ των περιθώριων κατανομών των φαρμακοκινητικών αποκρίσεων του ενδιαφέροντος μας για τα δυο φάρμακα. Σαν αποτέλεσμα αυτών υπάρχουν τρία είδη βιοϊσοδυναμιών, η **μέση βιοϊσοδυναμία** (*average bioequivalence*), η **πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία** (*population bioequivalence*) και η **ατομική βιοϊσοδυναμία** (*individual bioequivalence*). Βασισμένοι στο γεγονός ότι η κατανομή μιας τυχαίας μεταβλητής καθορίζεται μοναδικά από τις ροπές της (*moments*), η ισοδυναμία μεταξύ δυο κατανομών μπορεί να αποτιμηθεί από τις ροπές της περιθώριας κατανομής της προς έλεγχο μορφής και της εγκεκριμένης μορφής του φαρμάκου. Οι δυο πρώτες ροπές μιας κατανομής απεικονίζουν την μέση τιμή και την διακύμανση της κατανομής. Η σύγκριση των πρώτων ροπών των κατανομών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων για τα δυο

φάρμακα σχετίζεται με την μέση βιοδιαθεσιμότητα, ενώ η σύγκριση των δευτέρων ροπών απεικονίζει την διακύμανση της βιοδιαθεσιμότητας. Για παράδειγμα αν η κατανομή του AUC_{∞} είναι κανονική και αν τα AUC_{∞} και για τα δυο φάρμακα είναι ισοδύναμα και στο μέσο και στην διακύμανση, τότε τα δυο φάρμακα είναι βιοϊσοδύναμα.

Όπως αναφέραμε και πιο πάνω για να εξασφαλίσουμε την ικανότητα συνταγογράφησης (*prescribability*) απαιτείται να εξασφαλιστεί πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία, η οποία προστάζει βιοϊσοδυναμία μέσου όρου και διακύμανσης. Ωστόσο, η ισοδυναμία στις δυο πρώτες ροπές δεν εγγυάται ισοδυναμία μεταξύ των μορφών του φαρμάκου, απαιτείται γενικότερα ισοδυναμία στις κατανομές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Η μέση βιοϊσοδυναμία είναι το ένα τμήμα της πληθυσμιακής και αναφέρεται ως ισοδυναμία των μέσων τιμών των περιθώριων κατανομών των βιοδιαθεσιμοτήτων μεταξύ των φαρμάκων. Οι κανονισμοί των περισσότερων χωρών, συμπεριλαμβανομένης της Ελλάδας (ΕΟΦ 1996) και των υπολοίπων κρατών της Ευρωπαϊκής Ένωσης (EMA 2002,2003), των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (FDA), της Ιαπωνίας, απαιτούν μόνο στοιχεία για την μέση βιοϊσοδυναμία προκρινόμενου να παράσχουν έγκριση για ένα generic φάρμακο. Ωστόσο στην πράξη αυτοί οι κανονισμοί για την μέση βιοϊσοδυναμία δεν εγγυώνται ότι δυο φάρμακα μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά σε όρους ασφάλειας και αποτελεσματικότητας, ειδικά όταν πρόκειται για την χρησιμοποίηση generics από το ίδιο καινοτόμο φάρμακο.

Έχει αναγνωριστεί ότι η ανταλλαξιμότητα των φαρμάκων απαιτεί ατομική βιοϊσοδυναμία. Για δοθέν άτομο η στατιστική θεωρία για την ατομική βιοϊσοδυναμία είναι να ελέγξουμε το πόσο κοντά βρίσκονται οι δυο περιθώριες κατανομές των φαρμακοκινητικών αποκρίσεων για τα δυο φάρμακα, οι οποίες λαμβάνονται με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της υπό έλεγχο και εγκεκριμένης μορφής από το ίδιο άτομο. Κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας είναι απαραίτητο να αποδείξουμε την ισοδυναμία στο μέσο και στην διακύμανση των δυο περιθώριων κατανομών στο ίδιο άτομο. Επειδή η υπόθεση της ατομικής βιοϊσοδυναμίας απαιτεί την σύγκριση των περιθώριων κατανομών της βιοδιαθεσιμότητας των δυο φαρμάκων μεταξύ του ίδιου ατόμου, χρησιμοποιείται ο επαναλαμβανόμενος διασταυρούμενος σχεδιασμός (*Crossover design*) για να παράγουμε τις πολυφαρμακοκινητικές αποκρίσεις του ίδιου τύπου από το ίδιο άτομο.

1.5 Κλινικά σημαντικές διαφορές – Κανόνες Απόφασης

Ο ορισμός της κλινικά σημαντικής διαφοράς είναι κρίσιμος για τον καθορισμό των θεραπευτικών ισοδυναμιών μεταξύ δυο φαρμάκων σε όρους αποτελεσματικότητας, ασφάλειας και λόγου πλεονεκτήματος / κινδύνου. Σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας η βασική υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας μπορεί να επαληθευθεί μόνο μέσω μιας ακριβούς κλινικής δοκιμής η οποία μπορεί να συνδέει παραμέτρους βιοδιαθεσιμότητας με κλινικά endpoints. Στην πράξη, τέτοιες κλινικές δοκιμές σπάνια εκτελούνται λόγω ανομοιογένειας των ασθενών σε ποικίλα χαρακτηριστικά. Το βασικό εμπόδιο σε μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας έγκειται στην εκτίμηση και μεταφορά της διαφοράς της βιοδιαθεσιμότητας δυο φαρμάκων σε θεραπευτική διαφορά. Δηλαδή δυο φάρμακα ή θεραπευτικές αγωγές μπορεί να διαφέρουν κατά μέσο όρο ή ως προς τις πιθανότητες τους και η διαφορά αυτή να μην είναι θεραπευτικά σημαντική.

Ο Westlake το 1979 επισήμανε ότι μια στατιστικά σημαντική διαφορά στην σύγκριση της βιοδιαθεσιμότητας μεταξύ των φαρμάκων δεν σημαίνει αναγκαία ότι υπάρχει μια κλινικά σημαντική διαφορά μεταξύ των φαρμάκων. Για παράδειγμα μια 20% διαφορά του AUC μεταξύ δυο φαρμάκων μπορεί να είναι στατιστικά σημαντική αλλά να μην είναι κλινικά σημαντική σε όρους θεραπευτικών αποτελεσμάτων. Με άλλα λόγια, αν και υπάρχει 20% διαφορά μεταξύ της υπό έλεγχο και της εγκεκριμένης μορφής, αυτά μπορούν να έχουν ακόμη και τα ίδια θεραπευτικά αποτελέσματα. Τότε αυτά μπορεί να θεωρηθούν θεραπευτικά ισοδύναμα. Γενικά για να εκτιμηθεί η κλινική διαφορά δυο θεραπευτικών μορφών δίνεται ένα ζεύγος ορίων μέσα στο οποίο θα πρέπει να βρίσκεται η διαφορά της βιοδιαθεσιμότητας τους. Οπότε, αν η διαφορά των AUC μεταξύ της υπό έλεγχο και εγκεκριμένης μορφής είναι μεταξύ των ορίων αυτών, τότε δεν υπάρχει κλινική διαφορά ή θεωρούνται θεραπευτικά ισοδύναμα. Τα όρια βιοδιαθεσιμότητας για την ύπαρξη θεραπευτικής ισοδυναμίας εξαρτώνται από την φύση του φαρμάκου, τον πληθυσμό των ασθενών και τα κλινικά endpoints.

Η σχέση μεταξύ ορίων βιοδιαθεσιμότητας και κλινικής διαφοράς είναι δύσκολο να καθοριστεί στην πράξη. Για το λόγο αυτό ο παγκόσμιος οργανισμός φαρμάκων (FDA) μεταξύ του 1977 και 1992 πρότεινε τους ακόλουθους κανόνες για τον έλεγχο της βιοϊσοδυναμίας σε όρους μέσης βιοδιαθεσιμότητας για συγκεκριμένα φάρμακα. Ας υποθέσουμε ότι το AUC και το C_{max} είναι οι βασικές ποσότητες για τον προσδιορισμό του ρυθμού και της έντασης της απορρόφησης. Για κάθε παράμετρο εφαρμόζονται οι ακόλουθοι κανόνες απόφασης:

Κανόνας 75/75: Ισχυριζόμαστε την ύπαρξη βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δυο μορφών αν τουλάχιστον το 75% του λόγου των ατομικών βιοδιαθεσιμοτήτων μ_T / μ_R της υπό έλεγχο μορφής και της εγκεκριμένης μορφής του φαρμάκου είναι εντός των ορίων (75%, 125%).

Κανόνας 80/20: Αν η μέση τιμή της υπό έλεγχο μορφής T δεν διαφέρει στατιστικώς σημαντικά από την μέση τιμή της εγκεκριμένης μορφής R και αν υπάρχει τουλάχιστον 80% ισχύς για την ανίχνευση μιας 20% διαφοράς από την μέση τιμή της εγκεκριμένης μορφής συμπεραίνουμε ότι υπάρχει βιοϊσοδυναμία μεταξύ των δυο μορφών.

Κανόνας ± 20 : Ισχυριζόμαστε την ύπαρξη βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δυο μορφών αν η μέση βιοδιαθεσιμότητα της υπό έλεγχο μορφής T είναι μεταξύ $\pm 20\%$ της αντίστοιχης της εγκεκριμένης μορφής R με συγκεκριμένη ασφάλεια.

Κανόνας 80/125: Ισχυριζόμαστε την ύπαρξη βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δυο μορφών αν η μέση βιοδιαθεσιμότητα της υπό έλεγχο μορφής T είναι μεταξύ (80%, 125%) της αντίστοιχης της εγκεκριμένης μορφής R με συγκεκριμένη ασφάλεια.

1.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ :

1.6.1 Επιλογή μοντέλου και υπόθεση κανονικότητας

Έστω μ_T και μ_R οι αληθινοί μέσοι της υπό έλεγχο μορφής (*Test*) και της εγκεκριμένης μορφής (*Reference*) αντίστοιχα. Σύμφωνα με τον κανόνα ± 20 , ο λόγος των πραγματικών μέσων μ_T/μ_R θα πρέπει να βρίσκεται μεταξύ του (80% , 120%) με 90% ασφάλεια για να ισχυριστούμε βιοϊσοδυναμία των φαρμάκων. Μια τυπική διαδικασία για την απόδειξη αυτού είναι να κατασκευάσουμε ένα 90% διάστημα εμπιστοσύνης για το μ_T/μ_R και να το συγκρίνουμε με το (80%, 120%). Οπότε, αν το διάστημα εμπιστοσύνης που κατασκευάσαμε είναι μεταξύ του (80%, 120%) συμπεραίνουμε ότι υπάρχει μέση βιοϊσοδυναμία.

Για να κατασκευάσουμε ένα 90% δ.ε. για το λόγο μ_T/μ_R μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε δυο στατιστικά μοντέλα, το μοντέλο που βασίζεται στα αρχικά δεδομένα και αυτό που βασίζεται στα λογαριθμισμένα δεδομένα. Για το μοντέλο με τα αρχικά δεδομένα κατασκευάζουμε ένα ακριβές 90% δ.ε. για τη διαφορά $\mu_T - \mu_R$ το οποίο μετασχηματίζεται σε ένα δ.ε. για το λόγο μ_T/μ_R αν το διαιρέσουμε με τον

παρατηρούμενο μέσο της εγκεκριμένης μορφής \bar{Y}_R . Το δ.ε. που κατασκευάζουμε με αυτό τον τρόπο δεν είναι ένα ακριβές 90% δ.ε. γιατί η μέθοδος αυτή αγνοεί την μεταβλητότητα του \bar{Y}_R . Μια άλλη μέθοδος είναι να χρησιμοποιήσουμε την θεωρία του Fieller (Casella και Berger 1990 σελ.464) για να κατασκευάσουμε ένα ακριβές 90% δ.ε. για το λόγο μ_T/μ_R . Η μέθοδος αυτή βασίζεται στο λόγο μ_T/μ_R , όμως παρουσιάζει ένα σημαντικό μειονέκτημα στο ότι η κατανομή του λόγου των μέσων είναι περίπλοκη και οι ροπές της μπορεί να μην υπάρχουν. Είναι σημαντικό να παρέχουμε επιπλέον στατιστικές εκτιμήσεις των παραπάνω δ.ε. γιατί από ότι καταλαβαίνουμε η επιλογή της βιοϊσοδυναμίας βασίζεται στο εάν ή όχι το δ.ε. είναι μεταξύ του 80% και 120%.

Η κύρια υπόθεση για το μοντέλο των αρχικών δεδομένων είναι η υπόθεση της κανονικότητας. Επειδή το AUC_{∞} , C_{max} και t_{max} είναι θετικές ποσότητες η βασική κατανομή στην πραγματικότητα είναι περικομμένη κανονική κατανομή στο μηδέν, το οποίο αποτελεί ένα θεμελιώδες επιχείρημα κατά των μοντέλων αρχικών δεδομένων. Επιπλέον πολλές φορές η κατανομή του AUC είναι ασύμμετρη, επομένως η λογαρίθμιση του AUC συχνά απομακρύνει την ασυμμετρία αυτή. Τα λογαριθμισμένα δεδομένα στην συνέχεια αναλύονται χρησιμοποιώντας το μοντέλο αρχικών δεδομένων, το οποίο είναι ισοδύναμο με το να αναλύσουμε τα αρχικά δεδομένα χρησιμοποιώντας το λογαριθμικό μοντέλο. Η παραπάνω μέθοδος, βασισμένη είτε στο μοντέλο αρχικών δεδομένων είτε στο μοντέλο των λογαριθμισμένων δεδομένων χρησιμοποιείται κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας ή της λογαριθμοκανονικότητας για τις μεταξύ των ατόμων ή μέσα στα άτομα μεταβλητότητες. Μια από τις δυσκολίες που συχνά συναντάμε είναι αν ισχύει ή όχι η υπόθεση της κανονικότητας, άρα ο έλεγχος της ύπαρξης της κανονικότητας ή της λογαριθμοκανονικότητας είναι αποφασιστικός για το ποιο μοντέλο θα χρησιμοποιηθεί.

1.6.2 Εντός και μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα

Επειδή τα άτομα μπορεί να διαφέρουν στις αποκρίσεις τους στο φάρμακο, η γνώση της μεταξύ (*inter-*) και εντός (*intra-*) των ατόμων μεταβλητότητας μπορεί να μας παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την αποτίμηση της βιοϊσοδυναμίας. Για την απομάκρυνση της μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητας από την σύγκριση των βιοδιαθεσιμοτήτων μεταξύ των φαρμάκων, χρησιμοποιείται ένας **διασταυρούμενος σχεδιασμός** (*Crossover design*), ο οποίος επιλέγεται από πολλούς ερευνητές και είναι αποδεκτός από το FDA. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης του διασταυρούμενου σχεδιασμού είναι ότι:

1. Κάθε άτομο αποτελεί το δικό του κοντρόλ.
2. Η υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας βασίζεται στην εντός του ατόμου μεταβλητότητα.
3. Λιγότερα άτομα απαιτούνται για να έχουμε την επιθυμητή ακρίβεια και ισχύ στις συγκρίσεις από ότι με άλλους σχεδιασμούς, όπως ο **παράλληλος σχεδιασμός** (*parallel design*).

1.6.3 Διαστηματική υπόθεση και τεστ δυο μονόπλευρων υποθέσεων (*TOST test*).

Ο προσδιορισμός της βιοϊσοδυναμίας είναι πολύ σημαντικός στην φαρμακευτική βιομηχανία, λόγω του ότι οι οργανισμοί έγκρισης (*regulatory agency*) επιτρέπουν σε ένα ιδιοσκεύασμα (*generic*) να συναλλάσσεται στην αγορά αν η κατασκευαστική εταιρία μπορεί να αποδείξει ότι το ιδιοσκεύασμα (*generic*) αυτό είναι ισοδύναμο με το εγκεκριμένο προϊόν. Επομένως η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί είναι το αν τα βιοϊσοδύναμα φάρμακα παρέχουν τα ίδια θεραπευτικά αποτελέσματα. Αν η κατασκευαστική εταιρία του ιδιοσκευάσματος (*generic*) μπορεί να αποδείξει την βιοϊσοδυναμία δεν χρειάζεται να παρουσιάσει μια δαπανηρή κλινική δοκιμή για να αποδείξει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του ιδιοσκευάσματος (*generic*).

Από το 1970 οι στατιστικοί διαπίστωσαν ότι η συνηθισμένη υπόθεση για τον έλεγχο μιας ισότητας δεν ήταν κατάλληλη για μελέτες βιοϊσοδυναμίας. Ο σκοπός της βιοϊσοδυναμίας είναι να επιβεβαιώσει ότι δυο μορφές φαρμάκων είναι αληθινά βιοϊσοδύναμες. Έτσι από στατιστικής άποψης μπορεί να είναι πιο κατάλληλο να αντιστρέψουμε την μηδενική υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας με την εναλλακτική. Έστω δ_L και δ_U δυο γνωστά όρια βιοϊσοδυναμίας και θ η παράμετρος του ενδιαφέροντος μας. Η υπόθεση για τον έλεγχο της βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση αυτή όπως αναφέρεται και από τον είναι :

$$H_0 : \theta \leq \delta_L \text{ ή } \theta \geq \delta_U \quad \text{έναντι} \quad H_a : \delta_L < \theta < \delta_U$$

η οποία μπορεί να χωριστεί σε δυο μονόπλευρες υποθέσεις βιοϊσοδυναμίας της μορφής:

$$H_{01} : \theta \leq \delta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \delta_L < \theta$$

$$H_{o2} : \theta \geq \delta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \theta < \delta_U \quad (1.1)$$

Η υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας στην H_o εκφράζεται ως διάστημα και για τον λόγο αυτό αναφέρεται ως διαστηματική υπόθεση. Στην περίπτωση μελετών μέσης βιοϊσοδυναμίας, όπου μ_T ορίζουμε τον πληθυσμιακό μέσο AUC του υπό έλεγχο παρασκευάσματος και μ_R τον πληθυσμιακό μέσο AUC του εγκεκριμένου παρασκευάσματος, για να αποδείξουμε την βιοϊσοδυναμία θα πρέπει να ελεγχθεί η υπόθεση :

$$H_o : \frac{\mu_T}{\mu_R} \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \frac{\mu_T}{\mu_R} \geq \delta_U \quad \text{έναντι} \quad H_a : \delta_L < \frac{\mu_T}{\mu_R} < \delta_U \quad (1.2)$$

Η Ευρωπαϊκή Ένωση και το FDA χρησιμοποιούν $\delta_U = 1.25$ και $\delta_L = 0.80 = 1/1.25$ και ελέγχουν την υπόθεση αυτή με επίπεδο εμπιστοσύνης $\alpha\%$. Γνωρίζουμε από την βιβλιογραφία ότι υπάρχουν "φιλελεύθερα" και "συντηρητικά" τεστ επιπέδου α για τον έλεγχο της (1.2). Τα "φιλελεύθερα" τεστ απορρίπτουν εύκολα την βιοανισοδυναμία και θέτουν σε κίνδυνο την ασφάλεια του ασθενή ενώ τα "συντηρητικά" τεστ επιβαρύνουν τη φαρμακοβιομηχανία. Για το λόγο αυτό συνήθως αντί ελέγχου χρησιμοποιούνται δ.ε.

Συχνά όμως πραγματοποιείται λογαριθμηση της παραπάνω υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας επομένως η H_o γίνεται :

$$H_o : \eta_T - \eta_R \leq \theta_L \quad \text{ή} \quad \eta_T - \eta_R \geq \theta_U$$

και η H_a γίνεται :

$$H_a : \theta_L < \eta_T - \eta_R < \theta_U$$

(1.3)

όπου $\eta_T = \ln(\mu_T)$, $\eta_R = \ln(\mu_R)$, $\theta_L = \ln(\delta_L)$ και $\theta_U = \ln(\delta_U)$. Η οποία μπορεί να χωριστεί σε δυο μονόπλευρες υποθέσεις βιοϊσοδυναμίας :

$$H_{o1} : \eta_T - \eta_R \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \theta_L < \eta_T - \eta_R$$

$$H_{o2} : \eta_T - \eta_R \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \eta_T - \eta_R < \theta_U$$

Για τον έλεγχο των παραπάνω υποθέσεων της μορφής (1.1) ο Schurmann (1981) πρώτος παρουσίασε τον διπλό μονόπλευρο έλεγχο "**Two one-sided tests**" – **TOST**. Έστω $\hat{\theta}$ είναι μια εκτίμηση της παραμέτρου θ , η οποία έχει κανονική κατανομή με μέση

τιμή θ και διακύμανση $\sigma_{\hat{\theta}}^2$. Έστω $SE(\hat{\theta})$ μια εκτίμηση του $\sigma_{\hat{\theta}}^2$ η οποία είναι ανεξάρτητη του θ και τέτοια ώστε $r(SE(\hat{\theta}))^2 / \sigma_{\hat{\theta}}^2$ έχει χ^2 κατανομή με r βαθμούς ελευθερίας. Άρα η:

$$t = \frac{\hat{\theta} - \theta}{SE(\hat{\theta})}$$

έχει t κατανομή με r βαθμούς ελευθερίας. Επομένως ο έλεγχος TOST θα βασίζεται στα δύο παρακάτω στατιστικά :

$$T_U = \frac{\hat{\theta} - \delta_U}{SE(\hat{\theta})} \quad \text{και} \quad T_L = \frac{\hat{\theta} - \delta_L}{SE(\hat{\theta})}$$

Ο έλεγχος TOST για την υπόθεση (1.1) χρησιμοποιεί το κλασικό μονόπλευρο μεγέθους α t-test βασισμένο στο T_L για τον έλεγχο της :

$$H_{o1} : \theta \leq \delta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \delta_L < \theta$$

και τον κλασικό μονόπλευρο μεγέθους α t-test βασισμένο στο T_U για τον έλεγχο της :

$$H_{o2} : \theta \geq \delta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \theta < \delta_U$$

όπου απορρίπτει την H_o σε επίπεδο α και ισχυρίζεται ότι τα δυο φάρμακα είναι βιοϊσοδύναμα αν και οι δυο έλεγχοι απορρίπτουν τις H_o , το οποίο συμβαίνει αν

$$T_U < -t_{\alpha,r} \quad \text{και} \quad T_L > t_{\alpha,r}$$

Η ενασχόληση με το λόγο μ_T / μ_R θεωρείται πιο δύσκολη από την ενασχόληση με την διαφορά $\eta_T - \eta_R$. Οπότε για το AUC και C_{max} το FDA (1992) απαιτεί αναγκαστική λογαρίθμιση των δεδομένων. Το FDA προσφέρει τρεις λογικές εξηγήσεις για την ύπαρξη αυτών των απαιτήσεων. Οι τρεις αυτές αιτιολογήσεις που δίνει το FDA για την λογαρίθμιση των δεδομένων χαρακτηρίζονται ως "Κλινική", "Φαρμακοκινητική" και "Στατιστική" αιτιολόγηση. Στην κλινική αιτιολόγηση το πραγματικό ενδιαφέρον βρίσκεται στον λόγο μ_T / μ_R παρά στην διαφορά $\eta_T - \eta_R$. Το συνδεδειγμένο στοιχείο μεταξύ αυτού του γεγονότος και της λογαρίθμισης των δεδομένων είναι η στατιστική θεώρηση.

Γνωρίζουμε ότι ένα γραμμικό στατιστικό μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τα μετασχηματισμένα δεδομένα έτσι ώστε να βγάλουμε συμπεράσματα σχετικά με την διαφορά $\eta_T - \eta_R$. Από αυτά τα συμπεράσματα μπορούμε να οδηγηθούμε και σε συμπεράσματα για το λόγο μ_T / μ_R . Έτσι η αιτιολόγηση για την λογαρίθμιση φαίνεται να βασίζεται κυρίως στην ύπαρξη δυσκολίας στην διαχείριση του προβλήματος χρησιμοποίησης του λόγου μ_T / μ_R .

Η φαρμακοκινητική αιτιολόγηση βασίζεται στο πολλαπλασιαστικό συγκριτικό μοντέλο του Westlake (1973,1988). Το πολλαπλασιαστικό μοντέλο (*multiplicated model*) μετασχηματίζεται σε ένα γραμμικό μοντέλο με την λογαρίθμιση. Μέρος της φαρμακοκινητικής αιτιολόγησης είναι ότι στα αρχικά δεδομένα, πολλά βιοϊσοδύναμα δεδομένα είναι λοξά και εμφανίζουν περισσότερο λογαριθμοκανονικότητα παρά κανονικότητα. Συμφωνούμε ότι αυτές οι δυο θεωρήσεις υποδεικνύουν ότι η κύρια μέθοδος για την ανάλυση που πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι αυτή που βασίζεται στη λογαρίθμιση των δεδομένων, όπου στις περισσότερες περιπτώσεις θα είναι και η καταλληλότερη.

Η στατιστική αιτιολόγηση συμφωνεί με την παραπάνω ανάγκη λογαρίθμισης σε δυο ακόμα σημεία. Το πρώτο είναι ότι τυπικοί παραμετρικοί μέθοδοι συνδυάζονται για να βγάλουν συμπεράσματα σχετικά με το λόγο δυο μέσων τιμών, μέσω μερικών θεμελιωδών μεθόδων. Με τον λογαριθμικό μετασχηματισμό αλλάζουμε το πρόβλημα σε ένα αντίστοιχο από το οποίο βγάζουμε συμπεράσματα για την διαφορά των δυο μέσων τιμών για την οποία οι τυπικές μέθοδοι συνδυάζονται καλύτερα. Η δεύτερη είναι ότι το μικρό μέγεθος του δείγματος που χρησιμοποιείται στις περισσότερες μελέτες βιοϊσοδυναμίας (20 – 30) θα παράγει ελέγχους κανονικότητας οι οποίοι θα έχουν αρκετά χαμηλή ισχύ είτε για τα αρχικά είτε για τα λογαριθμισμένα δεδομένα. Το FDA εισηγείται το μη έλεγχο κανονικότητας για τα λογαριθμισμένα δεδομένα, αλλά αν ένα χαμηλής ισχύς τεστ κανονικότητας απορρίψει την μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των λογαριθμισμένων δεδομένων τότε σίγουρα θα πρέπει να υπάρχει προσοχή για το ποια διαδικασία θα χρησιμοποιηθεί. Σε αυτή την περίπτωση τεστ όπως το TOST τεστ δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Σε τέτοιες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται τα μη παραμετρικά τεστ.

1.6.4 Σχεδιασμοί μελετών βιοϊσοδυναμίας

Σε αυτήν την εργασία σκοπός μας είναι να καθορίσουμε τα αντικείμενα μιας μελέτης βιοϊσοδυναμίας και να περιγράψουμε τους κατάλληλους σχεδιασμούς και τους

κατάλληλους μεθόδους αποτίμησης τις βιοϊσοδυναμίας δυο φαρμάκων. Για ευκολία θα περιορίσουμε την προσοχή μας στην σύγκριση διαφορετικών μορφών του ίδιου φαρμάκου. Η σύγκριση διαφορετικών φαρμάκων του ίδιου ενεργού συστατικού μπορεί να χειριστεί ομοίως. Επίσης θα ασχοληθούμε κυρίως με την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δυο μορφών, γιατί όπως αναφέραμε και πιο πάνω οι κανονισμοί των περισσότερων χωρών απαιτούν στοιχεία μόνο για την μέση βιοϊσοδυναμία για να παρέχουν έγκριση για ένα ιδιοσκεύασμα.

Η επιλογή του κατάλληλου σχεδιασμού σε μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας εξαρτάται κυρίως από την μεταβλητότητα των παρατηρήσεων. Για παράδειγμα, όπως αναφέραμε και πιο πάνω τα άτομα μπορεί να διαφέρουν ευρέως στην απόκριση των φαρμάκων. Έτσι μια σημαντική πηγή μεταβλητότητας εμφανίζεται από τις διαφορές μεταξύ των ατόμων. Ως αποτέλεσμα, ένα κριτήριο για την επιλογή του κατάλληλου σχεδιασμού είναι εάν ή όχι ο επιλεγθείς σχεδιασμός μπορεί να προσδιορίσει, εκτιμήσει και να απομονώσει την μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα στην ανάλυση των δεδομένων. Κάθε σχεδιασμός που μπορεί να αφαιρέσει αυτή την διακύμανση από την σύγκριση της μέσης μεταβλητότητας μεταξύ των διαφορετικών μορφών θα είναι κατάλληλος. Οι δυο σχεδιασμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται συνήθως σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας και βιοδιαθεσιμότητας είναι ο **πλήρης τυχαιοποιημένος σχεδιασμός ή παράλληλος σχεδιασμός (Parallel design)** και ο **διασταυρούμενος σχεδιασμός (Crossover design)**.

Στα επόμενα κεφάλαια θα περιγράψουμε αναλυτικά τους δυο αυτούς σχεδιασμούς. Ξεκινώντας από τον παράλληλο σχεδιασμό, στο Κεφάλαιο 3, θα περιγράψουμε αναλυτικά τις μεθόδους αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση που οι φαρμακοκινητικές αποκρίσεις για τις δυο μορφές του φαρμάκου ακολουθούν κανονική και λογαριθμοκανονική κατανομή. Στο Κεφάλαιο 4 θα παρουσιάσουμε τις αντίστοιχες μεθόδους στην περίπτωση του διασταυρούμενου σχεδιασμού. Πριν όμως την παρουσίαση των μεθόδων αυτών θα παρουσιάσουμε, στο Κεφάλαιο 2, μια νέα μέθοδο αποτίμησης ελέγχων σημαντικότητας που περιέχουν ενοχλητικές παραμέτρους, την μέθοδο των γενικευμένων p-values. Η μέθοδος αυτή θα αποτελέσει στα επόμενα κεφάλαια το σημαντικότερο εργαλείο για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση διαφορετικών διακυμάνσεων μεταξύ των φαρμακοκινητικών αποκρίσεων των δυο μορφών του φαρμάκου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο :

ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΑ $p - values$

2.1. Εισαγωγή

Η ιδέα των γενικευμένων p -values παρουσιάστηκε από τους Tsui και Weerahandi το 1989 και αντιμετωπίζει κάποια προβλήματα που εμφανίζονται σε ελέγχους σημαντικότητας μονόπλευρων υποθέσεων της μορφής $H_0 : \theta \leq \theta_0$ έναντι $H_a : \theta > \theta_0$ ή της μορφής $H_0 : \theta \geq \theta_0$ έναντι $H_a : \theta < \theta_0$, όπου θ η παράμετρος του ενδιαφέροντος μας, όταν παρουσιάζεται μια ενοχλητική παράμετρος η .

Έστω X μια τυχαία μεταβλητή η οποία έχει συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας $f(X|\xi)$ όπου $\xi=(\theta, \eta)$ είναι ένα διάνυσμα από άγνωστους παραμέτρους που υποθέτουμε ότι παίρνουν τιμές σε μια παραμετρική περιοχή H , θ είναι η παράμετρος που μας ενδιαφέρει και η είναι ένα διάνυσμα από ενοχλητικές παραμέτρους. Έστω Ξ το δειγματικό διάνυσμα και x οι παρατηρούμενες τιμές της X . Το πρόβλημα που μας ενδιαφέρει είναι να ελέγξουμε την μηδενική υπόθεση $H_0 : \theta \leq \theta_0$ (ή $H_0 : \theta \geq \theta_0$). Ασχολούμαστε κυρίως με μονόπλευρες υποθέσεις αυτής της μορφής γιατί ως γνωστό από την θεωρία ελέγχου υποθέσεων και το θεώρημα Karlin – Rubin (Casella και Berger 1990 σελ 391), μόνο για σύνθετες υποθέσεις αυτής της μορφής μπορούμε να έχουμε ομοιόμορφα ισχυρότατο τεστ (*UMP test*). Γνωρίζουμε επίσης από την θεωρία ελέγχων υποθέσεων ότι για τον έλεγχο μιας οποιασδήποτε μηδενικής υπόθεσης το καλύτερο τεστ που μπορούμε να κατασκευάσουμε είναι ένα τεστ μεγέθους α (*size α test*), δηλαδή ένα τεστ με σταθερό επίπεδο σημαντικότητας α με το οποίο πετυχαίνουμε να σταθεροποιήσουμε τα σφάλματα τύπου I και II σε μικρές τιμές. Ένας τέτοιος έλεγχος με σταθερό επίπεδο σημαντικότητας απορρίπτει την H_0 αν οι παρατηρήσεις x πέφτουν στην κρίσιμη περιοχή C η οποία έχει την μορφή $C = \{ X : T(X) \geq c \}$ (ή $C = \{ X : T(X) \leq c \}$), όπου c σταθερό $0 \leq c \leq 1$ και $T(\cdot)$ είναι μια συνάρτηση γνωστή ως στατιστική συνάρτηση (*test statistics*). Η κρίσιμη περιοχή στην

περίπτωση αυτήν είναι τέτοια ώστε το $\sup_{\theta \in H_0} \beta(\theta) = \sup_{\theta \in H_0} \Pr(X \in C | \theta)$ να είναι ίσο με το προκαθορισμένο επίπεδο σημαντικότητας α .

Παρόλα αυτά σε προβλήματα ελέγχου που περιέχουν ενοχλητική παράμετρο η είναι συχνά δύσκολο ή απίθανο να εφαρμοσθούν έλεγχοι με ορισμένο επίπεδο σημαντικότητας. Σε τέτοιες περιπτώσεις ένας ερευνητής ικανοποιείται με ένα τεστ επιπέδου α (*level α test*), δηλαδή ένα τεστ με συνάρτηση ισχύος τέτοια ώστε $\sup_{\theta \in H_0} \beta(\theta) \leq \alpha$. Οπότε για τον έλεγχο της μηδενικής μας υπόθεσης H_0 μπορούμε να κατασκευάσουμε ένα τεστ επιπέδου α θεωρώντας κρίσιμη περιοχή βασισμένη στα δεδομένα η οποία έχει μορφή :

$$C_x = \{X : T(X) \neq T(x)\} = \{X : T(X) - T(x) \neq 0\}$$

$$(\text{ή} \quad C_x = \{X : T(X) \leq T(x)\} = \{X : T(X) - T(x) \leq 0\})$$

και αποτελείται από τα δειγματικά σημεία X που είναι τουλάχιστον τόσο ακραία όσο είναι τα x σύμφωνα με το συγκεκριμένο στατιστικό $T(\cdot)$. Για να είναι το τεστ αυτό ομοιόμορφα ισχυρό τεστ, θα πρέπει σύμφωνα με το θεώρημα Karlin – Rubin η οικογένεια κατανομών του στατιστικού $T(\cdot)$ να έχει μονότονο λόγο πιθανοφάνειας το οποίο σύμφωνα με τον Lehman (1986) σημαίνει ότι θα πρέπει η οικογένεια κατανομών του $T(\cdot)$ να είναι στοχαστικά μονότονη ως προς θ . Στην περίπτωση αυτή το p -value είναι :

$$p(x) = \sup_{\theta \in H_0} \Pr(X \in C_x | \theta) \quad (\text{Casella και Berger 1990 σελ 397})$$

Δηλαδή $p(x) = \sup_{\theta \in H_0} \Pr(T(X) \neq T(x) | \theta)$ ή $p(x) = \sup_{\theta \in H_0} \Pr(T(X) \leq T(x) | \theta)$ ανάλογα με την φορά της μηδενικής υπόθεσης. Μικρές τιμές του p -value υποδηλώνουν ότι οι παρατηρήσεις x δεν στηρίζουν την H_0 , δηλαδή απορρίπτουν την H_0 . Παρόλο όμως που αυτή η διαδικασία εμφανίζεται να είναι πιο ευέλικτη από τους ελέγχους με ορισμένο επίπεδο σημαντικότητας, σε ότι αφορά ότι το C_x περιέχει τις παρατηρήσεις x , εμφανίζονται δυσκολίες σε πολυπαραμετρικά προβλήματα. Τέτοια προβλήματα μπορεί να είναι ότι το p -value εξαρτάται από το η , όπου η η ενοχλητική παράμετρος οπότε μπορεί να είναι δύσκολο να υπολογιστεί.

Για να ξεπεράσουμε αυτές τις δυσκολίες θεωρούμε τη γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου της μορφής $T(X; x, \xi)$, η οποία είναι συνάρτηση όχι μόνο της τυχαίας μεταβλητής X αλλά περιλαμβάνει επίσης το παρατηρούμενο x και την παράμετρο ξ . Αυτή η γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου απαιτούμε να έχει τρεις ιδιότητες :

1. Η παρατηρούμενη γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου, η οποία ορίζεται ως $t_{\text{obs}}=T(x;x,\xi)$ να είναι ανεξάρτητη από άγνωστες παραμέτρους.
2. Η κατανομή του $T(X;x,\xi)$ να είναι ανεξάρτητη από την ενοχλητική παράμετρο η .
3. Για δοθέν x και η η $T(X;x,\xi)$ να είναι στοχαστικά μονότονη συνάρτηση του θ .

(2.1)

Χωρίς βλάβη της γενικότητας, θεωρούμε ότι η ιδιότητα 1 μπορεί να είναι πλεονάζουσα, γιατί στην περίπτωση που δεν ικανοποιείται, τότε μπορούμε να ορίσουμε μια γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου $T'(X;x,\xi)$ όπου :

$$T'(X;x,\xi) = T(X;x,\xi) - T(x;x,\xi)$$

Οπότε για την $T'(\cdot)$ θα ισχύει $T'(x;x,\xi) = 0$, το οποίο είναι ανεξάρτητο του ξ και θα απαιτήσουμε να ισχύει για αυτήν οι ιδιότητες 2 και 3.

Όπως και στις τυπικές μεταβλητές ελέγχου, η ιδιότητα 1 εγγυάται ότι έλεγχοι υποθέσεων που βασίζονται σε τέτοιες γενικευμένες μεταβλητές ελέγχου οδηγούν σε κρίσιμες περιοχές (περιοχές απόρριψης) που εξαρτώνται μόνο από τα παρατηρούμενα δεδομένα. Η ιδιότητα 2 επιβάλλεται για να διασφαλίσουμε ότι ένα υποσύνολο του δειγματικού χώρου τ από πιθανές τιμές της T μπορεί να βρεθεί για μια δοθέν τιμή του επιπέδου σημαντικότητας α χωρίς να γνωρίζουμε τις παραμέτρους. Αυτή η ιδιότητα είναι ισοδύναμη με την έννοια της ομοιότητας (*Similarity*) στους ελέγχους υποθέσεων. Η ποσότητα $T(X;x,\xi)$ παίζει το ρόλο της στατιστικής συνάρτησης, η οποία όμως εξαρτάται από την παρατηρούμενη τιμή x και τις παραμέτρους θ και η . Επομένως, για ένα γενικευμένο στατιστικό $T(X;x,\xi)$ που ικανοποιεί τις παραπάνω ιδιότητες και αυξάνεται στοχαστικά ως προς θ θεωρούμε το τεστ για τον έλεγχο της $H_0: \theta \leq \theta_0$ που βασίζεται στην γενικευμένη κρίσιμη περιοχή :

$$C_x(\xi) = \{X : T(X;x,\xi) - T(x;x,\xi) \neq 0\} = \{X : T(X;x,\xi) \neq t\}$$

Ενώ για ένα γενικευμένο στατιστικό $T(X;x,\xi)$ που μειώνεται στοχαστικά ως προς θ θεωρούμε το τεστ που βασίζεται στην γενικευμένη κρίσιμη περιοχή :

$$C_x(\xi) = \{X : T(X;x,\xi) - T(x;x,\xi) \leq 0\} = \{X : T(X;x,\xi) \leq t\}$$

Επομένως, ακολουθώντας τον συνήθη ορισμό για το p-value, το p-value για αυτό το τεστ είναι :

$$p(x) = \sup_{\theta \in H_0} Pr(X \in C_x(\xi) | \theta)$$

και για τον έλεγχο της H_0 έναντι της H_1 , αν το p-value είναι μικρό θα απορρίπτουμε την H_0 , ως συνήθως. Η ιδιότητα 3 εγγυάται ότι το τεστ που κατασκευάζουμε με βάση την στατιστική συνάρτηση $T(X; x, \xi)$ είναι το ομοιόμορφα ισχυρότατο τεστ (*UMP test*) επιπέδου α (*level α test*), αφού ως γνωστόν για να υπάρχει ένα UMP test επιπέδου α για ένα έλεγχο της μορφής $H_0 : \theta \leq \theta_0$ έναντι $H_1 : \theta > \theta_0$ θα πρέπει να υπάρχει επαρκής στατιστικό $T(X)$ για το θ και η οικογένεια των σ.π. ή σ.π. του T να έχει μονότονο λόγο πιθανοφάνειας. Σύμφωνα με τον Lehman (1986), αυτό σημαίνει ότι η $T(X)$ θα πρέπει να είναι στοχαστικά μονότονη συνάρτηση του θ . Η ιδιότητα 3 επίσης συνεπάγεται ότι η πιθανότητα $Pr(T(X; x, \xi) \geq t)$ μεγαλώνει καθώς το $\theta - \theta_0$ μεγαλώνει αν η $T(\cdot)$ είναι στοχαστικά αυξανόμενη, ενώ μειώνεται καθώς το $\theta - \theta_0$ μεγαλώνει αν η $T(\cdot)$ μειώνεται στοχαστικά ως προς θ , οπότε έχουμε αντίστοιχα:

$$p(x) = \sup_{\theta \in H_0} Pr(T(X; x, \theta, \eta) \geq t) = Pr(T(X; x, \theta_0, \eta) \geq t)$$

$$p(x) = \sup_{\theta \in H_0} Pr(T(X; x, \theta, \eta) \leq t) = Pr(T(X; x, \theta_0, \eta) \leq t)$$

Άρα αυτά τα p-value είναι υπολογίσιμα καθώς είναι ανεξάρτητα από την ενοχλητική παράμετρο.

2.2. Παραγωγή γενικευμένων ποσοτήτων

Το πρόβλημα της εύρεσης μιας κατάλληλης μεταβλητής ελέγχου είναι ένα σημαντικό θέμα. Αυτή η διαδικασία μπορεί να απλοποιηθεί σημαντικά χρησιμοποιώντας συνηθισμένες μεθόδους. Όπως και σε άλλα προβλήματα εξαγωγής στατιστικών συμπερασμάτων, το πρόβλημα μπορεί να περιοριστεί αν κάποιος εκμεταλλευτεί την έννοια της επάρκειας. Όταν η ομάδα των ελαχίστων επαρκών στατιστικών αποτελείται από περισσότερα από ένα στατιστικά μπορούν οι έννοιες του αναλλοίωτου (*invariance*) και της ομοιότητας (*similarity*) να προκαλέσουν μια μεγαλύτερη μείωση του αριθμού των στατιστικών στα οποία μπορεί να βασισθεί η απόφαση μας. Ακόμη και με αυτές τις μεθόδους, η κατασκευή μιας τέτοιας γενικευμένης μεταβλητής ελέγχου απαιτεί

δισαισθητικότητα και κάποια ευστροφία που συνδυάζεται με την μέθοδο της δοκιμής και το λάθους (trial and error).

2.3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΩΝ p-values

2.3.1. Σύγκριση των μέσων τιμών δυο κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις - Πρόβλημα των BEHRENS & FISHER.

Για να δείξουμε την ενδεχόμενη χρησιμότητα της διαδικασίας των γενικευμένων p-values θεωρούμε το πρόβλημα των Behrens – Fisher, το οποίο μπορεί να τυποποιηθεί ως ακολούθως. Ας υποθέσουμε ότι X_1, X_2, \dots, X_{n_1} και Y_1, Y_2, \dots, Y_{n_2} δυο ομάδες ανεξάρτητων παρατηρήσεων από τους κανονικούς πληθυσμούς $N(\mu_1, \sigma_1^2)$ και $N(\mu_2, \sigma_2^2)$ αντίστοιχα. Υποθέτουμε ότι τα X_1, X_2, \dots, X_{n_1} και Y_1, Y_2, \dots, Y_{n_2} είναι ανεξάρτητα. Επιθυμούμε να ελέγξουμε την μηδενική υπόθεση $H_0: \mu_1 - \mu_2 \leq 0$ έναντι της εναλλακτικής $H_a: \mu_1 - \mu_2 > 0$ βασισμένοι στα ανεξάρτητα επαρκή στατιστικά \bar{X}, \bar{Y}, S_1^2 και S_2^2 , τα οποία είναι εκτιμητές μεγίστης πιθανοφάνειας των μέσων μ_1 και μ_2 και των διακυμάνσεων σ_1^2 και σ_2^2 αντίστοιχα. Οπότε, οι κατανομές των προηγούμενων τυχαιών μεταβλητών είναι:

$$\bar{X} \sim N\left(\mu_1, \frac{\sigma_1^2}{n_1}\right) \quad , \quad \bar{Y} \sim N\left(\mu_2, \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)$$

$$\frac{n_1 S_1^2}{\sigma_1^2} \sim \chi_{n_1-1}^2 \quad , \quad \frac{n_2 S_2^2}{\sigma_2^2} \sim \chi_{n_2-1}^2$$

και οι τυχαιές μεταβλητές \bar{X}, \bar{Y}, S_1^2 και S_2^2 είναι ανεξάρτητες.

Έστω $\bar{x}, \bar{y}, s_1^2, s_2^2, x$ και y είναι οι παρατηρούμενες τιμές των $\bar{X}, \bar{Y}, S_1^2, S_2^2, X$ και Y αντιστοίχως. Σε αυτό το πρόβλημα η παράμετρος που μας ενδιαφέρει είναι η $\theta = \mu_1 - \mu_2$ και η ενοχλητική παράμετρος είναι η $\eta = (\sigma_1^2, \sigma_2^2)$. Επομένως, όπως αναφέρουν στα άρθρα τους οι Tsui και Weerahandi (1989) και ο Weerahandi (1995), η τυχαία ποσότητα η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως στατιστική συνάρτηση για την

εύρεση της κρίσιμης περιοχής $C_{x,y}(\boldsymbol{\xi})$ στο πρόβλημα Behrens – Fisher και η οποία ικανοποιεί τις συνθήκες (2.1) είναι η:

$$T(X,Y; x, y, \boldsymbol{\eta}) = (\bar{X} - \bar{Y} - \theta) \cdot \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} \right)^{-1/2} \cdot \left(\frac{\sigma_1^2 s_1^2}{n_1 S_1^2} + \frac{\sigma_2^2 s_2^2}{n_2 S_2^2} \right)^{1/2} \quad (2.2)$$

η οποία έχει παρατηρούμενη τιμή :

$$\begin{aligned} t_{\text{obs}} = T(x, y; x, y, \boldsymbol{\eta}) &= (\bar{x} - \bar{y} - \theta) \cdot \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} \right)^{-1/2} \cdot \left(\frac{\sigma_1^2 s_1^2}{n_1 s_1^2} + \frac{\sigma_2^2 s_2^2}{n_2 s_2^2} \right)^{1/2} \\ &= (\bar{x} - \bar{y} - \theta) \cdot \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} \right)^{-1/2} \cdot \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} \right)^{1/2} \Rightarrow \end{aligned}$$

$$t_{\text{obs}} = T(x, y; x, y, \boldsymbol{\eta}) = \bar{x} - \bar{y} - \theta$$

Άρα για δοθέντα x και y η κατανομή του $T(X,Y;x, y, \boldsymbol{\eta})$ είναι ανεξάρτητη από την ενοχλητική παράμετρο $\boldsymbol{\eta}$ και μπορεί να εκφρασθεί με όρους τυχαίων μεταβλητών ως εξής :

$$T = Z \left[\frac{s_1^2}{U} + \frac{s_2^2}{V} \right]^{1/2} = \frac{Z}{(U+V)^{1/2}} \left[\frac{s_1^2}{U} + \frac{s_2^2}{1 - \frac{U}{U+V}} \right]^{1/2}$$

Η τυχαία ποσότητα T έχει την ίδια κατανομή με την $Z(s_1^2/U + s_2^2/V)^{1/2}$, όπου $Z \sim N(0,1)$, $U \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V \sim \chi_{n_2-1}^2$, ενώ οι μεταβλητές Z , U και V είναι ανεξάρτητες,

οπότε θα ισχύει $U+V \sim \chi_{n_1+n_2-1}^2$ και $B = \frac{U}{U+V} \sim \text{Beta}\left(\frac{n_1-1}{2}, \frac{n_2-1}{2}\right)$. Οπότε η

$$R = \frac{Z(n_1 + n_2 - 2)^{1/2}}{(U+V)^{1/2}} \sim t_{n_1+n_2-1} \text{ και με βάση αυτή την τυχαία μεταβλητή η συνάρτηση}$$

πυκνότητας πιθανότητας της τυχαίας ποσότητας T μπορεί να εκφρασθεί ως:

$$\Pr(T \leq t) = \Pr \left[R \leq t \left(\frac{n_1 + n_2 - 2}{\frac{s_1^2}{B} + \frac{s_2^2}{1-B}} \right)^{1/2} \right] = E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[t \left(\frac{n_1 + n_2 - 2}{\frac{s_1^2}{B} + \frac{s_2^2}{1-B}} \right)^{1/2} \right] \right\}$$

όπου $G_{n_1+n_2-2}$ είναι η σ.π.π. της t κατανομής με $(n_1 + n_2 - 2)$ β.ε, η οποία όπως αναφέραμε είναι η κατανομή που ακολουθεί η τυχαία ποσότητα R και η αναμενόμενη τιμή της λαμβάνεται δοθέντος ότι η τυχαία μεταβλητή B ακολουθεί Βήτα κατανομή.

Παρατηρούμε ότι η οικογένεια αθροιστικών κατανομών της $T(X,Y;x,y,\eta)$ για δοθέν x και y αυξάνεται στοχαστικά ως προς θ , οπότε με βάση την γενικευμένη αυτή μορφή της T παίρνουμε την γενικευμένη κρίσιμη περιοχή:

$$C_{x,y}(\theta, \eta) = \{(X, Y) : T(X, Y; x, y, \eta) - T(x, y; x, y, \eta) \neq 0\}$$

η οποία αποτελείται από μια ομάδα σημείων (X, Y) , τα οποία είναι πιο ακραία ή το ίδιο ακραία με το (x, y) . Με βάση αυτή την κρίσιμη περιοχή μπορούμε να παράγουμε ένα p -value το οποίο να μην εξαρτάται από την ενοχλητική παράμετρο για τον έλεγχο του προβλήματος. Οπότε για το πρόβλημα του Behrens – Fisher το γενικευμένο p -value είναι:

$$\begin{aligned} p(x) &= \Pr(T \neq t_{obs} \mid \theta = 0) = 1 - \Pr(T \leq t_{obs}) = \\ &= 1 - E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[(\bar{x} - \bar{y}) \left(\frac{n_1 + n_2 - 2}{\frac{s_1^2}{B} + \frac{s_2^2}{1-B}} \right)^{1/2} \right] \right\} \\ &= E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[(\bar{y} - \bar{x}) \left(\frac{n_1 + n_2 - 2}{\frac{s_1^2}{B} + \frac{s_2^2}{1-B}} \right)^{1/2} \right] \right\} \end{aligned}$$

Για πιο εύκολο και γρήγορο υπολογισμό του παραπάνω p-value μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τον ακόλουθο αλγόριθμο ο οποίος βρίσκει τον Monte Carlo εκτιμητή του γενικευμένου p-value για τα δοθέντα δεδομένα x_1, x_2, \dots, x_{n_1} και y_1, y_2, \dots, y_{n_2} .

ΒΗΜΑ 1: Υπολογίζουμε τα : $\bar{x} = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} x_i$, $\bar{y} = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} y_i$,

$$s_1^2 = \frac{1}{n_1 - 1} \sum_{i=1}^{n_1} (x_i - \bar{x})^2 \text{ και } s_2^2 = \frac{1}{n_2 - 1} \sum_{i=1}^{n_2} (y_i - \bar{y})^2$$

ΒΗΜΑ 2 : Για $i = 1$ ως r :

- Παράγουμε $Z \sim N(0,1)$, $U \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V \sim \chi_{n_2-1}^2$
- Ορίζουμε την ποσότητα $T_i = Z \left[\frac{s_1^2}{U} + \frac{s_2^2}{V} \right]^{1/2}$
- Ορίζουμε $K_i = 1$ αν $T_i \leq t_{\text{obs}} = \bar{x} - \bar{y} - \theta$, αλλιώς $K_i = 0$.

ΒΗΜΑ 3 : Ορίζουμε ως γενικευμένο p-value την ποσότητα : $\frac{1}{r} \sum_{i=1}^r K_i$

2.3.2. Λόγος δυο μέσων τιμών κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις - Πρόβλημα του Fieller

Βασισμένοι στα γενικευμένα p-values μπορούμε να αναπτύξουμε ελέγχους υποθέσεων για την λύση του προβλήματος του Fieller, δηλαδή για το λόγο των μέσων δυο κανονικών πληθυσμών. Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί μεγάλη προσοχή στο πρόβλημα του Fieller επειδή εμφανίζεται συχνά σε έρευνες στην περιοχή της βιοχημείας και σε βιοϊσοδυναμίες φαρμάκων. Στην βιοχημεία η δραστηκότητα του ελεγχόμενου παρασκευάσματος συγκρίνεται με αυτή του τυπικού παρασκευάσματος εκτιμώντας τον λόγο των δυο μέσων τιμών. Αντιθέτως στις βιοϊσοδυναμίες ενδιαφερόμαστε για την σχέση μεταξύ της δραστηκότητας δυο φαρμάκων ή δυο θεραπειών.

Ο Fieller το 1954 έδωσε μια ευρείας χρήσης γενική διαδικασία για την κατασκευή διαστημάτων εμπιστοσύνης για το λόγο των μέσων τιμών δυο κανονικών κατανομών. Έστω X_1, X_2, \dots, X_n και Y_1, Y_2, \dots, Y_n δυο ανεξάρτητες ομάδες παρατηρήσεων των τυχαίων μεταβλητών X και Y από δυο κανονικούς πληθυσμούς $N(\mu_1, \sigma_1^2)$ και $N(\mu_2, \sigma_2^2)$

αντίστοιχα, όπου μ_i, σ_i^2 άγνωστα για κάθε $i = 1, 2$. Ο Fieller ανέπτυξε ένα ακριβές διάστημα εμπιστοσύνης για τον λόγο $\theta = \mu_1 / \mu_2$ ακολουθώντας την ακόλουθη διαδικασία. Για $i = 1, 2, \dots, n$ ορίζουμε $Z_{\theta_i} = Y_i - \theta X_i$ και $\bar{Z}_{\theta_i} = \bar{Y} - \theta \bar{X}$. Το \bar{Z}_{θ_i} ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή μηδέν και διακύμανση:

$$\begin{aligned} V_{\theta} &= V(\bar{Y} - \theta \bar{X}) = V\left[\frac{1}{n}\left(\sum_{i=1}^n (Y_i - \theta X_i)\right)\right] = \frac{1}{n^2} \left(\sum_{i=1}^n V(Y_i - \theta X_i)\right) = \frac{1}{n} V(Y - \theta X) \\ &= \frac{1}{n} [V(Y) + V(X) - 2\text{Cov}(Y, \theta X)] \\ &= \frac{1}{n} [\sigma_1^2 + \theta^2 \sigma_2^2 - 2\theta \rho \sigma_1 \sigma_2] \end{aligned}$$

η οποία μπορεί να εκτιμηθεί από την:

$$\begin{aligned} \hat{V}_{\theta} &= \frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (Z_{\theta_i} - \bar{Z}_{\theta})^2 \\ &= \frac{1}{n-1} (S_1^2 + \theta^2 S_2^2 - 2\theta S_{1,2}) \end{aligned}$$

όπου: $S_1^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2$, $S_2^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2$ και $S_{1,2} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})(X_i - \bar{X})$

Το \hat{V}_{θ} είναι ένας αμερόληπτος εκτιμητής του V_{θ} , ανεξάρτητος από το \bar{Z}_{θ} , για τον οποίο ισχύει $(n-1) \hat{V}_{\theta}/V_{\theta} \sim \chi_{n-1}^2$, οπότε η τυχαία ποσότητα $\bar{Z}_{\theta} / \sqrt{\hat{V}_{\theta}}$ θα ακολουθεί Student t κατανομή με $n-1$ βαθμούς ελευθερίας. Επομένως ένα $1-\alpha$ διάστημα εμπιστοσύνης για το λόγο θ προκύπτει από τα όρια:

$$\left\{ \theta : \frac{\bar{Z}_{\theta}^2}{V_{\theta}} \leq t_{n-1, \alpha/2}^2 \right\}$$

Στην περίπτωση ομοσκεδαστικότητας ο Koschat (1987) έδειξε ότι μεταξύ μιας μεγάλης ομάδας αξιοσημείωτων διαδικασιών για τον λόγο μέσω των κανονικών κατανομών η λύση του Fieller είναι η μόνη η οποία δίνει ακριβής πιθανότητα κάλυψης για όλες τις παραμέτρους. Στην περίπτωση όμως άνισων διακυμάνσεων όπως έδειξαν οι

Lee και Lin (2004), η παραπάνω μέθοδος του Fieller δίνει πλατιά διαστήματα εμπιστοσύνης. Για το λόγο αυτό, πρότειναν μια λύση βασισμένα στα γενικευμένα p-values, η οποία απέδειξαν ότι δίνει πιο ακριβή αποτελέσματα.

Έστω X_1, X_2, \dots, X_{n_1} και Y_1, Y_2, \dots, Y_{n_2} δυο ανεξάρτητες ομάδες παρατηρήσεων των τυχαίων μεταβλητών X και Y από δυο κανονικούς πληθυσμούς $N(\mu_1, \sigma_1^2)$ και $N(\mu_2, \sigma_2^2)$ αντίστοιχα, όπου μ_i, σ_i^2 άγνωστα για κάθε $i = 1, 2$. Θεωρούμε το πρόβλημα του ελέγχου υποθέσεων που αφορά την παράμετρο $\theta = \mu_1 / \mu_2$, δηλαδή $H_0: \theta \leq \theta_0$ έναντι $H_a: \theta > \theta_0$. Η υπόθεση αυτή μπορεί να μετασχηματισθεί την $H_0^*: \delta \leq 0$ έναντι $H_a^*: \delta > 0$, όπου $\delta = \mu_1 - \theta_0 \mu_2$ οπότε μπορούμε να χειριστούμε αυτό το πρόβλημα ως ένα ψευδοπρόβλημα Behrens – Fisher. Με βάση το γεγονός ότι η $\bar{X} - \theta_0 \bar{Y} \sim N\left(\delta, \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)\right)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο δ του ενδιαφέροντός μας, την ενοχλητική παράμετρο $\eta = \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)$ και σε αντιστοιχία με την τυχαία ποσότητα (2.2), η επόμενη ποσότητα μπορεί να θεωρηθεί ως μια γενικευμένη ποσότητα ελέγχου για την παραγωγή του γενικευμένου p-value για τον έλεγχο της H_0^* .

$$T(X, Y; x, y, \mu_1, \mu_2, \sigma_1^2, \sigma_2^2) = \frac{(\bar{X} - \theta_0 \bar{Y}) - \delta}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_1^2 s_1^2}{n_1 S_1^2} + \theta_0^2 \frac{\sigma_2^2 s_2^2}{n_2 S_2^2}} + \delta \quad (2.3)$$

όπου :

$$\bar{X} = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} X_i, \quad \bar{Y} = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_i$$

$$S_1^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (X_i - \bar{X})^2}{n_1} \quad \text{και} \quad S_2^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_2} (Y_i - \bar{Y})^2}{n_2}$$

και s_1, s_2 είναι οι παρατηρούμενες τιμές των S_1 και S_2 αντίστοιχα. Η παρατηρούμενη τιμή της T είναι :

$$t_{\text{obs}} = T(x, y; x, y, \mu_1, \mu_2, \sigma_1^2, \sigma_2^2) = \frac{(\bar{x} - \theta_0 \bar{y}) - \delta}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_1^2 s_1^2}{n_1 s_1^2} + \theta_0^2 \frac{\sigma_2^2 s_2^2}{n_2 s_2^2}} + \delta$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{(\bar{x} - \theta_0 \bar{y}) - \delta}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \theta_0 \frac{\sigma_2^2}{n_2}} + \delta \\
&= (\bar{x} - \theta_0 \bar{y}) - \delta + \delta = \bar{x} - \theta_0 \bar{y}
\end{aligned}$$

όπου \bar{x}, \bar{y} είναι οι παρατηρούμενες τιμές των \bar{X} και \bar{Y} αντίστοιχα. Οπότε η κατανομή του T είναι η ίδια με την κατανομή του $Z \left(\frac{s_1^2}{U} + \theta_0^2 \frac{s_2^2}{V} \right)^{1/2}$, όπου $Z \sim N(0, 1)$, $U = \frac{n_1 S_1^2}{\sigma_1^2} \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V = \frac{n_2 S_2^2}{\sigma_2^2} \sim \chi_{n_2-1}^2$ και οι τυχαίες μεταβλητές Z , U και V είναι ανεξάρτητες. Εφόσον η T είναι στοχαστικά αυξανόμενη ως προς δ το γενικευμένο p -value για τον έλεγχο της αριστερόπλευρης μηδενικής υπόθεσης της μορφής $H_0: \delta \leq 0$ έναντι $H_1: \delta > 0$ είναι:

$$\begin{aligned}
p(x) &= Pr(T \neq t_{obs} | \delta = 0) \\
&= Pr \left[T \cdot (n_1 + n_2 - 2)^{-1/2} \left(\frac{s_1^2}{B} + \theta_0^2 \frac{s_2^2}{1-B} \right)^{1/2} \geq \bar{x} - \theta_0 \bar{y} \right] \\
&= E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[-\frac{\sqrt{(n_1+n_2-2)}(\bar{x} - \theta_0 \bar{y})}{\sqrt{\frac{s_1^2}{B} - \theta_0^2 \frac{s_2^2}{1-B}}} \right] \right\}
\end{aligned}$$

όπου $T = Z \left[\frac{(U+V)}{(n_1+n_2-2)} \right]^{-1/2}$ η οποία ακολουθεί t κατανομή με $(n_1 + n_2 - 2)$ β.ε. και είναι ανεξάρτητη από την $B = U/U+V$ που ακολουθεί Βήτα με παραμέτρους $(n_1 - 1)/2$ και $(n_2 - 1)/2$. Η $G_{n_1+n_2-2}$ είναι η σ.π.π. της t κατανομής με $(n_1 + n_2 - 2)$ β.ε. και με το E_B συμβολίζουμε την πρόβλεψη δοθέντος B .

Το παραπάνω p -value μπορεί να υπολογισθεί με τον ακόλουθο αλγόριθμο, ο οποίος βρίσκει τον Monte Carlo εκτιμητή του γενικευμένου p -value για τα δοθέντα δεδομένα x_1, x_2, \dots, x_{n_1} και y_1, y_2, \dots, y_{n_2} .

ΒΗΜΑ 1: Υπολογίζουμε τα : $\bar{x} = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} x_i$, $\bar{y} = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} y_i$,

$$s_1^2 = \frac{1}{n_1 - 1} \sum_{i=1}^{n_1} (x_i - \bar{x})^2 \quad \text{και} \quad s_2^2 = \frac{1}{n_2 - 1} \sum_{i=1}^{n_2} (y_i - \bar{y})^2$$

ΒΗΜΑ 2 : Για $i = 1$ ως r :

▪ Παράγουμε $Z \sim N(0,1)$, $U \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V \sim \chi_{n_2-1}^2$

▪ Ορίζουμε την ποσότητα $T_i = Z \left[\frac{s_1^2}{U} + \theta_0^2 \frac{s_2^2}{V} \right]^{1/2}$

▪ Ορίζουμε $K_i = 1$ αν $T_i \not\leq t_{\text{obs}} = \bar{x} - \theta_0 \bar{y}$, αλλιώς $K_i = 0$.

ΒΗΜΑ 3 : Ορίζουμε ως γενικευμένο p-value την ποσότητα : $\frac{1}{r} \sum_{i=1}^r K_i$

2.3.3. Έλεγχος της μέσης τιμής λογαριθμοκανονικής κατανομής

Γνωρίζουμε ότι σε πολλές εφαρμογές της πραγματικής ζωής οι τυχαίες μεταβλητές έχουν έμφυτη θετική υπόσταση. Η καταλληλότητα της λογαριθμοκανονικής κατανομής έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές από αυτές τις εφαρμογές, όπως σε βιολογικά δεδομένα. Έστω X μια τυχαία μεταβλητή η οποία έχει λογαριθμοκανονική κατανομή, και έστω μ και σ^2 αντίστοιχα η μέση τιμή και η διακύμανση του $\ln(X)$, έτσι ώστε $Y = \ln(X) \sim N(\mu, \sigma^2)$. Πολλοί από τους παραμέτρους του ενδιαφέροντος μας που αφορούν λογαριθμοκανονική κατανομή καταλήγουν να είναι συναρτήσεις που περιέχουν το μ και το σ^2 μαζί, οπότε εμφανίζονται δυσκολίες στο να κατασκευάσουμε ακριβές και βέλτιστα τεστ για τις παραμέτρους αυτές. Συγκεκριμένα ο μέσος της λογαριθμοκανονικής κατανομής δίνεται από τον τύπο :

$$E(X) = E(\exp(Y)) = \exp(\eta) \quad \text{όπου} \quad \eta = \mu + \frac{\sigma^2}{2}$$

Άρα είναι ολοφάνερο ότι ο υπολογισμός μιας διαδικασίας ελέγχου που αφορά την μέση τιμή της X είναι ισοδύναμος με τον υπολογισμό της αντίστοιχης ποσότητας η . Το πρόβλημα της κατασκευής ελέγχων για το η διεκπεραιώθηκε από τον Land σε μια σειρά

από άρθρα (1971,1972,1973,1975,1988) καθώς και από πολλούς άλλους. Ωστόσο, οι έλεγχοι που βασίζονται στις θεωρίες αυτές είναι υποθετικοί, δηλαδή βασίζονται σε μια υποθετική κατανομή, πράγμα που κάνει τις διαδικασίες αυτές κάπως δύσκολο να χρησιμοποιηθούν στην πράξη. Τα αριθμητικά αποτελέσματα της μελέτης των Zhou και Gao (1997) έδειξαν ότι με βάση την πιθανότητα κάλυψης, όλες αυτές οι διαδικασίες είναι πολύ συντηρητικές ή πολύ ανεκτές, εκτός και εάν το μέγεθος του δείγματος είναι μεγάλο. Στην περίπτωση αυτή η διαδικασία του Cox (Zhou και Gao, 1997) είναι ικανοποιητική. Εντούτοις σε πολλές εφαρμογές όπου έχουμε λογαριθμοκανονικά δεδομένα, είναι αρκετά σύνθητες φαινόμενο να απαιτούνται πορίσματα βασισμένα σε μικρά δείγματα. Οπότε, με την χρησιμοποίηση της ιδέας των γενικευμένων p-values σκοπός μας είναι να παράγουμε ακριβή τεστ για το η . Ας υποθέσουμε το πρόβλημα του ελέγχου της υπόθεσης $H_0 : \eta \leq \eta_0$ έναντι $H_a : \eta > \eta_0$ Θα αναπτύξουμε ένα τεστ για την υπόθεση αυτή βασισμένοι στα επαρκή στατιστικά :

$$\bar{Y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Y_i \quad S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}$$

Επίσης συμβολίζουμε με \bar{y} και s^2 τις παρατηρούμενες τιμές του \bar{Y} και S^2 αντίστοιχα. Με σκοπό να ορίσουμε p-value για τον έλεγχο της υπόθεσης H_0 , πρώτα θα ορίσουμε μια γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου T_1 η οποία θα είναι μια συνάρτηση των τυχαίων μεταβλητών \bar{Y} και S^2 και των παρατηρούμενων τιμών τους \bar{y} και s^2 , όπου T_1 μπορεί να εξαρτάται από άγνωστους παραμέτρους. Ωστόσο η T_1 απαιτείται να ικανοποιεί τις επόμενες συνθήκες:

1. Η παρατηρούμενη τιμή του T_1 είναι ελεύθερη από κάθε άγνωστη παράμετρο.
2. Για $\eta = \eta_0$, η κατανομή του T_1 είναι ελεύθερη από κάθε άγνωστη παράμετρο.
3. Η κατανομή του T_1 να είναι στοχαστικά αυξανόμενη με το η .

Οπότε με βάση τις παραπάνω υποθέσεις ορίζουμε:

$$\begin{aligned} T_1 &= \bar{y} - \frac{\bar{Y} - \mu}{S/\sqrt{n}} s/\sqrt{n} + \frac{1}{2} \cdot \frac{\sigma^2}{S^2} s^2 - \eta \\ &= \bar{y} - \frac{Z}{U/\sqrt{n-1}} s/\sqrt{n} + \frac{1}{2} \cdot \frac{s^2}{U^2/(n-1)} - \eta \end{aligned} \quad (2.4)$$

όπου $Z = \sqrt{n}(\bar{Y} - \mu)/\sigma \sim N(0,1)$ και είναι ανεξάρτητη από την $U^2 = (n-1)S^2/\sigma^2 \sim \chi_{n-1}^2$.

Έστω t_{obs1} η παρατηρούμενη γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου T_1 , όπου η T_1 ικανοποιεί τις τρεις παραπάνω υποθέσεις. Η παρατηρούμενη τιμή της T_1 λαμβάνεται αντικαθιστώντας τα \bar{Y} και S^2 με τα \bar{y} και s^2 αντιστοίχως στην πρώτη έκφραση της (2.4) και παίρνει την τιμή μηδέν. Επίσης παρατηρούμε ότι η T_1 μειώνεται στοχαστικά με το η άρα το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της H_0 ορίζεται ως εξής:

$$p(x) = Pr(T_1 \leq t_{obs1} | \eta = \eta_0) = Pr(T_1 \leq 0 | \eta = \eta_0)$$

Ο έλεγχος που βασίζεται σε αυτό το γενικευμένο p-value απορρίπτει την H_0 αν αυτό το γενικευμένο p-value είναι μικρότερο από κάποιο προκαθορισμένο επίπεδο σημαντικότητας α . Ένας εύκολος και γρήγορος υπολογισμός του παραπάνω p-value μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο αλγόριθμο ο οποίος βρίσκει τον Monte Carlo εκτιμητή του γενικευμένου p-value για τα δοθέντα δεδομένα X_1, X_2, \dots, X_n .

ΒΗΜΑ 1: Για $i = 1$ ως n : Υπολογίζουμε τα : $\ln(x_i)$

ΒΗΜΑ 2: Υπολογίζουμε τα : $\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$ και $s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$

ΒΗΜΑ 3 : Για $i = 1$ ως r :

- Παράγουμε $Z \sim N(0,1)$ και $U^2 \sim \chi_{n-1}^2$
- Ορίζουμε την ποσότητα $T_i = \bar{y} - \frac{Z}{U/\sqrt{n-1}} s/\sqrt{n} + \frac{1}{2} \frac{s^2}{U^2/(n-1)} - \eta$
- Ορίζουμε $K_i = 1$ αν $T_i \leq t_{obs1} = 0$, αλλιώς $K_i = 0$.

ΒΗΜΑ 4 : Ορίζουμε ως γενικευμένο p-value την ποσότητα : $\frac{1}{r} \sum_{i=1}^r K_i$

2.3.4. Έλεγχος της μέσης τιμής δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών.

Στην περίπτωση της σύγκρισης των μέσων τιμών δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία μπορούμε να παράγουμε ένα

ακριβές τεστ βασισμένο στην ιδέα των γενικευμένων p-values. Έστω X_1 και X_2 δυο ανεξάρτητες λογαριθμοκανονικές τυχαίες μεταβλητές έτσι ώστε $Y_1 = \ln(X_1) \sim N(\mu_1, \sigma_1^2)$ και $Y_2 = \ln(X_2) \sim N(\mu_2, \sigma_2^2)$ και έστω :

$$\eta_1 = \mu_1 + \frac{\sigma_1^2}{2} \quad \text{και} \quad \eta_2 = \mu_2 + \frac{\sigma_2^2}{2}$$

έτσι ώστε $E(X_1) = \exp(\eta_1)$ και $E(X_2) = \exp(\eta_2)$. Παρατηρούμε ότι για την σύγκριση των δυο λογαριθμοκανονικών μέσων, το πρόβλημα ανάγεται στον έλεγχο της διαφοράς $\eta_1 - \eta_2$. Με την χρησιμοποίηση της ιδέας των γενικευμένων p-values σκοπός μας είναι να παράγουμε ακριβή τεστ για τη διαφορά $\eta_1 - \eta_2$ βασισμένοι στα τυχαία δείγματα $Y_{1i} = \ln(X_{1i})$ για $i = 1, 2, \dots, n_1$ και $Y_{2j} = \ln(X_{2j})$ για $j = 1, 2, \dots, n_2$, καθώς και στα επαρκή στατιστικά :

$$\bar{Y}_1 = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{1i} \quad , \quad \bar{Y}_2 = \frac{1}{n_2} \sum_{j=1}^{n_2} Y_{2j}$$

$$S_1^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (Y_{1i} - \bar{Y}_1)^2}{n_1 - 1} \quad , \quad S_2^2 = \frac{\sum_{j=1}^{n_2} (Y_{2j} - \bar{Y}_2)^2}{n_2 - 1}$$

Επίσης συμβολίζουμε με $\bar{y}_1, \bar{y}_2, s_1^2$ και s_2^2 τις παρατηρούμενες τιμές των $\bar{Y}_1, \bar{Y}_2, S_1^2$ και S_2^2 αντίστοιχα.

Ας θεωρήσουμε το πρόβλημα του ελέγχου της υπόθεσης $H_0 : \eta_1 \leq \eta_2$ έναντι $H_a : \eta_1 > \eta_2$. Για τον έλεγχο της υπόθεσης αυτής βασιζόμαστε στην τυχαία ποσότητα (2.4) που ορίσαμε στην περίπτωση της μιας λογαριθμοκανονικής κατανομής, ορίζουμε τις γενικευμένες μεταβλητές ελέγχου T_{2i} , για $i = 1, 2$, οι οποίες είναι συναρτήσεις των τυχαίων μεταβλητών \bar{Y}_i και S_i^2 για $i = 1, 2$, των παρατηρούμενων τιμών αυτών και εξαρτώνται από άγνωστες παραμέτρους.

$$T_{2i} = \bar{y}_i - \frac{\bar{Y}_i - \mu_i}{S_i / \sqrt{n_i}} s_i / \sqrt{n_i} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_i^2}{S_i^2} s_i^2$$

$$= \bar{y}_i - \frac{Z_i}{U_i/\sqrt{n_i-1}} s_i/\sqrt{n_i} + \frac{1}{2} \frac{s_i^2}{U_i^2/(n_i-1)}, i=1, 2.$$

όπου $Z_i = \sqrt{n_i} (\bar{Y}_i - \mu_i)/\sigma_i \sim N(0, 1)$ και $U_i^2 = (n_i - 1)S_i^2 / \sigma_i^2 \sim \chi_{n_i-1}^2$ για $i = 1, 2$ και οι οποίες είναι επίσης ανεξάρτητες. Οπότε για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης H_0 , δηλαδή για τον έλεγχο των μέσων τιμών δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών ορίζουμε την γενικευμένη μεταβλητή ελέγχου :

$$T_2 = T_{21} - T_{22} - (\eta_1 - \eta_2) \quad \text{και έστω} \quad T_3 = T_{21} - T_{22}$$

όπου είναι εύκολο να επαληθεύσουμε ότι η T_2 ικανοποιεί της συνθήκες της προηγούμενης ενότητας αντικαθιστώντας το η με $\eta_1 - \eta_2$ και το η_0 με το 0. Ακόμα παρατηρούμε ότι η κατανομή του T_2 μειώνεται στοχαστικά με το $\eta_1 - \eta_2$. Έτσι το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της υπόθεσης H_0 δίνεται από τον τύπο:

$$P(x) = Pr(T_2 \leq 0 \mid \eta_1 - \eta_2 = 0) = Pr(T_3 \leq 0)$$

Ένας εύκολος και γρήγορος υπολογισμός του παραπάνω p-value μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο αλγόριθμο ο οποίος βρίσκει το Monte Carlo εκτιμητή του γενικευμένου p-value για τα δοθέντα δεδομένα $x_{11}, x_{21}, \dots, x_{n_1,1}$ και $x_{12}, x_{22}, \dots, x_{n_2,2}$.

ΒΗΜΑ 1: Για $i = 1$ ως n : Υπολογίζουμε τα : $y_{i1} = \ln(x_{i1})$ και $y_{i2} = \ln(x_{i2})$

ΒΗΜΑ 2: Υπολογίζουμε τα : $\bar{y}_1 = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} y_{i1}$, $\bar{y}_2 = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} y_{i2}$,

$$s_1^2 = \frac{1}{n_1 - 1} \sum_{i=1}^{n_1} (y_{i1} - \bar{y}_1)^2 \quad \text{και} \quad s_2^2 = \frac{1}{n_2 - 1} \sum_{i=1}^{n_2} (y_{i2} - \bar{y}_2)^2$$

ΒΗΜΑ 3 : Για $j = 1$ ως r :

- Παράγουμε $Z \sim N(0,1)$, $U^2 \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V \sim \chi_{n_2-1}^2$
- Για $i = 1$ ως 2 :

- ◆ Ορίζουμε την ποσότητα :

$$T_{2i} = \bar{y}_i - \frac{\bar{Y}_i - \mu_i}{S_i / \sqrt{n_i}} s_i / \sqrt{n_i} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_i^2}{S_i^2} s_i^2$$

- Ορίζουμε την ποσότητα : $T_j = T_{21} - T_{22}$
- Ορίζουμε $K_j = 1$ αν $T_j \leq t_{\text{obs}} = 0$, αλλιώς $K_j = 0$.

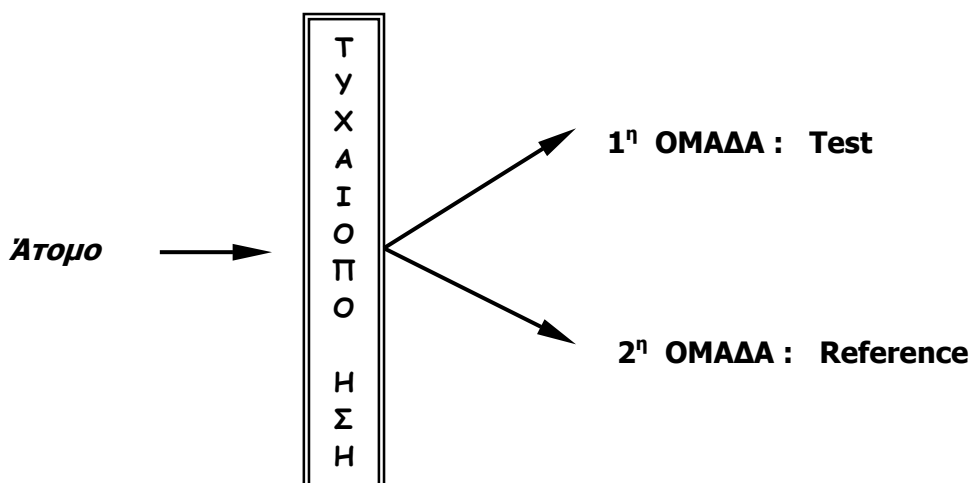
ΒΗΜΑ 4 : Ορίζουμε ως γενικευμένο p-value την ποσότητα : $\frac{1}{r} \sum_{j=1}^r K_j$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο :

ΠΑΡΑΛΛΗΛΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (PARALLEL DESIGN)

3.1 Περιγραφή παράλληλου σχεδιασμού και σύγκριση με τον διασταυρούμενο

Ο παράλληλος σχεδιασμός είναι ένας πλήρης τυχαιοποιημένος σχεδιασμός, στον οποίο κάθε άτομο παίρνει ένα και μόνο ένα τύπο του φαρμάκου με τυχαίο τρόπο. Ο απλούστερος παράλληλος σχεδιασμός είναι ο παράλληλος σχεδιασμός δυο ομάδων, ο οποίος συγκρίνει δυο μορφές ενός φαρμάκου. Ένα παράδειγμα παράλληλου σχεδιασμού περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα.



Αν και σε κλινικές δοκιμές φάσης I και φάσης II συχνά χρησιμοποιείται ο παράλληλος σχεδιασμός, αυτός δεν είναι κατάλληλος σε μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας. Αυτό συμβαίνει επειδή η μεταβλητότητα των παρατηρήσεων (π.χ. του AUC) αποτελείται από την μεταξύ και την εντός των ατόμων μεταβλητότητα, ενώ ο καθορισμός της βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των μορφών ενός φαρμάκου συνήθως βασίζεται

στην εντός των ατόμων μεταβλητότητα. Ο παράλληλος σχεδιασμός δεν είναι ικανός να αναγνωρίσει και να διαχωρίσει αυτές τις δυο πηγές μεταβλητότητας επειδή κάθε άτομο στον παράλληλο σχεδιασμό συνήθως λαμβάνει το ίδιο φάρμακο κατά την διάρκεια ολόκληρης της μελέτης. Παρόλο που η ισοδυναμία των μέσων βιοδιαθεσιμότητων μεταξύ των διαφορετικών μορφών μπορεί να εκτιμηθεί με αυτόν τον σχεδιασμό, η σύγκριση αυτή θα βασίζεται στην μεταξύ και στην εντός των ατόμων μεταβλητότητα. Ως αποτέλεσμα για ορισμένο αριθμό ατόμων, ο παράλληλος σχεδιασμός θα παρέχει ένα λιγότερο ακριβές στατιστικό συμπέρασμα για την απόκλιση της μέσης βιοδιαθεσιμότητας μεταξύ των διαφορετικών μορφών του φαρμάκου, σε σχέση πάντα με τον διασταυρούμενο σχεδιασμό.

Αν και ο παράλληλος σχεδιασμός δεν χρησιμοποιείται ευρέως σε μελέτες βιοδιαθεσιμότητας λόγω της ανικανότητας του να αναγνωρίζει και να απομακρύνει την μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα από την σύγκριση μεταξύ των μορφών του φαρμάκου, υπάρχουν σπάνιες περιπτώσεις στις οποίες ο παράλληλος σχεδιασμός μπορεί να είναι πιο κατάλληλος από ότι ο διασταυρούμενος σχεδιασμός. Αν παραδείγματος χάρη το συγκεκριμένο φάρμακο γνωρίζουμε ότι έχει πολύ μεγάλη περίοδο εξάλειψης (*half-life*) δεν είναι καλό να προσαρμόσουμε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό. Σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό ένα ικανοποιητικό μήκος περιόδου εξάλειψης είναι απαραίτητο για να υπολογίσουμε τα πιθανά μεταφερόμενα αποτελέσματα και τις συνέπειες του φαρμάκου, οπότε η μελέτη μπορεί να διαρκέσει αξιοσημείωτα μεγάλο χρονικό διάστημα. Αυτό μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των παρατηρήσεων και να κάνει την ολοκλήρωση της μελέτης δύσκολη. Επιπλέον αν η μελέτη σχετίζεται με βαριά αρρώστους ασθενείς ένας παράλληλος σχεδιασμός συνήθως συνιστάται έτσι ώστε η μελέτη να ολοκληρωθεί γρηγορότερα. Ως αποτέλεσμα ο παράλληλος σχεδιασμός μπορεί να θεωρηθεί ως εναλλακτικός του διασταυρούμενου σχεδιασμού αν :

1. Η μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα συνδέεται ελάχιστα με την εντός των ατόμων μεταβλητότητα.
2. Το φάρμακο είναι ενδεχομένως τοξικό ή έχει πολύ μεγάλη περίοδο εξάλειψης.
3. Ο πληθυσμός του ενδιαφέροντος μας ενδέχεται να αποτελείται από βαριά αρρώστους ασθενείς.
4. Το κόστος της αύξησης του αριθμού των ατόμων είναι πολύ μικρότερο σε σχέση με το κόστος πρόσθεσης μιας πρόσθετης θεραπευτικής περιόδου.

3.2 Υπόθεση κανονικότητας

Αρκετές φορές σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιείται ένα κανονικό μοντέλο. Σε αυτό το μοντέλο οι αρχικές παρατηρήσεις των δυο μορφών του φαρμάκου κατανέμονται κανονικά με μέσες τιμές μ_T και μ_R αντίστοιχα. Το μοντέλο αυτό είναι διαφορετικό από το λογαριθμοκανονικό μοντέλο και η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί αφορά το λόγο των μέσων τιμών των κανονικών παρατηρήσεων. Για αυτό επιθυμούμε να ελέγξουμε την υπόθεση (1.2), ενώ δίνουμε μικρότερη βαρύτητα στην υπόθεση (1.3).

3.2.1 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση κανονικών κατανομών ίσων διακυμάνσεων σ^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου

Έστω X_1, X_2, \dots, X_{n_1} ένα τυχαίο δείγμα από κανονικό πληθυσμό με μέση τιμή μ_T και διακύμανση σ^2 , και έστω Y_1, Y_2, \dots, Y_{n_2} ένα ανεξάρτητο τυχαίο δείγμα από ένα κανονικό πληθυσμό με μέση τιμή μ_R και διακύμανση σ^2 . Η υπόθεση βιοϊσοδυναμίας που θα πρέπει να ελεγχθεί σε αυτήν την περίπτωση είναι η υπόθεση (1.2) δηλαδή :

$$H_0 : \frac{\mu_T}{\mu_R} \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \frac{\mu_T}{\mu_R} \geq \delta_U \quad \text{έναντι} \quad H_a : \delta_L < \frac{\mu_T}{\mu_R} < \delta_U$$

όπου θεωρούμε ότι $\delta_L = 0,80$ και $\delta_U = 1,20$ βασισμένοι στον κανόνα ± 20 ο οποίος χρησιμοποιείται πιο συχνά, ενώ το FDA χρησιμοποιεί $\delta_L = 0,80$ και $\delta_U = 1,25$.

Η παράμετρος μ_R παίρνει θετικές τιμές επειδή η εκτιμώμενη τιμή, του AUC ή C_{max} είναι θετική, οπότε η προηγούμενη υπόθεση μπορεί να ξαναπαρουσιαστεί ως εξής:

$$\begin{aligned} H_0 : \mu_T - \delta_L \mu_R \leq 0 \quad \text{ή} \quad \mu_T - \delta_U \mu_R \geq 0 \\ \text{έναντι} \quad H_a : \mu_T - \delta_L \mu_R > 0 \quad \text{ή} \quad \mu_T - \delta_U \mu_R < 0 \end{aligned} \quad (3.1)$$

και μπορεί να χωριστεί σε δυο μονόπλευρες υποθέσεις βιοϊσοδυναμίας :

$$H_{01} : \mu_T - \delta_L \mu_R \leq 0 \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \mu_T - \delta_L \mu_R > 0 \quad (3.2)$$

$$H_{02} : \mu_T - \delta_U \mu_R \geq 0 \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \mu_T - \delta_U \mu_R < 0$$

Ο έλεγχος της υπόθεσης (3.2) παρουσιάστηκε πρώτα από τον Sasabuchi σε μια σειρά από άρθρα (1980, 1988α,β), ο οποίος εφάρμοσε την θεωρία του Fieller για τον έλεγχο της παραπάνω υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας. Έστω \bar{X} , \bar{Y} και S^2 οι δυο δειγματικοί μέσοι και η συνολική εκτίμηση του σ^2 . Ο Sasabuchi έδειξε ότι το μεγέθους α τεστ πιθανοφάνειας για τον έλεγχο της υπόθεσης (3.2) απορρίπτει την H_0 αν :

$$T_1 \geq t_{\alpha,r} \quad \text{και} \quad T_2 \leq -t_{\alpha,r}$$

όπου

$$T_1 = \frac{\bar{X} - \delta_L \bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{\delta_L^2}{n_2}}} \quad \text{και} \quad T_2 = \frac{\bar{X} - \delta_U \bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{\delta_U^2}{n_2}}}$$

και ονόμασε τον έλεγχο αυτό τεστ T_1/T_2 .

Το τεστ T_1/T_2 συνήθως θεωρείται ένας έλεγχος τομής – ένωσης (*intersection-union test*). Το σύνηθες μεγέθους α t-τεστ για τον έλεγχο της $H_{01} : \mu_T - \delta_L \mu_R \leq 0$ έναντι της $H_{a1} : \mu_T - \delta_L \mu_R > 0$ είναι το τεστ που απορρίπτει την H_{01} αν $T_1 \geq t_{\alpha,r}$. Ομοίως το σύνηθες μεγέθους α t-τεστ για τον έλεγχο της $H_{02} : \mu_T - \delta_U \mu_R \geq 0$ έναντι της $H_{a2} : \mu_T - \delta_U \mu_R < 0$ είναι το τεστ που απορρίπτει την H_{02} αν $T_2 \leq -t_{\alpha,r}$. Επειδή η H_0 είναι η τομή των H_{01} και H_{02} , αυτά τα δυο t-τεστ μπορούν να συνδυαστούν χρησιμοποιώντας την μέθοδο της τομής – ένωσης (*intersection-union*) για να πάρουμε ένα επιπέδου α τεστ για τον έλεγχο της H_0 έναντι της H_a . Η αξία αυτού του απλού μεγέθους α τεστ έχει ολοκληρωτικά εξετασθεί στην βιβλιογραφία ισοδυναμιών. Οι Chow και Liu το 1992 καθώς και οι Liu και Weng το 1995 αναφέρουν μια τυπική ανάλυση του θέματος ξαναγράφοντας την υπόθεση (3.1) ή (3.2) ως εξής :

$$H_0 : \mu_T - \mu_R \leq (\delta_L - 1) \mu_R \quad \text{ή} \quad \mu_T - \mu_R \geq (\delta_U - 1) \mu_R \quad (3.3)$$

$$\text{έναντι} \quad H_a : (\delta_L - 1) \mu_R \leq \mu_T - \mu_R \leq (\delta_U - 1) \mu_R$$

Η υπόθεση αυτή μοιάζει με την υπόθεση (1.3) αλλά υπάρχει μια σημαντική διαφορά, στην υπόθεση (1.3) τα $\theta_L = \ln(\delta_L)$ και $\theta_U = \ln(\delta_U)$ ήταν γνωστές σταθερές ενώ στην (3.3) τα $(\delta_L - 1) \mu_R$ και $(\delta_U - 1) \mu_R$ είναι άγνωστοι παράμετροι. Ωστόσο η τυπική

διαδικασία ανάλυσης αυτής της υπόθεσης χρησιμοποιεί το TOST τεστ θέτοντας $(\delta_L - 1) \mu_R$ στην θέση της θ_L για την T_L και το $(\delta_U - 1) \mu_R$ στην θέση του θ_U για την T_U . Η τυπική διαδικασία αγνοεί το γεγονός ότι οι σταθερές έχουν αντικατασταθεί από τυχαίες μεταβλητές και συγκρίνει αυτά τα δυο στατιστικά τεστ με τα τυπικά t-ποσοστά όπως στο TOST τεστ. Αυτό το τεστ θα ονομάζεται T_1^* / T_2^* τεστ. Τα στατιστικά που χρησιμοποιούμε στην ανάλυση αυτή είναι :

$$T_1^* = \frac{\bar{X} - \bar{Y} - (\delta_L - 1)\bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = \frac{\bar{X} - \delta_L \bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = T_1 \sqrt{\frac{n_2 + n_1 \delta_L^2}{n_1 + n_2}}$$

$$\text{και } T_2^* = \frac{\bar{X} - \bar{Y} - (\delta_U - 1)\bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = \frac{\bar{X} - \delta_U \bar{Y}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = T_2 \sqrt{\frac{n_2 + n_1 \delta_U^2}{n_1 + n_2}}$$

Τα στατιστικά T_1 και T_2 κατανέμονται κατάλληλα έτσι ώστε να έχουν Student's t - κατανομή, ενώ τα T_1^* και T_2^* δεν έχουν. Το T_1^* / T_2^* τεστ είναι ένα τομής - ένωσης τεστ (*intersection-union*) στο οποίο τα δυο τεστ έχουν διαφορετικό μέγεθος . Το τεστ που απορρίπτει την H_{01} έχει κρίσιμη περιοχή $T_1^* > t_{\alpha,r}$ και μέγεθος :

$$P (T_1^* > t_{\alpha,r} | \mu_T = \delta_L \mu_R) = P \left(T_1 > \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_2 + n_1 \delta_L^2}} t_{\alpha,r} \mid \mu_T = \delta_L \mu_R \right) = \alpha_1 < \alpha$$

$$\text{Επειδή } \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_2 + n_1 \delta_L^2}} > 1$$

Από την άλλη πλευρά, το τεστ που απορρίπτει την H_{02} έχει κρίσιμη περιοχή $T_2^* < -t_{\alpha,r}$ και μέγεθος :

$$P (T_2^* < -t_{\alpha,r} | \mu_T = \delta_U \mu_R) = P \left(T_2 < -\sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_2 + n_1 \delta_U^2}} t_{\alpha,r} \mid \mu_T = \delta_U \mu_R \right) = \alpha_2 > \alpha$$

Οπότε όπως αναφέρουν και οι Berger και Hsu (1996) το τεστ T_1^* / T_2^* για τον έλεγχο της υπόθεσης (3.1) έχει μέγεθος $\alpha_2 > \alpha$, δηλαδή είναι ένα φιλελεύθερο τεστ.

3.2.2 Έλεγχος ίσων διακυμάνσεων μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου

Οι δύο έλεγχοι που αναφέραμε παραπάνω για τον έλεγχο την υπόθεσης λόγου μιας βιοϊσοδυναμίας τονίσαμε ότι μπορούν να εφαρμοστούν μόνο στην περίπτωση που οι διακυμάνσεις των φαρμακοκινητικών παρατηρήσεων για τις δυο μορφές των φαρμάκων είναι ίσες. Οπότε ένα πρώτο βήμα πριν την εφαρμογή κάποιας μεθόδου για τον έλεγχο της βιοϊσοδυναμίας είναι ο έλεγχος της ύπαρξης κοινής διακύμανσης σ^2 που σημαίνει $CV_T = CV_R$. Ένας πρόχειρος, αδρός έλεγχος της ύπαρξης κοινού σ^2 μπορεί να γίνει εξετάζοντας τους συντελεστές μεταβλητότητας (CV) των δυο προϊόντων, όπου $CV_T = \frac{S_T}{\bar{X}_T}$ και $CV_R = \frac{S_R}{\bar{X}_R}$. Σε κάθε άλλη περίπτωση θα πρέπει να εφαρμόσουμε ένα F τεστ για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης $\sigma_T^2 = \sigma_R^2$. Για τον έλεγχο αυτό το στατιστικό που χρησιμοποιούμε είναι το :

$$F = \frac{S_T^2}{S_R^2}$$

το οποίο ακολουθεί F κατανομή με $n_1 - 1$ και $n_2 - 1$ βαθμούς ελευθερίας. Στην περίπτωση που απορρίψουμε αυτή την μηδενική υπόθεση, δηλαδή καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι οι διακυμάνσεις των δυο φαρμάκων είναι διαφορετικές, θα πρέπει να εφαρμόσουμε κάποια άλλη μέθοδο για το έλεγχο της βιοϊσοδυναμίας η οποία δεν θα στηρίζεται στην υπόθεση ίσων διακυμάνσεων.

3.2.3 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση κανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις σ_T^2, σ_R^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου

Όπως αναφέραμε και σε προηγούμενο κεφάλαιο για την σύγκριση του λόγο δυο μέσων τιμών κανονικών κατανομών αν και υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την πραγματοποίησή της, στην περίπτωση άνισων διακυμάνσεων, όλες σχεδόν δεν δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Οπότε όπως αποδείξαμε στο κεφάλαιο 3 βασισμένοι στα γενικευμένα p-values μπορούμε να αναπτύξουμε ελέγχους υποθέσεων για την λύση του προβλήματος αυτού. Επειδή η υπόθεση (3.2) μπορεί να μετασχηματισθεί στις $H_{01}^*: \delta_1 \leq 0$ έναντι $H_{a1}^*: \delta_1 > 0$ και $H_{02}^*: \delta_2 \geq 0$ έναντι $H_{a2}^*: \delta_2 < 0$, όπου $\delta_1 = \mu_T - \delta_L \mu_R$ και $\delta_2 = \mu_T - \delta_U \mu_R$ μπορούμε να χειριστούμε αυτό το πρόβλημα ως ένα ψευδοπρόβλημα

Behrens – Fisher. Με βάση το γεγονός ότι η $\bar{X} - \delta_L \bar{Y} \sim N\left(\delta_1, \left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)\right)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο δ_1 του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο $\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)$ και η $\bar{X} - \delta_U \bar{Y} \sim N\left(\delta_2, \left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)\right)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο δ_2 του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο $\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)$, μπορούμε χρησιμοποιώντας την γενικευμένη τυχαία ποσότητα που ορίσαμε στην σχέση (2.3), να θεωρήσουμε ως γενικευμένες τυχαίες ποσότητες για τον έλεγχο της υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας τις:

$$T_1(X, Y; x, y, \mu_T, \mu_R, \sigma_T^2, \sigma_R^2) = \frac{(\bar{X} - \delta_L \bar{Y}) - \delta_1}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2 S_T^2}{n_1 S_T^2} + \delta_L^2 \frac{\sigma_R^2 S_R^2}{n_2 S_R^2}} + \delta_1$$

$$T_2(X, Y; x, y, \mu_T, \mu_R, \sigma_T^2, \sigma_R^2) = \frac{(\bar{X} - \delta_U \bar{Y}) - \delta_2}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2 S_T^2}{n_1 S_T^2} + \delta_U^2 \frac{\sigma_R^2 S_R^2}{n_2 S_R^2}} + \delta_2$$

όπου $\bar{X} = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} X_i$, $\bar{Y} = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_i$

$$S_T^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (X_i - \bar{X})^2}{n_1} \quad \text{και} \quad S_R^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_2} (Y_i - \bar{Y})^2}{n_2}$$

και s_T, s_R είναι οι παρατηρούμενες τιμές των S_T και S_R αντίστοιχα. Οι παρατηρούμενες τιμές των T_1 και T_2 είναι :

$$t_{\text{obs}} = T_1(x, y; x, y, \mu_T, \mu_R, \sigma_T^2, \sigma_R^2) = \frac{(\bar{x} - \delta_L \bar{y}) - \delta_1}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2 s_T^2}{n_1 s_T^2} + \delta_L^2 \frac{\sigma_R^2 s_R^2}{n_2 s_R^2}} + \delta_1$$

$$= \frac{(\bar{x} - \delta_L \bar{y}) - \delta_1}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_L^2 \frac{\sigma_R^2}{n_2}} + \delta_1$$

$$= (\bar{x} - \delta_L \bar{y}) - \delta_1 + \delta_1 = \bar{x} - \delta_L \bar{y}$$

$$t_{2obs} = T_2(x, y; x, y, \mu_T, \mu_R, \sigma_T^2, \sigma_R^2) = \frac{(\bar{x} - \delta_U \bar{y}) - \delta_2}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2 s_T^2}{n_1 s_T^2} + \delta_U^2 \frac{\sigma_R^2 s_R^2}{n_2 s_R^2}} + \delta_2$$

$$= \frac{(\bar{x} - \delta_U \bar{y}) - \delta_2}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U \frac{\sigma_R^2}{n_2}\right)}} \cdot \sqrt{\frac{\sigma_T^2}{n_1} + \delta_U^2 \frac{\sigma_R^2}{n_2}} + \delta_2$$

$$= (\bar{x} - \delta_U \bar{y}) - \delta_2 + \delta_2 = \bar{x} - \delta_U \bar{y}$$

όπου \bar{x}, \bar{y} είναι οι παρατηρούμενες τιμές των \bar{X} και \bar{Y} αντίστοιχα. Οπότε η κατανομή του T_1 και T_2 είναι ίδια με την κατανομή του $Z \left(s_T^2 / U + \delta_L^2 s_R^2 / V \right)^{1/2}$, όπου $Z \sim N(0, 1)$, $U = \frac{n_1 S_T^2}{\sigma_T^2} \sim \chi_{n_1-1}^2$ και $V = \frac{n_2 S_R^2}{\sigma_R^2} \sim \chi_{n_2-1}^2$ και οι τυχαίες μεταβλητές Z , U και V είναι ανεξάρτητες. Εφόσον η T_1 είναι στοχαστικά αυξανόμενη με το δ_1 και η T_2 μειώνεται στοχαστικά με το δ_2 το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της αριστερόπλευρης μηδενικής υπόθεσης της μορφής $H_{01}^*: \delta_1 \leq 0$ έναντι $H_{01}^*: \delta_1 > 0$ είναι :

$$p(x) = Pr(T_1 \nless t_{1obs} | \delta_1 = 0)$$

$$= Pr \left[T_1 \cdot (n_1 + n_2 - 2)^{-1/2} \left(\frac{s_1^2}{B} + \delta_L^2 \frac{s_2^2}{1-B} \right)^{1/2} \geq \bar{x} - \delta_L \bar{y} \right]$$

$$= E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[-\frac{\sqrt{(n_1+n_2-2)}(\bar{x} - \delta_L \bar{y})}{\sqrt{\frac{s_1^2}{B} - \delta_L^2 \frac{s_2^2}{1-B}}} \right] \right\}$$

Ενώ το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της δεξιόπλευρης μηδενικής υπόθεσης της μορφής $H_{02}^*: \delta_2 \geq 0$ έναντι $H_{a2}^*: \delta_2 < 0$ είναι :

$$p(x) = Pr(T_2 \leq t_{2obs} | \delta_2 = 0)$$

$$= Pr \left[T_2 \cdot (n_1+n_2-2)^{-1/2} \left(\frac{s_1^2}{B} + \delta_U^2 \frac{s_2^2}{1-B} \right)^{1/2} \geq \bar{x} - \delta_U \bar{y} \right]$$

$$= E_B \left\{ G_{n_1+n_2-2} \cdot \left[-\frac{\sqrt{(n_1+n_2-2)}(\bar{x} - \delta_U \bar{y})}{\sqrt{\frac{s_1^2}{B} - \delta_U^2 \frac{s_2^2}{1-B}}} \right] \right\}$$

όπου $T_1 = T_2 = Z \left[\frac{(U+V)}{(n_1+n_2-2)} \right]^{-1/2}$ η οποία ακολουθεί t κατανομή με $(n_1 + n_2 -$

2) β.ε. και είναι ανεξάρτητη από την $B = U/U+V$ που ακολουθεί Βήτα με παραμέτρους

$(n_1 - 1)/2$ και $(n_2 - 1)/2$. Η $G_{n_1+n_2-2}$ είναι η σ.π.π. της t κατανομής με $(n_1 + n_2 - 2)$ β.ε.

και με το E_B συμβολίζουμε την πρόβλεψη δοθέντος Β. Σε αναλογία με το TOST τεστ ο παραπάνω έλεγχος της υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας μπορεί να ονομασθεί έλεγχος **"Διο**

Γενικευμένων p – values".

3.3 Υπόθεση λογαριθμοκανονικότητας

Είναι σύνηθες σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας τα αρχικά δεδομένα AUC ή C_{max} να ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή. Επομένως όλη η διαδικασία ελέγχου της υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας που περιγράψαμε παραπάνω διαφοροποιείται εφόσον τα αρχικά μας δεδομένα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή που αποτελεί προϋπόθεση για την εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων.

3.3.1 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση λογαριθμοκανονικών κατανομών ίσων διακυμάνσεων σ^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου

Έστω X_1 μια λογαριθμοκανονική ποσότητα των παρατηρήσεων του υπό έλεγχου φαρμάκου (*Test*) και έστω $Y_1 = \ln(X_1)$. Ομοίως X_2 μια λογαριθμοκανονική ποσότητα για το εγκεκριμένο φάρμακο (*Reference*) και $Y_2 = \ln(X_2)$. Αν με (η_T, σ^2) συμβολίζουμε τις λογαριθμοκανονικές παραμέτρους για το X_1 και με (η_R, σ^2) τις λογαριθμοκανονικές παραμέτρους για το X_2 , οι μέσοι για την υπό έλεγχο και την εγκεκριμένη μορφή είναι :

$$\mu_T = \exp(\eta_T + \frac{1}{2}\sigma^2) \quad \text{και} \quad \mu_R = \exp(\eta_R + \frac{1}{2}\sigma^2)$$

$$\begin{aligned} \text{Επομένως έχουμε :} \quad \frac{\mu_T}{\mu_R} &= \frac{\exp(\eta_T + \frac{1}{2}\sigma^2)}{\exp(\eta_R + \frac{1}{2}\sigma^2)} = \exp[\eta_T + \frac{1}{2}\sigma^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma^2)] \\ &= \exp(\eta_T + \frac{1}{2}\sigma^2 - \eta_R - \frac{1}{2}\sigma^2) = \exp(\eta_T - \eta_R) \end{aligned}$$

Για το λόγο αυτό η υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας μετασχηματίζεται στην:

$$\delta_L \leq \frac{\mu_T}{\mu_R} = \exp(\eta_T - \eta_R) \leq \delta_U$$

η οποία είναι ισοδύναμη με την : $\ln(\delta_L) \leq \ln[\exp(\eta_T - \eta_R)] \leq \ln(\delta_U)$

$$\text{ή} \quad \theta_L \leq \eta_T - \eta_R \leq \theta_U \quad (3.4)$$

όπου $\theta_L = \ln(\delta_L)$ και $\theta_U = \ln(\delta_U)$. Έτσι η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί στην περίπτωση του λογαριθμοκανονικού μοντέλου μπορεί να καθοριστεί ως η υπόθεση (1.2) ή η υπόθεση (1.3). Συνήθως όμως η υπόθεση που χρησιμοποιείται είναι η υπόθεση (1.3), όπου ο έλεγχος αυτής βασίζεται στα λογαριθμισμένα δεδομένα τα οποία κατανέμονται κανονικά με μέση τιμή η_T και η_R και κοινή διακύμανση σ^2 . Η ισοδυναμία των υποθέσεων (1.2) και (1.3) εξαρτάται από την υπόθεση της ίσης διακύμανσης. Από

την άλλη μεριά αν μ_T και μ_R παριστάνουν την διάμεσο των X_1 και X_2 και $\eta_T = \ln(\mu_T)$ ενώ $\eta_R = \ln(\mu_R)$, τότε η_T και η_R είναι οι διάμεσοι του Y_1 και Y_2 αντίστοιχα. Οπότε στην περίπτωση της σύγκρισης των διαμέσων οι υποθέσεις (1.2) και (1.3) είναι πάντα ισοδύναμες και η ανάλυση του προβλήματος μπορεί να επιτευχθεί είτε με την βοήθεια των αρχικών είτε με την βοήθεια των λογαριθμισμένων δεδομένων, αλλά η βιοϊσοδυναμία συνήθως ορίζεται σε όρους μέσης τιμής παρά σε όρους διαμέσων.

Επομένως στον παράλληλο σχεδιασμό, αν $X_{11}, X_{21}, X_{31}, \dots, X_{n_11}$ είναι οι ανεξάρτητες λογαριθμοκανονικές ποσότητες με (η_T, σ^2) για τα n_1 άτομα που λαμβάνουν το υπό έλεγχο φάρμακο (*Test*) και έστω $Y_{11}, Y_{21}, Y_{31}, \dots, Y_{n_11}$ οι λογαριθμισμένες ποσότητες αυτών. Ομοίως $X_{12}, X_{22}, X_{32}, \dots, X_{n_22}$ και $Y_{12}, Y_{22}, Y_{32}, \dots, Y_{n_22}$ είναι οι αρχικές και οι λογαριθμισμένες ποσότητες για ένα ανεξάρτητο δείγμα n_2 ατόμων που λαμβάνουν το εγκεκριμένο φάρμακο (*Reference*). Επίσης αν με \bar{Y}_1 ορίζουμε το δειγματικό μέσο των $Y_{11}, Y_{21}, Y_{31}, \dots, Y_{n_11}$ και με \bar{Y}_2 ορίζουμε το δειγματικό μέσο των $Y_{12}, Y_{22}, Y_{32}, \dots, Y_{n_22}$ και S^2 ορίζουμε την κοινή εκτίμηση του σ^2 που υπολογίζεται και από τα δυο δείγματα τότε :

$$D = \bar{Y}_1 - \bar{Y}_2 \quad \text{και} \quad SE(D) = S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$$

όπου D είναι μια εκτίμηση της διαφοράς $\eta_T - \eta_R$, η οποία έχει κανονική κατανομή με μέση τιμή $\eta_T - \eta_R$ και διακύμανση σ_D^2 . Οπότε ο έλεγχος **TOST** για την υπόθεση αυτή θα βασίζεται στα δύο παρακάτω στατιστικά :

$$T_U = \frac{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2 - \theta_U}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{και} \quad T_L = \frac{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2 - \theta_L}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Ο έλεγχος TOST για την υπόθεση (1.3) χρησιμοποιεί το κλασικό μονόπλευρο μεγέθους α t-test βασισμένο στο T_L για τον έλεγχο της :

$$H_{01} : \eta_T - \eta_R \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{01} : \theta_L < \eta_T - \eta_R$$

και το κλασικό μονόπλευρο μεγέθους α t-test βασισμένο στο T_U για τον έλεγχο της :

$$H_{02} : \eta_T - \eta_R \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \eta_T - \eta_R < \theta_U$$

όπου απορρίπτει την H_0 σε επίπεδο α και ισχυρίζεται ότι τα δυο φάρμακα είναι βιοϊσοδύναμα αν και οι δυο έλεγχοι απορρίπτουν τις H_{0r} , το οποίο συμβαίνει όταν

$$T_U < -t_{\alpha,r} \quad \text{και} \quad T_L > t_{\alpha,r}$$

3.3.2 Έλεγχος βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση λογαριθμοκανονικών κατανομών με άνισες διακυμάνσεις σ_T^2, σ_R^2 μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο μορφών του φαρμάκου

Όπως και στην περίπτωση των κανονικών κατανομών έτσι και στην περίπτωση των λογαριθμοκανονικών κατανομών πριν εφαρμόσουμε τον παραπάνω έλεγχο TOST θα πρέπει να ελέγξουμε την ύπαρξη ίσων διακυμάνσεων μεταξύ των παρατηρήσεων των δυο φαρμάκων. Στην περίπτωση άνισων διακυμάνσεων δεν μπορούμε να εφαρμόσουμε την παραπάνω μέθοδο, οπότε παράγουμε ένα ακριβές τεστ για τον έλεγχο της υπόθεσης βιοϊσοδυναμίας βασισμένοι στην ιδέα των γενικευμένων p-values. Οπότε έστω X_1 μια λογαριθμοκανονική ποσότητα των παρατηρήσεων του υπό έλεγχο φαρμάκου (*Test*) και $Y_1 = \ln(X_1)$. Ομοίως έστω X_2 μια λογαριθμοκανονική ποσότητα για το εγκεκριμένο φάρμακο (*Reference*) και $Y = \ln(X_2)$, αν με (η_T, σ_T^2) συμβολίζουμε τις λογαριθμοκανονικές παραμέτρους για το X_1 και με (η_R, σ_R^2) τις λογαριθμοκανονικές παραμέτρους για το X_2 . Οι μέσοι για την υπό έλεγχο και την εγκεκριμένη μορφή δίνονται από τους τύπους :

$$\mu_T = \exp(\eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2) \quad \text{και} \quad \mu_R = \exp(\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)$$

$$\text{Επομένως έχουμε :} \quad \frac{\mu_T}{\mu_R} = \frac{\exp(\eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2)}{\exp(\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)} = \exp[\eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)]$$

Για το λόγο αυτό η υπόθεση της βιοϊσοδυναμίας:

$$\delta_L \leq \frac{\mu_T}{\mu_R} = \exp\left[\eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)\right] \leq \delta_U$$

είναι ισοδύναμη με την : $\ln(\delta_L) \leq \ln\{\exp[\eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)]\} \leq \ln(\delta_U)$

$$\text{ή} \quad \theta_L \leq \eta_T + \sigma_T^2 - (\eta_R + \sigma_R^2) \leq \theta_U$$

όπου $\theta_L = \ln(\delta_L)$ και $\theta_U = \ln(\delta_U)$. Έτσι η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί στην περίπτωση του λογαριθμοκανονικού μοντέλου με άνισες διακυμάνσεις μπορεί να χωριστεί σε δυο μονόπλευρες υποθέσεις βιοϊσοδυναμίας :

$$H_{o1} : \eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2) \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \theta_L < \eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2)$$

$$H_{o2} : \eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2) \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \eta_T + \frac{1}{2}\sigma_T^2 - (\eta_R + \frac{1}{2}\sigma_R^2) < \theta_U$$

Θέτοντας $\eta_1 = \eta_T + \frac{\sigma_T^2}{2}$ και $\eta_2 = \eta_R + \frac{\sigma_R^2}{2}$ οι παραπάνω υποθέσεις γίνονται:

$$H_{o1} : \eta_1 - \eta_2 \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \eta_1 - \eta_2 > \theta_L$$

$$\text{και} \quad H_{o2} : \eta_1 - \eta_2 \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \eta_1 - \eta_2 < \theta_U$$

Εφόσον τα δεδομένα μας στην περίπτωση αυτή ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τις γενικευμένες μεταβλητές ελέγχου που παρουσιάσαμε στο κεφάλαιο 2 για την σύγκριση δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών. Οπότε με βάση το γεγονός ότι η $\bar{Y}_1 \sim N(\eta_T, \sigma_T^2)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο η_T του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο σ_T^2 και ότι η $\bar{Y}_2 \sim N(\eta_R, \sigma_R^2)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο η_R του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο σ_R^2 , τότε μπορούμε να θεωρήσουμε τις γενικευμένες τυχαιές ποσότητες :

$$\begin{aligned}
T_1(Y_1; y_1, \mu_T, \sigma_T^2) &= \bar{y}_1 - \frac{\bar{Y}_1 - \eta_T}{S_T/\sqrt{n_1}} s_T/\sqrt{n_1} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_T^2}{S_T^2} s_T^2 \\
&= \bar{y}_1 - \frac{Z_T}{U/\sqrt{n_1-1}} s_T/\sqrt{n_1} + \frac{1}{2} \frac{s_T^2}{U^2/(n_1-1)}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
T_2(Y_2; y_2, \mu_R, \sigma_R^2) &= \bar{y}_2 - \frac{\bar{Y}_2 - \eta_R}{S_R/\sqrt{n_2}} s_R/\sqrt{n_2} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_R^2}{S_R^2} s_R^2 \\
&= \bar{y}_2 - \frac{Z_R}{V/\sqrt{n_2-1}} s_R/\sqrt{n_2} + \frac{1}{2} \frac{s_R^2}{V^2/(n_2-1)}
\end{aligned}$$

όπου

$$\begin{aligned}
\bar{Y}_1 &= \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i1} \quad \text{και} \quad \bar{Y}_2 = \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i2} \quad , \\
S_T^2 &= \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i1} - \bar{Y}_1)^2}{n_1} \quad \text{και} \quad S_R^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_2} (Y_{i2} - \bar{Y}_2)^2}{n_2}
\end{aligned}$$

και s_T, s_R είναι οι παρατηρούμενες τιμές των S_T και S_R αντίστοιχα. Οι παρατηρούμενες τιμές των T_1 και T_2 είναι :

$$\begin{aligned}
t_{1\text{obs}} = T_1(y_1; y_1, \mu_T, \sigma_T^2) &= \bar{y}_1 - \frac{\bar{y}_1 - \eta_T}{s_T/\sqrt{n_1}} s_T/\sqrt{n_1} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_T^2}{s_T^2} s_T^2 \\
&= \bar{y}_1 - (\bar{y}_1 - \eta_T) + \frac{1}{2} \sigma_T^2 \\
&= \bar{y}_1 - \bar{y}_1 + \eta_T + \frac{1}{2} \sigma_T^2 = \eta_T + \frac{1}{2} \sigma_T^2 = \eta_1
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
t_{2\text{obs}} = T_2(y_2; y_2, \mu_R, \sigma_R^2) &= \bar{y}_2 - \frac{\bar{y}_2 - \eta_R}{s_R/\sqrt{n_2}} s_R/\sqrt{n_2} + \frac{1}{2} \frac{\sigma_R^2}{s_R^2} s_R^2 \\
&= \bar{y}_2 - (\bar{y}_2 - \eta_R) + \frac{1}{2} \sigma_R^2 \\
&= \bar{y}_2 - \bar{y}_2 + \eta_R + \frac{1}{2} \sigma_R^2 = \eta_R + \frac{1}{2} \sigma_R^2 = \eta_2
\end{aligned}$$

όπου $Z_T = \sqrt{n_1} (\bar{Y}_1 - \eta_T) / \sigma_T \sim N(0, 1)$, $Z_R = \sqrt{n_2} (\bar{Y}_2 - \eta_R) / \sigma_R \sim N(0, 1)$, $U^2 = (n_1 - 1) S_T^2 / \sigma_T^2 \sim \chi^2_{n_1-1}$ και $V^2 = (n_2 - 1) S_R^2 / \sigma_R^2 \sim \chi^2_{n_2-1}$ και οι οποίες είναι επίσης ανεξάρτητες. Οπότε για τον έλεγχο των μηδενικών υποθέσεων H_{01} και H_{02} ορίζουμε τις γενικευμένες τυχαίες ποσότητες:

$$T_L = T_1 - T_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L \quad \text{και} \quad T_U = T_1 - T_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U$$

οι οποίες έχουν παρατηρούμενες τιμές ανεξάρτητες από τις ενοχλητικές παραμέτρους.

$$T_{Lobs} = T_{1obs} - T_{2obs} - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L = \eta_1 - \eta_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L = \theta_L$$

$$\text{και} \quad T_{Uobs} = T_{1obs} - T_{2obs} - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U = \eta_1 - \eta_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U = \theta_U$$

και παρατηρούμε επίσης ότι μειώνονται στοχαστικά με $\eta_1 - \eta_2$. Άρα το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της υπόθεσης H_{01} δίνεται από τον τύπο:

$$p(x) = Pr(T_L \leq \theta_L \mid \eta_1 - \eta_2 = \theta_L)$$

Ενώ για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης H_{02} έχουμε το γενικευμένο p-value :

$$p(x) = Pr(T_U \geq \theta_U \mid \eta_1 - \eta_2 = \theta_U)$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο :

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (CROSSOVER DESIGN)

Ο **διασταυρούμενος σχεδιασμός** είναι ένας τροποποιημένος, τυποποιημένος σχεδιασμός μπλοκ στον οποίο κάθε μπλοκ λαμβάνει περισσότερες από μια μορφές ενός φαρμάκου σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Ένα μπλοκ μπορεί να αποτελείται από ένα άτομο ή μια ομάδα από άτομα. Τα άτομα του κάθε μπλοκ λαμβάνουν μια διαφορετική ακολουθία των μορφών του φαρμάκου. Ένας διασταυρούμενος σχεδιασμός καλείται **ολοκληρωμένος διασταυρούμενος σχεδιασμός (Complete Crossover Design)** εάν κάθε ακολουθία (*sequence*) περιέχει κάθε μια από τις διαφορετικές μορφές του φαρμάκου. Σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό, δεν είναι απαραίτητο ο αριθμός των μορφών σε κάθε ακολουθία να είναι μεγαλύτερος ή ίσος με τον αριθμό των μορφών που θέλουμε να συγκρίνουμε. Θα αναφερόμαστε σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό ως ***g x p* διασταυρούμενο σχεδιασμό** αν έχουμε *g* ακολουθίες (*sequence*) από μορφές οι οποίες δίνονται σε *p* διαφορετικές χρονικές περιόδους. Για μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας, ο διασταυρούμενος σχεδιασμός θεωρείται ευνοϊκότερος από το FDA λόγω των παρακάτω πλεονεκτημάτων:

1. Κάθε άτομο χρησιμοποιείται σαν το δικό του control. Αυτό μας επιτρέπει μια εντός των ατόμων σύγκριση μεταξύ των μορφών.
2. Απομακρύνει την μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα από την σύγκριση μεταξύ των μορφών.

3. Με μια κατάλληλη τυχαιοποίηση των ατόμων στις διαφορετικές ακολουθίες (*sequence*) των μορφών του φαρμάκου, ο σχεδιασμός αυτός μας παρέχει την καλύτερη αμερόληπτη εκτίμηση για την διαφορά (ή το λόγο) μεταξύ των μορφών.

4.1 Περίοδος Εξάλειψης και Μεταφερόμενες επιδράσεις

Είναι χρήσιμο να παρουσιάσουμε την έννοια της **περίοδος εξάλειψης** (*washout period*) και της **μεταφερόμενης επίδρασης** (*carryover effect*) σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό, επειδή η παρουσία του μεταφερόμενου αποτελέσματος επιδρά στα στατιστικά συμπεράσματα της βιοδιαθεσιμότητας μεταξύ των διαφορετικών μορφών του φαρμάκου.

Ως **περίοδος εξάλειψης** (*washout period*) ορίζεται η ενδιάμεση περίοδος μεταξύ δυο περιόδων θεραπείας, με την οποία τα αποτελέσματα της λήψης του ενός φαρμάκου δεν μεταφέρονται στην επόμενη θεραπευτική περίοδο. Σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό η περίοδος εξάλειψης (*washout period*) θα πρέπει να είναι αρκετά μεγάλη ώστε τα αποτελέσματα του φαρμάκου να εξαλείφονται και να μην υπάρχει μεταφερόμενη επίδραση από την μια θεραπευτική περίοδο στην επόμενη. Η περίοδος εξάλειψης εξαρτάται από την φύση του φαρμάκου.

Αν το φάρμακο έχει μεγάλη περίοδο μισής-ζωής (*half-life*) ή αν η περίοδος εξάλειψης μεταξύ των θεραπευτικών περιόδων είναι πολύ μικρή, τα αποτελέσματα του φαρμάκου μπορούν να συνεχιστούν και μετά το τέλος της περιόδου της δόσης. Οπότε στην επόμενη περίοδο είναι απαραίτητο να ξεχωρίσουμε την κύρια επίδραση του φαρμάκου (*direct drug effect*) από την μεταφερόμενη επίδραση (*carryover effect*). Η **κύρια επίδραση ενός φαρμάκου** (*direct drug effect*) είναι το αποτέλεσμα του φαρμάκου που έχουμε κατά την διάρκεια της περιόδου στην οποία το φάρμακο δίνεται. Αντίθετα η **μεταφερόμενη επίδραση ενός φαρμάκου** (*carryover effect*) είναι το αποτέλεσμα του φαρμάκου που συνεχίζεται και μετά το τέλος της περιόδου που δίνεται η δόση. Οι μεταφερόμενες επιδράσεις οι οποίες κρατούν μόνο μια περίοδο θεραπείας ονομάζονται **πρώτης τάξης μεταφερόμενες επιδράσεις** (*first – order carryover effects*). Ένα φάρμακο λέμε ότι μπορεί να έχει **c – τάξης μεταφερόμενες επιδράσεις** αν οι μεταφερόμενες επιδράσεις διαρκούν c θεραπευτικούς περιόδους. Σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας και μελέτες βιοδιαθεσιμότητας, είναι πιθανόν τα αποτελέσματα να μεταφέρονται σε περισσότερες από μια περιόδους, για το λόγο αυτό χρησιμοποιούμε περιόδους εξάλειψης με κατάλληλο μήκος.

4.2 Στατιστικό Μοντέλο - Διασταυρούμενος σχεδιασμός για δυο μορφές ενός φαρμάκου

Στο διασταυρούμενο σχεδιασμό επειδή οι κύριες επιδράσεις (*direct drug effects*) μπορεί να συγχέονται με τις μεταφερόμενες επιδράσεις, είναι σημαντικό να απομακρύνουμε τις μεταφερόμενες επιδράσεις από την σύγκριση εφόσον αυτό είναι εφικτό. Για να λάβουμε υπόψη μας αυτές τις επιδράσεις χρησιμοποιούμε το παρακάτω μοντέλο. Έστω Y_{ijk} η απόκριση του i -οστού ατόμου που ανήκει στην k -οστή ακολουθία και στην j -οστή περίοδο, τότε σύμφωνα με τους Chow και Liu (1992) και Senn (2003):

$$Y_{ijk} = \mu + S_{ik} + P_j + F_{jk} + C_{(j-1,k)} + e_{ijk} \quad (4.1)$$

όπου :

μ = ο γενικός μέσος όρος

S_{ik} = η τυχαία επίδραση του i -οστού ατόμου στην k -οστή ακολουθία.

P_j = η σταθερή επίδραση της j -οστής περιόδου, όπου $j = 1, 2, \dots, p$ και $\sum_j P_j = 0$

F_{jk} = η σταθερή κύρια επίδραση του φαρμάκου (*formulation*) στην k -οστή ακολουθία (*sequence*) το οποίο χορηγείται στην περίοδο j και $\sum F_{jk} = 0$.

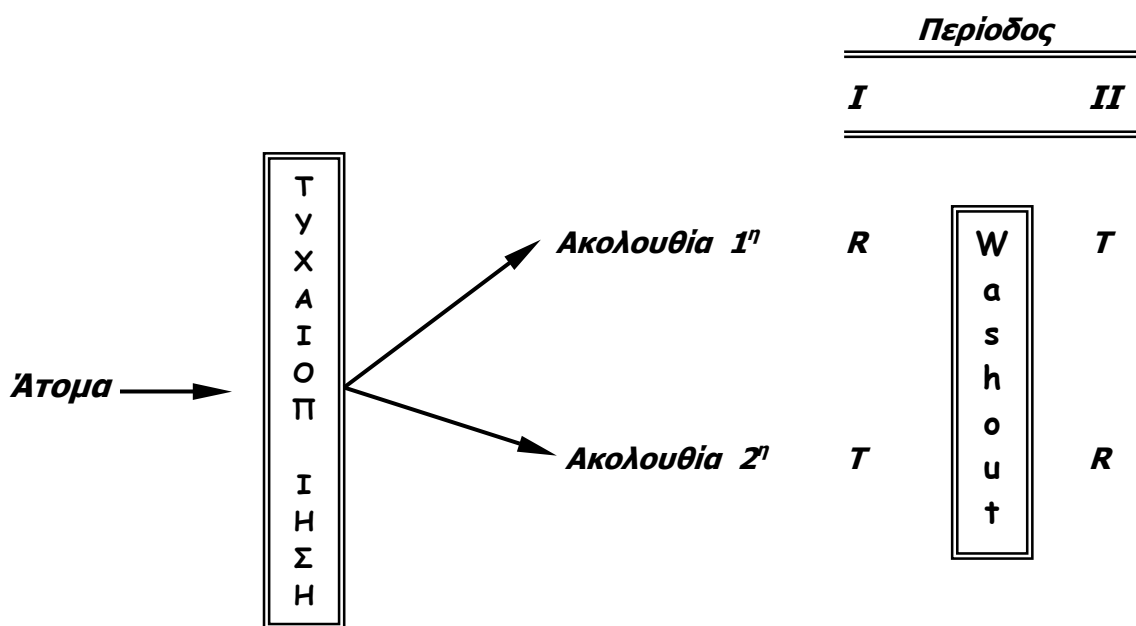
$C_{(j-1,k)}$ = η σταθερή πρώτης τάξης μεταφερόμενη επίδραση (*carryover effect*) του φαρμάκου στην k -οστή ακολουθία (*sequence*) το οποίο χορηγείται κατά την $j-1$ περίοδο και $C_{(0,k)} = 0$, $\sum C_{(j-1,k)} = 0$.

e_{ijk} = το εντός ατόμου τυχαίο σφάλμα κατά την παρατήρηση Y_{ijk}

Όπως έχει αναφερθεί, στην εργασία αυτή ασχολούμαστε κυρίως με την σύγκριση δυο μορφών ενός φαρμάκου, της υπό έλεγχο (T) και της εγκεκριμένης (R) μορφής του φαρμάκου. Το πιο συχνά χρησιμοποιημένο στατιστικό μοντέλο για τον έλεγχο της μέσης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ δυο μορφών ενός φαρμάκου είναι ένας δυο ακολουθιών, δυο περιόδων διασταυρούμενος σχεδιασμός. Ο σχεδιασμός αυτός αναφέρεται ως **2 x 2 διασταυρούμενος σχεδιασμός**. Σε ένα τυπικό 2 x 2 διασταυρούμενο σχεδιασμό κάθε άτομο κατατάσσεται τυχαία είτε στην ακολουθία RT ή στην ακολουθία TR, σε δυο περιόδους δόσης. Με άλλα λόγια, τα άτομα μέσα στην ακολουθία RT (ή TR) λαμβάνουν

τον τύπο R (ή T) στην πρώτη περίοδο δόσης και τον τύπο T (ή R) στην δεύτερη περίοδο δόσης. Οι περίοδοι δόσης χωρίζονται από μια περίοδο εξάλειψης (*washout period*) συγκεκριμένου μήκους. Παρόλο που ο διασταυρούμενος σχεδιασμός είναι μια διαφορετική εκδοχή του σχεδιασμού Λατινικών τετραγώνων, ο αριθμός των διαφορετικών μορφών ενός φαρμάκου σε ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό δεν είναι απαραίτητα ίσος με τον αριθμό των περιόδων. Οι σχεδιασμοί αυτού του τύπου ονομάζονται **μεγαλύτερης τάξης διασταυρούμενοι σχεδιασμοί**.

Το παραπάνω γενικό γραμμικό μοντέλο (4.1) του διασταυρούμενου σχεδιασμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να περιγραφεί ο τυπικός 2 x 2 διασταυρούμενος σχεδιασμός, για τον οποίο θα έχουμε :



$$Y_{ijk} = \mu + S_{ik} + P_j + F_{jk} + C_{(j-1,k)} + e_{ijk} \quad (4.2)$$

Σε ένα τυπικό 2 x 2 διασταυρούμενο σχεδιασμό υπάρχουν μόνο δυο μορφές του φαρμάκου, οπότε αν η μορφή που δίνεται στην πρώτη περίοδο της πρώτης ακολουθίας είναι η εγκεκριμένη μορφή του φαρμάκου τότε :

$$F_{jk} = \begin{cases} F_R, & \text{αν } k = j \\ F_T, & \text{αν } k \neq j \end{cases} \quad \text{για } k = 1,2$$

Ενώ το $C_{(j-1,k)}$ είναι η επίδραση που μεταφέρεται από την περίοδο (j - 1) στην περίοδο j της ακολουθίας k. Για ένα τυπικό 2 x 2 διασταυρούμενο σχεδιασμό η μεταφερόμενη επίδραση μπορεί να εμφανιστεί μόνο στην δεύτερη περίοδο. Θα συμβολίζουμε την

μεταφερόμενη επίδραση της εγκεκριμένης μορφής του φαρμάκου από την 1^η περίοδο στην 2^η της πρώτης ακολουθίας με C_R , ενώ της δεύτερης ακολουθίας με C_T , οπότε:

$$C_{(j-1,k)} = \begin{cases} C_R, & \text{αν } k=1, j=2 \\ C_T, & \text{αν } k=2, j=2 \end{cases}$$

Τέλος παρατηρούμε ότι αυτό το μοντέλο περιέχει ορισμένες επιδράσεις (*fixed effects*) όπως την επίδραση της περιόδου, τις κύριες επιδράσεις των φαρμάκων και τις μεταφερόμενες επιδράσεις.

4.3 Υπόθεση κανονικότητας

Στο παραπάνω γενικό στατιστικό μοντέλο του διασταυρούμενου σχεδιασμού υποθέτουμε ότι τα $\{S_{ik}\}$ είναι ανεξάρτητα και ισόνομα κατανομημένα με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ_s^2 και $\{e_{ijk}\}$ είναι ανεξάρτητα κατανομημένα με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ_ξ^2 , όπου $t = 1, 2, \dots, L$, και L ο αριθμός των διαφορετικών μορφών του φαρμάκου που θέλουμε να συγκρίνουμε. Επίσης τα $\{S_{ik}\}$ και τα $\{e_{ijk}\}$ υποθέτουμε ότι είναι αμοιβαίως ανεξάρτητα. Η εκτίμηση του σ_s^2 συνήθως χρησιμοποιείται για να εξηγήσουμε την μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα, ενώ η εκτίμηση των σ_ξ^2 χρησιμοποιούνται για να προσδιορίσουμε την εντός των ατόμων μεταβλητότητα για τον τύπο t του φαρμάκου. Δηλαδή ισχύει $S_{ik} \sim N(0, \sigma_s^2)$ και $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_\xi^2)$ για κάθε $t = 1, 2, \dots, L$.

Έστω $\bar{Y}_{.1k}, \bar{Y}_{.2k}, \dots, \bar{Y}_{.pk}$ οι παρατηρούμενοι μέσοι των περιόδων στην k -οστή ακολουθία, όπου $\bar{Y}_{.jk} = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} Y_{ijk}$, $j=1, 2, \dots, p$ και $k = 1, 2, \dots, g$. Κάτω από την

υπόθεση της κανονικότητας οι μεταφερόμενες επιδράσεις και οι άλλες ορισμένες επιδράσεις, όπως η κύρια επίδραση του φαρμάκου (*direct drug effect*) και η επίδραση της περιόδου (*period effect*), μπορούν να εκτιμηθούν βασισμένοι στους $g \cdot p$ μέσους των περιόδων, εφόσον υπάρχουν $g \cdot p - 1$ βαθμοί ελευθερίας μεταξύ αυτών των μέσων, οι οποίοι μπορούν να αναλυθούν ως εξής :

$$(g \cdot p - 1) = (p - 1) + (g - 1) + (p - 1)(g - 1)$$

όπου οι $(p - 1)$ β.ε αποδίδονται στην επίδραση της περιόδου (*period*), οι $(g - 1)$ β.ε αποδίδονται στην επίδραση της ακολουθίας (*sequence*) και οι $(p - 1)(g - 1)$ β.ε συνδέονται με την αλληλεπίδραση της ακολουθίας με την περίοδο. Οι $(p - 1)(g - 1)$

β.ε. έχουν σημαντικό ενδιαφέρον γιατί διατηρούν την πληροφορία που συνδέεται με την κύρια επίδραση του φαρμάκου και τις μεταφερόμενες επιδράσεις. Για παράδειγμα σε ένα 2 x 2 διασταυρούμενο σχεδιασμό υπάρχουν 3 β.ε. που συνδέονται με τους 4 μέσους $\bar{Y}_{.jk}$, ένας για την επίδραση της ακολουθίας, ένας για την επίδραση της περιόδου και ένας για την αλληλεπίδραση της ακολουθίας με την επίδραση της περιόδου, η οποία στην πραγματικότητα είναι η κύρια επίδραση του φαρμάκου όταν δεν υπάρχουν μεταφερόμενες επιδράσεις.

Μια εντός του ατόμου γραμμική αντίθεση για την k-οστή ακολουθία ορίζεται ως ένας γραμμικός συνδυασμός των $\bar{Y}_{.1k}, \bar{Y}_{.2k}, \dots, Y_{.pk}$. Οπότε για μια γραμμική αντίθεση της μορφής :

$$l = c_1 \bar{Y}_{.1k} + c_2 \bar{Y}_{.2k} + \dots + c_p Y_{.pk}, \quad \text{όπου } \sum c_i = 0$$

μπορεί ναδειχθεί ότι η μεταβλητότητα της συνδέει μόνο την εντός των ατόμων μεταβλητότητα σ_t^2 , $t = 1, 2, \dots, L$. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να βγάλουμε στατιστικά συμπεράσματα για τις σταθερές επιδράσεις (*fixed effects*), όπως οι κύριες επιδράσεις, οι επιδράσεις των περιόδων και οι μεταφερόμενες επιδράσεις βασισμένοι στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες χρησιμοποιώντας κατάλληλη γραμμική αντίθεση αυτών των $g \cdot p$ μέσων.

Για τον τυπικό 2 x 2 διασταυρούμενο σχεδιασμό κάτω από τις παραπάνω υποθέσεις οι δυο αποκρίσεις για το i-οστό άτομο σε κάθε ακολουθία είναι :

Ακολουθία 1^η

$$Y_{i11} = \mu + S_{i1} + P_1 + F_1 + e_{i11}$$

$$Y_{i21} = \mu + S_{i1} + P_2 + F_2 + C_1 + e_{i21}$$

Ακολουθία 2^η

$$Y_{i12} = \mu + S_{i2} + P_1 + F_2 + e_{i12}$$

$$Y_{i22} = \mu + S_{i2} + P_2 + F_1 + C_2 + e_{i22}$$

όπου $P_1 + P_2 = 0$, $F_1 + F_2 = 0$ και $C_1 + C_2 = 0$

Καθότι για κάθε άτομο, παρατηρούνται ένα ζεύγος αποκρίσεων στην 1^η και 2^η περίοδο, μπορούμε να θεωρήσουμε ένα διμεταβλητό διάνυσμα $Y_{ik} = (Y_{i1k}, Y_{i2k})$ με $i = 1, 2, \dots, n_k$ και $k = 1, 2$, για το οποίο το Y_{ik} είναι ανεξάρτητα κατανομημένο με την ακόλουθη μέση τιμή και πίνακα συνδιακυμάνσεων :

Ακολουθία 1^η

$$\alpha_1 = \begin{bmatrix} E(Y_{i11}) \\ E(Y_{i21}) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E(\mu + E(S_{i1}) + E(P_1) + E(F_1) + E(e_{i11})) \\ E(\mu + E(S_{i1}) + E(P_2) + E(F_2) + E(C_1) + E(e_{i21})) \end{bmatrix}$$

$$= \begin{bmatrix} \mu + P_1 + F_1 \\ \mu + P_2 + F_2 + C_1 \end{bmatrix}$$

$$\Sigma_1 = \begin{bmatrix} \text{Var}(Y_{i11}) & \text{Cov}(Y_{i11}, Y_{i21}) \\ \text{Cov}(Y_{i11}, Y_{i21}) & \text{Var}(Y_{i21}) \end{bmatrix}$$

όπου $\text{Var}(Y_{i11}) = \text{Var}(\mu + S_{i1} + P_1 + F_1 + e_{i11})$

$$= \text{Var}(\mu) + \text{Var}(S_{i1}) + \text{Var}(P_1) + \text{Var}(F_1) + \text{Var}(e_{i11})$$

$$= \sigma_s^2 + \sigma_1^2$$

$$\text{Var}(Y_{i21}) = \text{Var}(\mu + S_{i1} + P_2 + F_2 + C_1 + e_{i21})$$

$$= \text{Var}(\mu) + \text{Var}(S_{i1}) + \text{Var}(P_2) + \text{Var}(F_2) + \text{Var}(C_1) + \text{Var}(e_{i21})$$

$$= \sigma_s^2 + \sigma_2^2$$

Άρα

$$\Sigma_1 = \begin{bmatrix} \sigma_s^2 + \sigma_1^2 & \sigma_s^2 \\ \sigma_s^2 & \sigma_s^2 + \sigma_2^2 \end{bmatrix} \quad (4.3)$$

Ομοίως για την :

Ακολουθία 2^η

$$\alpha_2 = \begin{bmatrix} \mu + P_1 + F_2 \\ \mu + P_2 + F_1 + C_2 \end{bmatrix} \quad \Sigma_2 = \begin{bmatrix} \sigma_s^2 + \sigma_2^2 & \sigma_s^2 \\ \sigma_s^2 & \sigma_s^2 + \sigma_1^2 \end{bmatrix}$$

Στους παραπάνω πίνακες συνδιακυμάνσεων παρατηρούμε ότι η εντός του ατόμου μεταβλητότητα διαφέρει μεταξύ των διαφορετικών μορφών του φαρμάκου. Αν όμως $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_e^2$ τότε έχουμε $\Sigma_1 = \Sigma_2 = \Sigma$, όπου :

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \sigma_s^2 + \sigma_e^2 & \sigma_s^2 \\ \sigma_s^2 & \sigma_s^2 + \sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

4.3.1 Στατιστική συμπερασματολογία για τις επιδράσεις σε ένα τυπικό 2x2 διασταυρούμενο σχεδιασμό

Όταν σε μια μελέτη βιοϊσοδυναμίας εμφανίζονται μεταφερόμενες επιδράσεις, δηλαδή $C_1 \neq 0$ και $C_2 \neq 0$, ένας τυπικός 2 x 2 διασταυρούμενος σχεδιασμός μπορεί να μην είναι εφικτός, γιατί υπάρχει περίπτωση να μην μπορεί να μας παρέχει εκτιμήσεις για κάποιες ορισμένες επιδράσεις. Για παράδειγμα η επίδραση της ακολουθίας υπάρχει περίπτωση να μην μπορεί να εκτιμηθεί ξεχωριστά γιατί είναι συγχυσμένη (*confounded*) με κάθε μεταφερόμενη επίδραση. Για την σύγκριση των μέσων βιοδιαθεσιμότητας των δυο μορφών του φαρμάκου επιθυμούμε να εκτιμήσουμε και να χωρίσουμε αυτές τις επιδράσεις από τις κύριες επιδράσεις των φαρμάκων.

Στην πράξη, όμως για τις μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας υποθέτουμε (α) ότι δεν υπάρχει επίδραση της περιόδου (*period effect*) και (β) ότι δεν υπάρχει μεταφερόμενη επίδραση (*carryover effect*). Αυτό συμβαίνει γιατί μια προσεγμένη μελέτη μπορεί να εξαλείψει την πιθανή επίδραση της περιόδου (*period effect*) ενώ παράλληλα μπορεί να επιλεγεί περίοδος εξάλειψης (*washout period*) με κατάλληλο μήκος έτσι ώστε να μην υπάρχει μεταφερόμενη επίδραση από την προηγούμενη περίοδο στην επόμενη. Συχνά όμως η επίδραση της περιόδου και η μεταφερόμενη επίδραση μπορεί να εξακολουθεί να εμφανίζεται. Η παρουσία της μεταφερόμενης επίδρασης μπορεί να αυξήσει την πολυπλοκότητα της στατιστικής ανάλυσης για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των δυο μορφών. Το σωστό θα ήταν να πραγματοποιήσουμε κάποια πρωταρχικά τεστ για την παρουσία της επίδρασης της περιόδου ή της μεταφερόμενης επίδρασης πριν συγκρίνουμε την μέση βιοδιαθεσιμότητα των μορφών.

4.3.1.1 Μεταφερόμενες επιδράσεις των φαρμάκων

Για την αποτίμηση των μεταφερόμενων επιδράσεων είναι χρήσιμο να θεωρήσουμε το παρακάτω άθροισμα των αποκρίσεων κάθε ατόμου σε κάθε ακολουθία.

$$U_{ik} = Y_{i1k} + Y_{i2k} \quad i = 1, 2, \dots, n_k, \quad k = 1, 2$$

Η αναμενόμενη τιμή και η διακύμανση για το U_{ik} είναι :

$$E(U_{ik}) = \begin{cases} E(Y_{i11}) + E(Y_{i21}), & \text{για } k = 1 \\ E(Y_{i12}) + E(Y_{i22}), & \text{για } k = 2 \end{cases} = \begin{cases} \mu + P_1 + F_1 + \mu + P_2 + F_2 + C_1, & \text{για } k = 1 \\ \mu + P_1 + F_2 + \mu + P_2 + F_1 + C_2, & \text{για } k = 2 \end{cases} \Rightarrow$$

$$E(U_{ik}) = \begin{cases} 2\mu + C_1, & \text{για } k = 1 \\ 2\mu + C_2, & \text{για } k = 2 \end{cases} \quad \text{γιατί } P_1 + P_2 = 0 \text{ και } F_1 + F_2 = 0$$

$$\begin{aligned} \sigma_u^2 &= V(U_{ik}) = V(Y_{i1k} + Y_{i2k}) = V(Y_{i1k}) + V(Y_{i2k}) + 2 \text{Cov}(Y_{i1k}, Y_{i2k}) \\ &= \sigma_s^2 + \sigma_e^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2 + 2 \sigma_s^2 = 4 \sigma_s^2 + 2 \sigma_e^2 \\ &= 2 (2 \sigma_s^2 + \sigma_e^2) \end{aligned}$$

Αν υποθέσουμε ότι $C = C_1 - C_2 = C_T - C_R$, τότε το C μπορούμε να το χρησιμοποιήσουμε για να εκτιμήσουμε την μεταφερόμενη επίδραση. Κάτω από τον περιορισμό $C_T + C_R = 0$ οι μεταφερόμενες επιδράσεις είναι ίσες αν $C = 0$. Επομένως ένας έλεγχος για την μη ύπαρξη μεταφερόμενης επίδρασης είναι ισοδύναμος με ένα έλεγχο για την ισότητα των μεταφερόμενων επιδράσεων. Ως γνωστόν δεν υπάρχει μη αμερόληπτη εκτιμήτρια της κύριας επίδρασης του φαρμάκου αν παρουσιάζονται άνισες μεταφερόμενες επιδράσεις. Επίσης όταν δεν υπάρχει μεταφερόμενη επίδραση ή κύρια επίδραση του φαρμάκου, δηλαδή η $F = F_T - F_R$, μπορεί να εκτιμηθεί βασισμένη στα δεδομένα και των δυο περιόδων, οπότε μας ενδιαφέρει να εξετάσουμε αν παρουσιάζονται ή όχι άνισες μεταφερόμενες επιδράσεις. Ο έλεγχος των άνισων μεταφερόμενων επιδράσεων μπορεί να καθοριστεί από τον έλεγχο της ακόλουθης υπόθεσης :

$$H_0 : C = 0 \quad (\text{ή } C_T = C_R) \quad \text{έναντι} \quad H_a : C \neq 0 \quad (\text{ή } C_T \neq C_R) \quad (4.4)$$

Η απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης του ελέγχου αυτού οδηγεί στο συμπέρασμα της παρουσίας άνισων μεταφερόμενων επιδράσεων μεταξύ των δυο μορφών του φαρμάκου. Για να βγάλουμε όμως ένα στατιστικό συμπέρασμα για το C είναι χρήσιμο να θεωρήσουμε των ακόλουθο ολικό δειγματικό μέσο των ατόμων για κάθε ακολουθία:

$$\bar{U}_{.k} = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} U_{ik}, \quad k = 1, 2$$

όπου $\bar{U}_{.1}$ και $\bar{U}_{.2}$ οι δειγματικοί μέσοι για δυο ανεξάρτητα τυχαία δείγματα από κανονικούς πληθυσμούς με ίσες διακυμάνσεις. Συνεπώς μπορούμε να βγάλουμε στατιστικά συμπεράσματα για το C βασισμένοι σε ένα στατιστικό t δυο δειγμάτων.

Αρχικά το C μπορεί να εκτιμηθεί από την διαφορά των δειγματικών μέσων των ατόμων για τις δυο ακολουθίες, δηλαδή :

$$\hat{C} = \bar{U}_{.2} - \bar{U}_{.1} = (\bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.22}) - (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21})$$

Οπότε, κάτω από τις υποθέσεις που αναφέραμε παραπάνω, ο \hat{C} κατανέμεται κανονικά με μέση τιμή C και διακύμανση $V(\hat{C})$, η οποία δίνεται από τον τύπο:

$$\begin{aligned} V(\hat{C}) &= V(\bar{U}_{.2} - \bar{U}_{.1}) = V((\bar{Y}_{.12} + \bar{Y}_{.22}) - (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.21})) \\ &= V\left(\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i12} + \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i22}\right) - \left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i11} + \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i21}\right)\right) \\ &= V\left(\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} (Y_{i12} + Y_{i22})\right) - \left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i11} + Y_{i21})\right)\right) = V\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} U_{i2} - \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} U_{i1}\right) \\ &= \frac{1}{n_2^2} \sum_{i=1}^{n_2} V(U_{i2}) + \frac{1}{n_1^2} \sum_{i=1}^{n_1} V(U_{i1}) = \frac{1}{n_2^2} \sum_{i=1}^{n_2} \sigma_U^2 + \frac{1}{n_1^2} \sum_{i=1}^{n_1} \sigma_U^2 = \frac{1}{n_2^2} n_2 \sigma_U^2 + \frac{1}{n_1^2} n_1 \sigma_U^2 \\ &= \sigma_U^2 \left(\frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_1}\right) \end{aligned}$$

Η διακύμανση $V(\hat{C})$ μπορεί να εκτιμηθεί αν αντικαταστήσουμε την σ_U^2 με την $\hat{\sigma}_U^2$, δηλαδή με την κοινή δειγματική διακύμανση όλων των ατόμων για τις δυο ακολουθίες, οπότε θα έχουμε :

$$\hat{V}(\hat{C}) = \hat{\sigma}_U^2 \left(\frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_1}\right) \quad \text{όπου} \quad \hat{\sigma}_U^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{k=1}^2 \sum_{i=1}^{n_k} (U_{ik} - \bar{U}_{.k})^2$$

και $\hat{\sigma}_U^2$ είναι ένας αμερόληπτος εκτιμητής της σ_U^2 όπου επιπλέον για αυτόν ισχύει :

$$(n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_U^2 \sim \sigma_U^2 \chi_{n_1+n_2-2}^2$$

όπου $\chi_{n_1+n_2-2}^2$ είναι μια χ^2 κατανομή με $n_1 + n_2 - 2$ β.ε, η οποία είναι ανεξάρτητη από το \hat{C} . Έτσι κάτω από την H_0 η στατιστική συνάρτηση :

$$T_C = \frac{\hat{C}}{\hat{\sigma}_U \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

έχει μια κεντρική Student t κατανομή με $n_1 + n_2 - 2$ β.ε. και ως αποτέλεσμα μπορούμε να απορρίψουμε την μηδενική υπόθεση $H_0 : C_T = C_R$ με επίπεδο εμπιστοσύνης α αν :

$$|T_C| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2)$$

Καθώς ο έλεγχος του στατιστικού T_C περιλαμβάνει την εκτίμηση του $\sigma_U^2 = 2(2\sigma_S^2 + \sigma_e^2)$ η οποία περιέχει την μεταξύ και την εντός των ατόμων μεταβλητότητα, ενδέχεται να έχει μικρή ισχύ όταν η μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα είναι μεγαλύτερη από την εντός των ατόμων μεταβλητότητα. Αυτό συμβαίνει γιατί στις περισσότερες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας η επιλογή του δείγματος βασίζεται σε ένα πριν την μελέτη υπολογισμό της ισχύς για την κύρια επίδραση του φαρμάκου βασισμένο μόνο στην εντός του ατόμου μεταβλητότητα.

4.3.1.2 Κύρια επίδραση του φαρμάκου

Για την αποτίμηση της κύριας επίδρασης του φαρμάκου είναι χρήσιμο αρχικά να ορίσουμε τις διαφορές των περιόδων για κάθε άτομο μέσα σε κάθε ακολουθία οι οποίες ορίζονται ως εξής :

$$d_{ik} = \frac{1}{2} (Y_{i2k} - Y_{i1k}) , \quad i = 1, 2, \dots, n_k \quad \text{και} \quad k=1,2 \quad (4.5)$$

Οι αναμενόμενες τιμές και διακυμάνσεις των διαφορών των περιόδων δίνονται από τους τύπους :

$$\begin{aligned} E(d_{ik}) &= E\left(\frac{1}{2}(Y_{i2k} - Y_{i1k})\right) = \frac{1}{2}E(Y_{i2k} - Y_{i1k}) = \frac{1}{2}[E(Y_{i2k}) - E(Y_{i1k})] \\ &= \begin{cases} \frac{1}{2}[\mu + P_2 + F_2 + C_R - \mu - P_1 - F_1] & , \quad k=1 \\ \frac{1}{2}[\mu + P_2 + F_1 + C_T - \mu - P_1 - F_2] & , \quad k=2 \end{cases} \\ &= \begin{cases} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] & , \quad k=1 \\ \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_1 - F_2) + C_T] & , \quad k=2 \end{cases} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\text{και } \sigma_d^2 &= V(d_{ik}) = V\left(\frac{1}{2}(Y_{i2k} - Y_{i1k})\right) = \frac{1}{4}V(Y_{i2k} - Y_{i1k}) \\
&= \frac{1}{4}[V(Y_{i2k}) + V(Y_{i1k}) - \text{Cov}(Y_{i2k}, Y_{i1k})] \\
&= \frac{1}{4}[\sigma_e^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2 + \sigma_s^2 - 2\sigma_s^2] = \frac{1}{4}2\sigma_e^2 \Rightarrow \\
\sigma_d^2 &= \frac{1}{2}\sigma_e^2
\end{aligned}$$

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η διακύμανση της διαφοράς των περιόδων περιλαμβάνει μόνο την εντός των ατόμων μεταβλητότητα, η οποία φανερώνει την χρησιμότητα του διασταυρούμενου σχεδιασμού για την σύγκριση των κύριων επιδράσεων των φαρμάκων. Ορίζουμε την επίδραση των περιόδων και την κύρια επίδραση των φαρμάκων ως $P = P_2 - P_1$ και $F = F_2 - F_1 = F_T - F_R$ αντίστοιχα και θεωρούμε τους δειγματικούς μέσους των διαφορών των περιόδων για κάθε ακολουθία:

$$\bar{d}_{.k} = \frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} d_{ik} \quad , \quad k = 1, 2$$

Επομένως για τη διαφορά των περιόδων αυτών σε κάθε ακολουθία έχουμε :

$$\begin{aligned}
E(\bar{d}_{.1} - \bar{d}_{.2}) &= E\left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} d_{i1}\right) - E\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} d_{i2}\right) = \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} E(d_{i1}) - \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} E(d_{i2}) \\
&= \frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] - \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_1 - F_2) + C_T] \\
&= \frac{1}{n_1} n_1 \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] - \frac{1}{n_2} n_2 \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_1 - F_2) + C_T] \\
&= \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] - \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_1 - F_2) + C_T] \\
&= \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R - (P_2 - P_1) - (F_1 - F_2) - C_T] \\
&= \frac{1}{2}[2F_2 - 2F_1 + C_R - C_T] = \frac{1}{2}[2(F_2 - F_1) + C_R - C_T] = F_2 - F_1 + \frac{1}{2}(C_R - C_T) \\
&= F + \frac{1}{2}C
\end{aligned}$$

όπου $C = C_T - C_R$. Άρα συμπεραίνουμε ότι αν $C_T \neq C_R$ δεν υπάρχει αμερόληπτη εκτιμήτρια του F βασισμένη στα δεδομένα και των δυο περιόδων. Από την άλλη αν $C_R = C_T$ τότε ο

$$\hat{F} = \bar{d}_{.1} - \bar{d}_{.2} = \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) - (\bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.12})] = \bar{Y}_R - \bar{Y}_T \quad (4.6)$$

είναι ένας αμερόληπτος εκτιμητής του F όπου :

$$\bar{Y}_R = \frac{1}{2} (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.22}) \quad \text{και} \quad \bar{Y}_T = \frac{1}{2} (\bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.12})$$

Επομένως, κάτω από τις υποθέσεις που κάναμε παραπάνω, ο \hat{F} κατανέμεται κανονικά με μέση τιμή F και διακύμανση :

$$\begin{aligned} V(\hat{F}) &= V(\bar{d}_{.1} - \bar{d}_{.2}) = V(\bar{d}_{.1}) + V(\bar{d}_{.2}) = V\left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} d_{i1}\right) + V\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} d_{i2}\right) \\ &= \frac{1}{n_1^2} \sum_{i=1}^{n_1} V(d_{i1}) + \frac{1}{n_2^2} \sum_{i=1}^{n_2} V(d_{i2}) = \frac{1}{n_1^2} \sum_{i=1}^{n_1} \sigma_d^2 + \frac{1}{n_2^2} \sum_{i=1}^{n_2} \sigma_d^2 \\ &= \frac{1}{n_1^2} n_1 \sigma_d^2 + \frac{1}{n_2^2} n_2 \sigma_d^2 = \sigma_d^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \end{aligned}$$

Άρα εφόσον $\{d_{i1}\}$, $i = 1, 2, \dots, n_1$ και $\{d_{i2}\}$, $i = 1, 2, \dots, n_2$ είναι ανεξάρτητα δείγματα από κανονικούς πληθυσμούς με ίσες διακυμάνσεις όταν δεν εμφανίζονται άνισες μεταφερόμενες επιδράσεις ένας έλεγχος για την κύρια επίδραση του φαρμάκου μπορεί να κατασκευαστεί βασισμένος σε ένα στατιστικό δυο δειγμάτων της μορφής:

$$T_d = \frac{\hat{F}}{\hat{\sigma}_d^2 \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}, \quad (4.7)$$

όπου $\hat{\sigma}_d^2$ είναι η συνολική δειγματική διακύμανση των διαφορών των περιόδων και για τις δυο σειρές και επίσης είναι μια αμερόληπτη εκτιμήτρια του σ_d^2 , η οποία δίνεται από τον τύπο

$$\hat{\sigma}_d^2 = \frac{1}{n_1 + n_2 - 2} \sum_{k=1}^2 \sum_{i=1}^{n_k} (d_{ik} - \bar{d}_{.k})^2$$

Επειδή το $(n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d^2$ έχει την ίδια κατανομή με το $\sigma_d^2 (\chi^2_{n_1+n_2-2})$ το T_d έχει κεντρική Student t κατανομή με $n_1 + n_2 - 2$ β.ε. Οπότε η παρουσία της κύριας επίδρασης του φαρμάκου μπορεί να ελεγχθεί μέσω της υπόθεσης :

$$H_0 : F = 0 \quad (\text{ή } F_1 = F_2) \quad \text{έναντι} \quad H_a : F \neq 0 \quad (\text{ή } F_1 \neq F_2) \quad (4.8)$$

η οποία απορρίπτεται αν : $|T_d| > t(\alpha/2, n_1 + n_2 - 2)$

Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειώσουμε ότι το τεστ αυτό ελέγχει την ισότητα των κύριων επιδράσεων των φαρμάκων και όχι την ισοδυναμία τους.

4.3.1.3 Επίδραση της περιόδου

Για την αποτίμηση των επιδράσεων των περιόδων είναι χρήσιμο να θεωρήσουμε τις δισταυρούμενες διαφορές.

$$O_{ik} = \begin{cases} d_{ik} , & k = 1 \\ -d_{ik} , & k = 2 \end{cases}$$

Η αναμενόμενη τιμή και η διακύμανση των δισταυρούμενων διαφορών είναι :

$$E(O_{ik}) = \begin{cases} E(d_{ik}) , & k = 1 \\ -E(d_{ik}) , & k = 2 \end{cases} = \begin{cases} \frac{1}{2} [(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] , & k = 1 \\ \frac{1}{2} [(P_1 - P_2) + (F_2 - F_1) - C_T] , & k = 2 \end{cases}$$

$$\text{και} \quad V(O_{ik}) = \begin{cases} V(d_{ik}) , & k = 1 \\ V(-d_{ik}) , & k = 2 \end{cases} = \begin{cases} \sigma_d^2 , & k = 1 \\ \sigma_d^2 , & k = 2 \end{cases} \quad \text{άρα} \quad V(O_{ik}) = \sigma_d^2$$

Έστω $\bar{O}_{.1}$ και $\bar{O}_{.2}$ οι δειγματικοί μέσοι των δισταυρούμενων διαφορών στις ακολουθίες 1 και 2, όπου :

$$\bar{O}_{.k} = \begin{cases} \bar{d}_{ik} , & k = 1 \\ -\bar{d}_{ik} , & k = 2 \end{cases}$$

Ένας αμερόληπτος εκτιμητής της επίδρασης της περιόδου P μπορεί να ληφθεί από τον τύπο :

$$\hat{P} = \bar{O}_{.1} - \bar{O}_{.2} = \frac{1}{2} (\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) + \frac{1}{2} (\bar{Y}_{.22} - \bar{Y}_{.12}) = \frac{1}{2} [(\bar{Y}_{.21} - \bar{Y}_{.11}) - (\bar{Y}_{.12} - \bar{Y}_{.22})]$$

Εφόσον $C_R + C_T = 0$, ο \hat{P} είναι ένας αμερόληπτος εκτιμητής του P ανεξάρτητα της παρουσίας άνισων μεταφερόμενων επιδράσεων. Οπότε η παρουσία της επίδρασης της περιόδου μπορεί να ελεγχθεί μέσω της υπόθεσης :

$$H_0 : P = 0 \quad (\text{ή } P_1 = P_2) \quad \text{έναντι} \quad H_a : P \neq 0 \quad (\text{ή } P_1 \neq P_2) \quad (4.9)$$

η οποία απορρίπτεται αν $|T_0| > t(a/2, n_1 + n_2 - 2)$,

όπου

$$T_0 = \frac{\hat{P}}{\hat{\sigma}_d^2 \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

4.3.1.4 Ανάλυση διακύμανσης

Στις προηγούμενες ενότητες βγάλαμε στατιστικά συμπεράσματα για τις σταθερές (fixed) επιδράσεις του μοντέλου (4.2) σε έναν τυπικό 2×2 διασταυρούμενο σχεδιασμό βασισμένοι σε t στατιστικά δυο δειγμάτων. Σε αυτήν την ενότητα θα παρουσιάσουμε μια περίπτωση της μεθόδου ανάλυσης διακύμανσης η οποία είναι ισοδύναμη με τα παραπάνω t στατιστικά δυο δειγμάτων. Η ιδέα της εφαρμογής της μεθόδου ανάλυση διακύμανσης στον τυπικό 2×2 διασταυρούμενο σχεδιασμό όπως αναφέρουν οι Chow Liu (1992) και οι Jones και Kenward (2003), στηρίζεται στην δυνατότητα που μας παρέχει να μελετήσουμε την μεταβλητότητα των παρατηρήσεων διαμερίζοντας το ολικό άθροισμα τετραγώνων (*total sum of squares – SS*) των παρατηρήσεων σε δυο συνιστώσες μια για τις σταθερές (fixed) επιδράσεις και μια για τις τυχαίες επιδράσεις, δηλαδή ισχύει:

$$SS_{\text{total}} = SS_{\text{within}} + SS_{\text{between}}$$

όπου SS_{between} είναι το άθροισμα τετραγώνων μεταξύ των ατόμων και SS_{within} είναι το άθροισμα τετραγώνων μέσα στα άτομα. Το SS_{between} μπορεί περαιτέρω να διαμεριστεί σε δυο συνιστώσες, μια για τις μεταφερόμενες επιδράσεις (*carryover effects*) και μια για το εντός των ατόμων σφάλμα (*intersubject error*). Έτσι έχουμε:

$$SS_{\text{between}} = SS_{\text{carry}} + SS_{\text{inter}}$$

Καθένα από αυτά τα αθροίσματα τετραγώνων διαιρούμενα με τους αντίστοιχους τους βαθμούς ελευθερίας μας δίνει τα μέσα τετραγώνια (*mean squares – MS*). Οι αναμενόμενες τιμές των μέσων τετραγώνων για το SS_{carry} και SS_{inter} μπορεί ναδειχθεί ότι είναι:

$$E(MS_{\text{carry}}) = \frac{2n_1n_2}{n_1 + n_2} (C_T - C_R)^2 + 2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$$

$$E(MS_{\text{inter}}) = 2\sigma_s^2 + \sigma_e^2$$

Οπότε για τον έλεγχο της ισότητας των μεταφερόμενων επιδράσεων, δηλαδή της υπόθεσης (4.4) μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το στατιστικό τεστ:

$$F_C = \frac{MS_{\text{carry}}}{MS_{\text{inter}}}$$

το οποίο ακολουθεί F κατανομή με 1 και $n_1 + n_2 - 2$ β.ε. αν ισχύει η μηδενική υπόθεση, οπότε απορρίπτουμε την H_0 αν:

$$F_C \geq F(\alpha, 1, n_1 + n_2 - 2)$$

Το στατιστικό F_C είναι ισοδύναμο με το T_C εφόσον $F_C = T_C^2$.

Ομοίως, το SS_{within} μπορεί περαιτέρω να αναλυθεί σε τρεις συνιστώσες: το άθροισμα τετραγώνων για την κύρια επίδραση του φαρμάκου, το άθροισμα τετραγώνων για την επίδραση της περιόδου και το άθροισμα τετραγώνων για το εντός των ατόμων σφάλμα, δηλαδή:

$$SS_{\text{within}} = SS_{\text{drug}} + SS_{\text{period}} + SS_{\text{intra}}$$

όπου οι αναμενόμενες τιμές των μέσων τετραγώνων τους δίνονται από τους τύπους:

$$E(MS_{\text{drug}}) = \frac{2n_1n_2}{n_1 + n_2} \left[(F_T - F_R) + \frac{(C_T - C_R)}{2} \right]^2 + \sigma_e^2$$

$$E(MS_{\text{period}}) = \frac{2n_1n_2}{n_1 + n_2} (P_2 - P_1)^2 + \sigma_e^2$$

$$E(MS_{\text{intra}}) = \sigma_e^2$$

Άρα κάτω από την υπόθεση ίσων διακυμάνσεων μεταξύ των δύο μορφών ($\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_e^2$) θα ισχύει $MS_{\text{inter}} = 2\hat{\sigma}_d^2$, όπου $\hat{\sigma}_d^2$ η συνολική δειγματική διακύμανση των διαφορών των περιόδων. Όταν $C_T = C_R$ η μηδενική υπόθεση της μη παρουσίας κύριας επίδρασης του φαρμάκου (4.8) μπορεί να ελεγχθεί με το παρακάτω στατιστικό:

$$F_d = \frac{MS_{drug}}{MS_{intra}}$$

το οποίο ακολουθεί F κατανομή με 1 και $n_1 + n_2 - 2$ β.ε. αν ισχύει η μηδενική υπόθεση, οπότε απορρίπτουμε την H_0 αν:

$$F_d \geq F(\alpha, 1, n_1 + n_2 - 2)$$

Το στατιστικό F_d είναι ισοδύναμο με το T_d εφόσον $F_d = T_d^2$.

Τέλος για τον έλεγχο της υπόθεσης της μη παρουσίας επίδρασης περιόδου (4.9) μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το στατιστικό:

$$F_p = \frac{MS_{period}}{MS_{intra}}$$

το οποίο ακολουθεί F κατανομή με 1 και $n_1 + n_2 - 2$ β.ε. αν ισχύει η μηδενική υπόθεση, οπότε απορρίπτουμε την H_0 αν:

$$F_p \geq F(\alpha, 1, n_1 + n_2 - 2)$$

Το στατιστικό F_p είναι ισοδύναμο με το T_d εφόσον $F_p = T_d^2$.

4.3.2 Στατιστικοί μέθοδοι για την σύγκριση της μέσης βιοδιαθεσιμότητας

Στην προηγούμενη ενότητα έγινε μια αναφορά στα στατιστικά τεστ για τον έλεγχο της παρουσίας ορισμένων επιδράσεων σε ένα διασταυρούμενο μοντέλο. Αυτά τα τεστ συχνά χρησιμοποιούνται ως μια προκαταρκτική ανάλυση των δεδομένων πριν την αποτίμηση της βιοϊσοδυναμίας των δυο μορφών των φαρμάκων. Η απόρριψη της παραπάνω μηδενικής υπόθεσης της ισότητας των κύριων επιδράσεων για τα δυο φάρμακα δεν υποδηλώνει την ύπαρξη μη βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των μορφών. Σε αυτή την ενότητα θα παρουσιάσουμε μερικές στατιστικές μεθόδους που βασίζονται στα αρχικά, μη μετασχηματισμένα δεδομένα, τα οποία αντλούνται με ένα διασταυρούμενο σχεδιασμό, για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των μορφών.

Στην πράξη υποθέτουμε ότι δεν υπάρχουν μεταφερόμενες επιδράσεις (*Carryover effects*) καθότι συνήθως επιλέγεται μια κατάλληλη περίοδος εξάλειψης (*washout period*) με επαρκές μήκος, έτσι ώστε να εξαλειφθούν ολοκληρωτικά οι μεταφερόμενες επιδράσεις από την μία περίοδο δόσης στην άλλη. Σε αυτήν την περίπτωση το τυπικό 2 x 2 διασταυρούμενο μοντέλο (4.2) μετασχηματίζεται στο ακόλουθο:

$$Y_{ijk} = \mu + S_{i,k} + P_j + F_{j,k} + e_{ijk}$$

Στην σχέση αυτή ο όρος F_{jk} για τις μορφές των φαρμάκων καθορίζεται εφόσον έχει καθορισθεί πρώτα η ακολουθία και η περίοδος.

Για τον ισχυρισμό βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των μέσων βιοδιαθεσιμότητας, όπως αναφέραμε σε προηγούμενη ενότητα, για τα μη μετασχηματισμένα δεδομένα, ο κανόνας ± 20 απαιτεί ότι ο λόγος των δυο πραγματικών μέσων των μορφών μ_T / μ_R πρέπει να είναι μεταξύ του (80%, 120%) ή η διαφορά $\mu_T - \mu_R$ να είναι μεταξύ του $\pm 20\%$ του μ_R . Για τις λογαριθμο-μετασχηματισμένες αποκρίσεις ο κανόνας 80/125 που καθορίζεται από το FDA απαιτεί για τον ισχυρισμό της μέσης βιοϊσοδυναμίας ότι ο λόγος των μέσων του AUC ή C_{max} των δυο μορφών για τα αρχικά δεδομένα πρέπει να βρίσκεται μεταξύ του (80%, 125%). Με άλλα λόγια για τα λογαριθμημένα δεδομένα η διαφορά $\mu_T - \mu_R$ να είναι μεταξύ $\pm 0,2231$. Επίσης το FDA απαιτεί ότι η βιοϊσοδυναμία θα πρέπει να συμπεραίνεται με ασφάλεια 90%.

Σύμφωνα με αυτούς τους κανονισμούς αρκετές μέθοδοι έχουν προταθεί τις τελευταίες δεκαετίες για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας. Ανάμεσα σε αυτές συμπεριλαμβάνονται μέθοδοι εύρεσης διαστημάτων εμπιστοσύνης και μέθοδοι διαστηματικών ελέγχων υποθέσεων (*interval hypotheses testing*). Για την διαδικασία εύρεσης διαστημάτων εμπιστοσύνης αναφερόμενοι στα μετασχηματισμένα δεδομένα, δηλαδή στα λογαριθμημένα δεδομένα, μπορούμε για παράδειγμα να κατασκευάσουμε ένα κλασικό διάστημα εμπιστοσύνης για το λόγο μ_T / μ_R και να τον συγκρίνουμε με το (80%, 125%). Αν το κατασκευασμένο διάστημα εμπιστοσύνης περιέχεται μέσα στα όρια αυτά συμπεραίνουμε ότι οι δυο μορφές είναι βιοϊσοδύναμες. Για τις μεθόδους διαστηματικών ελέγχων υποθέσεων (*interval hypotheses testing*) ο Schuirmann (1981,1987) πρότεινε μια διαδικασία χρησιμοποίησης δυο μονόπλευρων ελέγχων (TOST). Σε αυτή την διαδικασία δυο p-values λαμβάνονται για να εκτιμήσουμε εάν η βιοδιαθεσιμότητα του υπό έλεγχου τύπου είναι πολύ χαμηλότερη από την μια πλευρά ή πολύ υψηλότερη από την άλλη πλευρά αντί του ελέγχου για το αν ή όχι ο πραγματικός λόγος των μέσων είναι μεταξύ του (80%, 125%).

Όταν ο αριθμός των ατόμων σε κάθε ακολουθία διαφέρει, η διαφορά των μέσων ελαχίστων τετραγώνων είναι ο αμερόληπτος εκτιμητής ελαχίστης διακύμανσης της κύριας επίδρασης του φαρμάκου, ενώ η διαφορά των μέσων των αρχικών δεδομένων (*raw means*) δεν είναι. Στην πράξη ο αριθμός των τυχαιοποιημένων ατόμων σε κάθε ακολουθία συχνά διαφέρει από τον αριθμό των ατόμων που ολοκληρώνουν την μελέτη σε κάθε ακολουθία. Έτσι για να έχουμε σωστά και έγκυρα στατιστικά συμπεράσματα,

όλες οι μέθοδοι για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας που θα αναφερθούν σε αυτή την ενότητα βασίζονται στους εκτιμητές ελαχίστων τετραγώνων. Σημειώνουμε ότι αν ο αριθμός των ατόμων σε κάθε ακολουθία είναι ο ίδιος, τότε οι εκτιμητές ελαχίστων τετραγώνων είναι ίσοι με τους μέσους των αρχικών δεδομένων (*raw means*). Οπότε ορίζουμε τους εκτιμητές ελαχίστων τετραγώνων του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου τύπου ως \bar{Y}_T και \bar{Y}_R , οι οποίοι αποδίδουν τους παρατηρούμενους μέσους όρους του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου τύπου αντίστοιχα. Συνεπώς είναι εύκολο να δούμε ότι:

$$\begin{aligned}
 E(\bar{Y}_R) &= E[(\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.22})/2] = E\left[\frac{1}{2}(\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.22})\right] = \frac{1}{2}[E(\bar{Y}_{.11}) + E(\bar{Y}_{.22})] \\
 &= \frac{1}{2}\left[E\left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i11}\right) + E\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i22}\right)\right] = \frac{1}{2}\left[\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} E(Y_{i11}) + \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} E(Y_{i22})\right] \\
 &= \frac{1}{2}\left[\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} (\mu + P_1 + F_1) + \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} (\mu + P_2 + F_1)\right] \\
 &= \frac{1}{2}\left[\frac{1}{n_1} n_1 (\mu + P_1 + F_1) + \frac{1}{n_2} n_2 (\mu + P_2 + F_1)\right] = \frac{1}{2}[(\mu + P_1 + F_1) + (\mu + P_2 + F_1)] \\
 &= \frac{1}{2}[2\mu + \cancel{P_1 + P_2} + 2F_1] = \frac{1}{2}[2\mu + 2F_1] = \mu + F_1 = \mu + F_R
 \end{aligned}$$

Ομοίως $E(\bar{Y}_T) = \mu + F_2 = \mu + F_T$

Έστω $\mu_R = \mu + F_R$ και $\mu_T = \mu + F_T$, τότε τα μ_R και μ_T είναι πράγματι οι άγνωστοι πραγματικοί μέσοι του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου τύπου και παρατηρούμε ότι τα μ_R και μ_T δεν περιέχουν καμία ενοχλητική παράμετρο, όπως οι επιδράσεις των περιόδων. Για το λόγο αυτό η διαφορά ή ο λόγος των μ_T και μ_R περιλαμβάνουν μόνο τις κύριες επιδράσεις των φαρμάκων. Έτσι σε αυτή την ενότητα, θα παρουσιάσουμε ποικίλες μεθόδους που χρησιμοποιούν εκτιμητές ελαχίστων τετραγώνων για να βγάλουν στατιστικά συμπεράσματα είτε για την διαφορά $\mu_T - \mu_R$ είτε για το λόγο μ_T/μ_R , ώστε να αποτιμηθεί η βιοϊσοδυναμία των μέσων βιοδιαθεσιμότητας.

4.3.2.1 Μέθοδος εύρεσης διαστήματος εμπιστοσύνης

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω μπορούμε να συμπεράνουμε μέση βιοϊσοδυναμία για δύο μορφές ενός φαρμάκου είτε όταν το 90% διάστημα εμπιστοσύνης για την διαφορά των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων των δυο μορφών είναι μεταξύ του $\pm 20\%$ του παρατηρούμενου μέσου του εγκεκριμένου προϊόντος, είτε όταν το 90% διάστημα εμπιστοσύνης του λόγου των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων των δυο μορφών είναι μεταξύ του 80 και 120%. Πρέπει να σημειώσουμε ότι οι δύο κανόνες απόφασης είναι ισοδύναμοι όταν το μ_R είναι γνωστό. Οπότε παρόλο που ένα διάστημα εμπιστοσύνης για την διαφορά μπορεί να μετατραπεί έτσι ώστε να γίνει ένα διάστημα εμπιστοσύνης για τον λόγο, αυτά τα δυο διαστήματα εμπιστοσύνης μπορεί να οδηγούν σε διαφορετικά συμπεράσματα όταν το \bar{Y}_R υποτεθεί ότι είναι ο πραγματικός μέσος μ_R . Συνεπώς βασισμένοι στους παραπάνω κανόνες απόφασης μπορούμε να κατασκευάσουμε αρκετά διαστήματα εμπιστοσύνης τόσο για την διαφορά όσο και για το λόγο των μ_T και μ_R , βασισμένοι είτε στα αρχικά είτε στα μετασχηματισμένα δεδομένα. Το πιο γνωστό από αυτά είναι :

- **Το κλασικό ή μικρότερο (*shortest*) διάστημα εμπιστοσύνης:**

Έστω \bar{Y}_T και \bar{Y}_R οι αντίστοιχοι μέσοι ελαχίστων τετραγώνων του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου τύπου, οι οποίοι μπορούν να ληφθούν από τους μέσους της αλληλεπίδρασης της ακολουθίας με την περίοδο (*sequence by period*). Μπορούμε να κατασκευάσουμε ένα κλασικό ή μικρότερο $(1-2\alpha)100\%$ διάστημα εμπιστοσύνης αν βασιστούμε στο στατιστικό (4.7) το οποίο μετασχηματίζεται στο ακόλουθο στατιστικό t :

$$T = \frac{(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - (\mu_T - \mu_R)}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Κάτω από την υπόθεση κανονικότητας, το T ακολουθεί μια κεντρική Student t κατανομή με $n_1 + n_2 - 2$ βαθμούς ελευθερίας. Έτσι το κλασικό $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε για την διαφορά $\mu_T - \mu_R$ μπορεί να ληφθεί παίρνοντας ως όρια τα :

$$L_1 = (\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$$

$$U_1 = (\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) + t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad (4.10)$$

Το παραπάνω δ.ε. για την διαφορά $\mu_T - \mu_R$ μπορεί να μετασχηματισθεί σε ένα $(1-2\alpha)100\%$ ασυμπτωτικό δ.ε για το λόγο μ_T / μ_R διαιρούμενο με το \bar{Y}_R και υποθέτοντας ότι το \bar{Y}_R είναι ο πραγματικός μέσος μ_R του εγκεκριμένου προϊόντος. Έτσι έχουμε :

$$L_2 = (L_1 / \bar{Y}_R + 1) \times 100\%$$

$$U_2 = (U_1 / \bar{Y}_R + 1) \times 100\%$$

Επομένως αν θ_L και θ_U είναι το κάτω και το πάνω όριο ισοδυναμίας για την διαφορά και αν δ_L και δ_U το κάτω και το πάνω όριο ισοδυναμίας του λόγου, τότε θα συμπεράνουμε μέση βιοϊσοδυναμία αν:

$$(L_1, U_1) = (\theta_L, \theta_U) \quad \text{ή} \quad (L_2, U_2) = (\delta_L, \delta_U) \quad (4.11)$$

όπου $\theta_L = -0,2 \mu_R$, $\theta_U = 0,2 \mu_R$ και $\delta_L = 80\%$, $\delta_U = 120\%$ για τον κανόνα ± 20 .

Η χρήση του διαστήματος εμπιστοσύνης ως εργαλείο για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας τις σχέσεις (4.11) μοιάζει αρκετά ελκυστική. Υπάρχει όμως μια ασυμφωνία μεταξύ της ιδέας του διαστήματος εμπιστοσύνης και της διαδικασία λήψης απόφασης, βασισμένης σε αυτό. Ένα $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε για την διαφορά $\mu_T - \mu_R$ είναι ένα τυχαίο διάστημα όπου στην πραγματικότητα τα όρια του είναι τυχαίες μεταβλητές. Η βασική ιδέα ενός $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε για την διαφορά είναι ότι αν η ίδια μελέτη μπορεί να επαναληφθεί n φορές τότε τα $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε που θα κατασκευασθούν από τις n επαναλήψεις θα καλύψουν την διαφορά $\mu_T - \mu_R$ (Bickel και Doksum, 1977). Με άλλα λόγια μετά από αρκετές επαναλήψεις, ένα $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε θα έχει τουλάχιστον $1-2\alpha$ πιθανότητα να καλύψει την πραγματική διαφορά (ή λόγο) των μέσων μ_T και μ_R , επειδή κάτω από την υπόθεση κανονικότητας έχουμε :

$$P[\mu_T - \mu_R \in (L_1, U_1)] = 1-2\alpha$$

Όμως το $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε δεν εγγυάται ότι μετά από πολλές επαναλήψεις η πιθανότητα το $(1-2\alpha)100\%$ δ.ε να είναι μεταξύ των ορίων ισοδυναμίας είναι τουλάχιστον $1-2\alpha$, δηλαδή η πιθανότητα $P[(L_1, U_1) \in (\theta_L, \theta_U)]$ δεν είναι απαραίτητα μεγαλύτερη ή ίση του $1-2\alpha$. Έτσι όταν υπάρχει μεγάλο CV (ή μεγάλη μεταβλητότητα) η διαδικασία χρησιμοποίησης διαστημάτων εμπιστοσύνης για την αποτίμηση βιοϊσοδυναμίας στην

μέση βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να μην έχει το επιθυμητό επίπεδο ασφάλειας που απαιτείται από το FDA.

4.3.2.2 Μέθοδος διαστηματικών ελέγχων υποθέσεων (*interval hypotheses testing*)

Όπως έχει αναφερθεί αρκετά στην εργασία αυτή, η αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας βασίζεται στην σύγκριση των προφίλ της βιοδιαθεσιμότητας των διαφορετικών μορφών των φαρμάκων. Όμως στην πράξη αναγνωρίζουμε ότι ποτέ δύο μορφές δεν έχουν ακριβώς τα ίδια προφίλ βιοδιαθεσιμότητας. Για το λόγο αυτό αν τα δυο προφίλ διαφέρουν λιγότερο από ένα κλινικό όριο, τα προφίλ των δυο μορφών μπορούν να θεωρηθούν ισοδύναμα. Επομένως, βασισμένοι στην ιδέα του Schurmann (1981) που περιγράψαμε στο πρώτο κεφάλαιο, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την διαδικασία των δυο μονόπλευρων υποθέσεων για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των μορφών. Η διαστηματική υπόθεση ισοδυναμίας που πρέπει να ελεγχθεί σε αυτήν την περίπτωση είναι :

$$\begin{aligned} H_0 : \mu_T - \mu_R \leq \theta_L \quad \text{ή} \quad \mu_T - \mu_R \geq \theta_U \\ H_a : \theta_L < \mu_T - \mu_R < \theta_U \end{aligned} \quad (4.12)$$

Η ιδέα του διαστηματικού ελέγχου της υπόθεσης (4.12) στηρίζεται στο ότι μπορούμε να δείξουμε την ύπαρξη μέσης βιοϊσοδυναμίας με το να απορρίψουμε την μηδενική υπόθεση της μέσης βιοανισοδυναμίας. Στις περισσότερες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας, τα θ_L και θ_U επιλέγονται έτσι ώστε να είναι το 20% του μέσου του εγκεκριμένου προϊόντος (μ_R). Όταν χρησιμοποιήσουμε των λογαριθμικό μετασχηματισμό για τα δεδομένα μας τότε η αντίστοιχη υπόθεση της (4.12) που θα πρέπει να θεωρήσουμε είναι:

$$\begin{aligned} H'_0 : \mu_T / \mu_R \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \mu_T / \mu_R \geq \delta_U \\ H'_a : \delta_L < \mu_T / \mu_R < \delta_U \end{aligned} \quad (4.13)$$

όπου $\delta_L = \exp(\theta_L)$ και $\delta_U = \exp(\theta_U)$. Παρατηρούμε όμως ότι ο έλεγχος της υπόθεσης (4.13) αν εφαρμοστεί στα λογαριθμημένα δεδομένα είναι ισοδύναμος με τον έλεγχο της υπόθεσης (4.12) αν εφαρμοσθεί στα αρχικά δεδομένα. Επίσης παρατηρούμε ότι οι

διαστημικές υποθέσεις (4.12) μπορούν να αναλυθούν σε δυο σύνολα μονόπλευρων υποθέσεων :

$$\begin{array}{lll} H_{o1} : \mu_T - \mu_R \leq \theta_L & \text{έναντι} & H_{a1} : \mu_T - \mu_R > \theta_L \\ H_{o2} : \mu_T - \mu_R \geq \theta_U & \text{έναντι} & H_{a2} : \mu_T - \mu_R < \theta_U \end{array}$$

Το πρώτο σύνολο των υποθέσεων ελέγχει αν η μέση βιοδιαθεσιμότητα του υπό έλεγχου προϊόντος είναι πολύ χαμηλή ενώ το δεύτερο σύνολο ελέγχει αν η μέση βιοδιαθεσιμότητα του υπό έλεγχου προϊόντος είναι πολύ υψηλή. Μια σχετικά χαμηλή (ή υψηλή) μέση βιοδιαθεσιμότητα μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει πρόβλημα στην αποτελεσματικότητα (ή την ασφάλεια) του υπό έλεγχο προϊόντος. Αν κάποιος συμπεράνει ότι $\theta_L < \mu_T - \mu_R$, δηλαδή απορρίψει την H_{o1} και $\mu_T - \mu_R < \theta_U$, δηλαδή απορρίψει την H_{o2} τότε θα έχει συμπεράνει ότι $\theta_L < \mu_T - \mu_R < \theta_U$, δηλαδή τα μ_T και μ_R είναι ισοδύναμα.

Επομένως χρησιμοποιώντας τον έλεγχο TOST για τις δυο αυτές μηδενικές υποθέσεις μπορούμε βασισμένοι στα στατιστικά :

$$T_L = \frac{(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - \theta_L}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{και} \quad T_U = \frac{(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R) - \theta_U}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

να απορρίψουμε την H_o σε επίπεδο α και να ισχυριστούμε ότι οι δυο μορφές του φαρμάκου είναι βιοϊσοδύναμες, αν και οι δυο έλεγχοι απορρίπτονται τις H_{oi} , δηλαδή αν ισχύει :

$$T_L > t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \quad \text{και} \quad T_U > t(\alpha, n_1 + n_2 - 2)$$

4.3.3 Μεταβλητότητα και διαδικασίες απόφασης

Σε αυτή την εργασία κατά κύριο λόγο ασχοληθήκαμε μόνο με την ισοδυναμία στις μέσες βιοδιαθεσιμότητες των δυο μορφών ενός φαρμάκου, στην πραγματικότητα όμως η ισοδυναμία μεταξύ δυο μορφών ενός φαρμάκου, εξαρτάται από το εάν οι περιθώριες κατανομές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων του ενδιαφέροντος μας είναι ισοδύναμες. Αυτή η ισοδυναμία αναφέρεται συνήθως ως πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία. Κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας, η ισοδυναμία μεταξύ των κατανομών

μπορεί να καθορισθεί από την ισοδυναμία μεταξύ των πρώτων ροπών (μέση τιμή) και των δεύτερων ροπών (μεταβλητότητα). Για την αποτίμηση της βιοϊσοδυναμίας το FDA απαιτεί στοιχεία μόνο για την ισοδυναμία στις μέσες βιοδιαθεσιμότητες των μορφών. Τα συμπεράσματα όμως των βιοϊσοδυναμιών που βασίζονται μόνο στις μέσες βιοδιαθεσιμότητες μπορεί να είναι μερικές φορές παραπλανητικά, λόγω αμφισβήτησης της ασφάλειας και της ανταλλαξιμότητας του υπό έλεγχο προϊόντος.

Στην πράξη, επειδή τα άτομα μπορεί να διαφέρουν ευρύτατα στις αποκρίσεις τους απέναντι σε ένα φάρμακο, επιπρόσθετα με την ισοδυναμία των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων είναι απαραίτητο να συγκρίνουμε την μεταβλητότητα των βιοδιαθεσιμοτήτων. Αν η μεταβλητότητα του υπό έλεγχο προϊόντος είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του εγκεκριμένου προϊόντος τότε η ασφάλεια του υπό έλεγχο προϊόντος θα πρέπει να μας απασχολήσει και η ανταλλαξιμότητα μεταξύ των δυο μορφών θα είναι αμφισβητήσιμη ακόμα και αν οι δύο μορφές είναι ισοδύναμες στις μέσες βιοδιαθεσιμότητες. Αυτό συμβαίνει γιατί η ισοδυναμία των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων δεν λαμβάνει υπόψη της την διαφορά των μεταβλητοτήτων όπως απόδειξε ο Liu το 1991.

Σε προηγούμενες ενότητες παρουσιάστηκαν ορισμένοι μέθοδοι με τις οποίες μπορούμε να βγάλουμε στατιστικά συμπεράσματα για τις ορισμένες επιδράσεις σε ένα 2×2 διασταυρούμενο σχεδιασμό καθώς και δυο μέθοδοι αποτίμησης της ισοδυναμίας μεταξύ των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων. Κύρια υπόθεση σε όλες αυτές τις μεθόδους ήταν ότι οι εντός των ατόμων μεταβλητότητες των μορφών είναι ίσες, δηλαδή $\sigma_T^2 = \sigma_R^2$. Άρα είναι ενδιαφέρον να εξετάσουμε αν αυτές οι μέθοδοι είναι ακόμη αποτελεσματικές όταν υπάρχει μια σημαντική διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες.

Για τον έλεγχο της υπόθεσης της ύπαρξης άνισων μεταφερόμενων επιδράσεων (4.4) χρησιμοποιήσαμε τα αθροίσματα των αποκρίσεων κάθε ατόμου U_{ik} σε κάθε ακολουθία, όπου στην περίπτωση που $\sigma_T^2 \neq \sigma_R^2$ το μόνο που αλλάζει για αυτά είναι οι διακυμάνσεις τους, οπότε έχουμε $\sigma_U^2 = 4\sigma_S^2 + \sigma_T^2 + \sigma_R^2$. Ενώ για τον έλεγχο της μη ύπαρξης κύριας επίδρασης του φαρμάκου (4.8) και της μη ύπαρξης επίδρασης της περιόδου (4.9) χρησιμοποιήσαμε τις διαφορές των περιόδων, όπου στην περίπτωση που $\sigma_T^2 \neq \sigma_R^2$ αλλάζουν πάλι μόνο οι διακυμάνσεις τους και έχουμε $\sigma_d^2 = \frac{1}{4}(\sigma_T^2 + \sigma_R^2)$. Επομένως συμπεραίνουμε ότι για να βγάλουμε στατιστικά συμπεράσματα για τις ορισμένες επιδράσεις του μοντέλου (4.2), στην περίπτωση που έχουμε $\sigma_T^2 \neq \sigma_R^2$,

μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τα στατιστικά που παρουσιάσαμε στις ενότητες 4.3.1.1 έως 4.3.1.3 αντικαθιστώντας όπου σ_u^2 και σ_d^2 τις παραπάνω τιμές.

Στην ενότητα 4.3.1.4 παρουσιάσαμε έναν τρόπο ελέγχου της ύπαρξης των ορισμένων επιδράσεων του μοντέλου (4.2) χρησιμοποιώντας μια ειδική μορφή ανάλυσης διακύμανσης. Η μέθοδος αυτή όμως όταν $\sigma_T^2 \neq \sigma_R^2$ δεν είμαστε σίγουροι αν δίνει σωστά αποτελέσματα, γιατί στην περίπτωση αυτή το άθροισμα τετραγώνων της εντός των ατόμων μεταβλητότητας (SS_{intra}) που υπολογίζεται στον πίνακα ANOVA δεν γνωρίζουμε τι αντιπροσωπεύει, όπως στην περίπτωση $\sigma_T^2 = \sigma_R^2$ που αντιπροσωπεύει το σ_e^2 (όπου $\sigma_e^2 = \sigma_T^2 = \sigma_R^2$)

Στις μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας σε ένα 2x2 διασταυρούμενο σχεδιασμό, όπως έχουμε αναφέρει, οι δυο μέθοδοι που παρουσιάσαμε παραπάνω είναι πρακτικά ισοδύναμες οπότε χωρίς έλλειψη της γενικότητας, μπορούμε να ελέγξουμε αν τα δυο μονόπλευρα τεστ είναι αποτελεσματικά όταν υπάρχει διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες. Η διαδικασία των δυο μονόπλευρων ελέγχων βασίζεται στις διαφορές των περιόδων d_{ik} , όπως ορίστηκαν στην σχέση (4.5). Αν δεν υπάρχουν ίσες μεταφερόμενες επιδράσεις και υπάρχει διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες, κάτω από το μοντέλο (4.2) οι αναμενόμενες τιμές και διακυμάνσεις των d_{ik} δίνονται από τους τύπους:

$$E(d_{ik}) = \begin{cases} \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_2 - F_1) + C_R] & , \quad k = 1 \\ \frac{1}{2}[(P_2 - P_1) + (F_1 - F_2) + C_T] & , \quad k = 2 \end{cases}$$

$$\begin{aligned} \text{και} \quad \sigma_d^2 &= V\left(\frac{1}{2}(Y_{i2k} - Y_{i1k})\right) = \frac{1}{4} V(Y_{i2k} - Y_{i1k}) \\ &= \frac{1}{4} [V(Y_{i2k}) + V(Y_{i1k}) - \text{Cov}(Y_{i2k}, Y_{i1k})] \\ &= \frac{1}{4} [\sigma_T^2 + \sigma_s^2 + \sigma_R^2 + \sigma_s^2 - 2\sigma_s^2] \\ &= \frac{1}{4} (\sigma_T^2 + \sigma_R^2) \end{aligned}$$

Επομένως τα $\{d_{i1}, i = 1, 2, \dots, n_1\}$ και τα $\{d_{i2}, i = 1, 2, \dots, n_2\}$ είναι δυο ανεξάρτητα δείγματα με ίσες διακυμάνσεις σ_d^2 , όπου το σ_d^2 είναι το μισό της μέσης τιμής των εντός των ατόμων μεταβλητοτήτων του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου προϊόντος.

Ως αποτέλεσμα συμπεραίνουμε ότι η διαδικασία των δυο μονόπλευρων ελέγχων για την αποτίμηση της ισοδυναμίας των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων θα είναι αποτελεσματική ακόμη και όταν οι εντός των ατόμων μεταβλητότητες των φαρμάκων είναι διαφορετικές, δηλαδή $\sigma_T^2 \neq \sigma_R^2$. Με άλλα λόγια για την αποτίμηση της ισοδυναμίας των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων οι μέθοδοι που παρουσιάστηκαν στις προηγούμενες ενότητες και εξαρτώνται από την διαφορά των περιόδων αγνοούν πλήρως την διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες μεταξύ των φαρμάκων. Όμως η διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στην ασφάλεια και την ανταλλαξιμότητα του υπό έλεγχου φαρμάκου. Συνεπώς μαζί με την ισοδυναμία των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων είναι αναγκαίο να αποδείξουμε και την ισοδυναμία στις μεταβλητότητες. Ο έλεγχος της βιοϊσοδυναμίας αυτής είναι τμήμα της πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας η μελέτη της οποίας δεν αποτελεί στόχο της συγκεκριμένης εργασίας.

4.4 Υπόθεση λογαριθμοκανονικότητας

Βασισμένοι στον κανόνα ± 20 παρουσιάσαμε παραπάνω αρκετές στατιστικές μεθόδους για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στην περίπτωση του τυπικού 2×2 δισταυρούμενου σχεδιασμού. Όλες αυτές οι μέθοδοι εφαρμόζονται στα αρχικά δεδομένα κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας των εντός και μεταξύ των ατόμων μεταβλητοτήτων. Επίσης η εντός των ατόμων μεταβλητότητα υποθέσαμε ότι ήταν η ίδια για κάθε άτομο σε κάθε τύπο φαρμάκου. Ως αποτέλεσμα των υποθέσεων αυτών συμπεράναμε ότι οι αποκρίσεις των ατόμων κατανέμονται κανονικά. Συχνά όμως μια από τις δυσκολίες που αντιμετωπίζουμε σε μελέτες βιοδιαθεσιμότητας είναι το αν ισχύει η υπόθεση της κανονικότητας. Συνήθως οι κατανομές των αποκρίσεων είναι θετικά λοξές και παρουσιάζουν έλλειψη ομοιογένειας των διακυμάνσεων. Σε αυτήν την περίπτωση η λογαρίθμηση των αποκρίσεων μειώνει την λοξότητα και μας βοηθάει να δεχθούμε ένα πρόσθετο μοντέλο που συνδέεται με ομογενείς διακυμάνσεις. Η εφαρμογή ενός πολλαπλασιαστικού μοντέλου, δηλαδή ενός λογαριθμογραμμικού μοντέλου, προτείνεται από τους περισσότερους οδηγούς των οργανισμών όπως και από οδηγό του FDA, "Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-Treatment Crossover Design", Ιούλιος του 1992. Επομένως για τα

μετασχηματισμένα δεδομένα οι μέθοδοι που παρουσιάστηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο μπορούν να εφαρμοστούν κατευθείαν και να ακολουθηθούν από μια αντιλογαρίθμηση (*antilog-transformation*) για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας.

4.4.1 Πολλαπλασιαστικό (ή λογαριθμογραμμικό) μοντέλο

Όπως αναφέραμε και παραπάνω, οι κατανομές των αποκρίσεων, όπως του AUC και C_{max} , συχνά έχουν θετική λοξότητα και εμφανίζουν έλλειψη ομοιογένειας των διακυμάνσεων. Για το λόγο αυτό η υπόθεση κανονικότητας για το AUC και C_{max} μπορεί να μην είναι η κατάλληλη. Σε αυτήν την περίπτωση, η αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας βασισμένη στο μοντέλο των αρχικών δεδομένων και στις υποθέσεις κανονικότητας για τα δεδομένα αυτά δεν δίνει σωστά αποτελέσματα. Οπότε για να αφαιρέσουμε την λοξότητα από τα δεδομένα και για να μπορέσουμε να εφαρμόσουμε ένα πρόσθετο μοντέλο που αναφέρεται σε ομογενείς διακυμάνσεις πραγματοποιούμε λογαρίθμηση του AUC και C_{max} , η οποία οδηγεί στο ακόλουθο πολλαπλασιαστικό μοντέλο :

$$X_{ijk} = \tilde{\mu} \cdot \tilde{S}_{ik} \cdot \tilde{P}_j \cdot \tilde{F}_{jk} \cdot \tilde{C}_{j-1,k} \cdot \tilde{e}_{ijk} \quad (4.14)$$

ή ισοδύναμα

$$Y_{ijk} = \ln(X_{ijk}) = \mu + S_{ik} + P_j + F_{jk} + C_{(j-1,k)} + e_{ijk} \quad (4.15)$$

όπου $i = 1, 2, 3, \dots, n_k$ και $j, k = 1, 2$ για τον τυπικό 2×2 δισταυρούμενο σχεδιασμό. Για το παραπάνω πολλαπλασιαστικό μοντέλο μπορούμε να θεωρήσουμε ότι $\tilde{\mu} = \exp(\mu)$, $\tilde{S}_{ik} = \exp(S_{ik})$, $\tilde{P}_j = \exp(P_j)$, $\tilde{F}_{j,k} = \exp(F_{j,k})$, $\tilde{C}_{j-1,k} = \exp(C_{j-1,k})$ και $\tilde{e}_{ijk} = \exp(e_{ijk})$. Αν τα $\{S_{ik}\}$ και $\{e_{ijk}\}$, όπως αναφέραμε και στην περίπτωση της κανονικής κατανομής είναι ανεξάρτητα και κανονικά κατανομημένα με πίνακα συνδιακυμάνσεων Σ , όπως ορίστηκε στην σχέση (4.3), τότε τα X_{ijk} ακολουθούν ένα λογαριθμοκανονικό μοντέλο σύμφωνα με τους Bradu και Munblak (1970) και Shimizu (1998). Το παραπάνω πολλαπλασιαστικό μοντέλο (4.14) μπορεί να εκφραστεί και ως :

$$X_{ijk} = \exp(\mu + S_{ik} + P_j + F_{j,k} + C_{(j-1,k)} + e_{ijk})$$

Επομένως κάτω από την υπόθεση της κανονικότητας των $\{S_{ik}\}$ και $\{e_{ijk}\}$, το διάνυσμα $(X_{i1k}, X_{i2k})'$ του ζεύγους των παρατηρήσεων του i ατόμου στην k -οστή ακολουθία ακολουθεί μια διμεταβλητή λογαριθμοκανονική κατανομή όπως αναφέρουν και οι Crow και Shimizu (1988).

4.4.2 Ποσότητες βιοϊσοδυναμίας

Στην πράξη ο λόγος των μέσων των X_{ijk} του υπό έλεγχου και του εγκεκριμένου προϊόντος συνήθως θεωρείται ως μια ποσότητα βιοϊσοδυναμίας. Επειδή συνήθως η κατανομή του X_{ijk} είναι θετικά λοξή, κάποιοι ερευνητές πρότειναν την χρησιμοποίηση του λόγου των διαμέσων στην θέση του λόγου των μέσων τιμών ως μια εναλλακτική ποσότητα της μέσης βιοϊσοδυναμίας. Βασιζόμενοι στην ιδέα ότι η διάμεσος αντιπροσωπεύει καλύτερα την κεντρική θέση της εκάστοτε κατανομής όπως αναφέρουν και οι Metzler και Huang (1983). Ωστόσο, ο λόγος των μέσων και των διαμέσων μπορεί να συγχυστεί με την επίδραση της περιόδου ή την εντός των ατόμων μεταβλητότητα κάτω από το μοντέλο (4.14). Οι μέσοι και οι διάμεσοι των X_{ijk} σε κάθε ακολουθία και περίοδο, κάτω από την υπόθεση μη ύπαρξης μεταφερόμενων επιδράσεων, είναι :

ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ 1	Περίοδος 1	Περίοδος 2
Μέσος	$\mu_{REF} = \exp[(\mu + P_1 + F_R) + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)]$	$\mu_{TEST} = \exp[(\mu + P_2 + F_T) + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)]$
Διάμεσος	$\exp(\mu + P_1 + F_R)$	$\exp(\mu + P_2 + F_T)$
ΑΚΟΛΟΥΘΙΑ 2	Περίοδος 1	Περίοδος 2
Μέσος	$\mu_{TEST} = \exp[(\mu + P_1 + F_T) + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)]$	$\mu_{REF} = \exp[(\mu + P_2 + F_R) + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)]$
Διάμεσος	$\exp(\mu + P_2 + F_T)$	$\exp(\mu + P_1 + F_R)$

Στον πίνακα αυτόν παρατηρούμε ότι οι μέσοι των X_{ijk} περιέχουν την μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα σ_S^2 και την εντός των ατόμων μεταβλητότητες σ_T^2 και σ_R^2 των λογαριθμημένων δεδομένων Y_{ijk} . Ενώ οι διάμεσοι των X_{ijk} περιέχουν μόνο τις σταθερές (fixed) επιδράσεις $\tilde{\mu}$, \tilde{P}_j και $\tilde{F}_{j,k}$. Για το λόγο αυτό, για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας μπορούμε να θεωρήσουμε τον ακόλουθο λόγο των μέσων

βιοδιαθεσιμότητων των αρχικών δεδομένων, ο οποίος απεικονίζει μόνο τα αποτελέσματα που προκαλούνται από την διαφορά στις κύριες επιδράσεις μεταξύ των δυο μορφών.

$$\delta = \tilde{F} = \exp(F) = \exp(F_T - F_R) = \frac{\exp(F_T)}{\exp(F_R)} = \frac{\exp(\mu + F_T)}{\exp(\mu + F_R)} = \frac{\tilde{\mu}_T \tilde{F}_T}{\tilde{\mu}_R \tilde{F}_R} = \frac{\tilde{\mu}_T}{\tilde{\mu}_R}$$

όπου $\tilde{\mu}_T = \tilde{\mu} \tilde{F}_T$ και $\tilde{\mu}_R = \tilde{\mu} \tilde{F}_R$.

Υπάρχουν όμως αρκετές ακόμα ποσότητες που σχετίζονται με την μέση βιοδιαθεσιμότητα, όπως για παράδειγμα ο λόγος των περιθώριων μέσων του υπό έλεγχο προς του εγκεκριμένου τύπου, ο οποίος δίνεται από τον τύπο :

$$\delta_M = \begin{cases} \exp[P + F + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 - \sigma_R^2)], & k = 1 \\ \exp[-P + F + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 - \sigma_R^2)], & k = 2 \end{cases}$$

Κάτω από την υπόθεση της μη ύπαρξης επίδρασης περιόδου η ποσότητα δ_M μετασχηματίζεται ως εξής :

$$\delta_M = \exp[F + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 - \sigma_R^2)] \quad (4.16)$$

Επομένως μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το δ_M είναι μια ποσότητα της μέσης βιοδιαθεσιμότητας που αποτιμά την βιοϊσοδυναμία συνδυάζοντας πληροφορίες από την ορισμένη κύρια επίδραση του φαρμάκου και την διαφορά στις εντός των ατόμων μεταβλητότητες για τα λογαριθμημένα δεδομένα. Όταν $\sigma_T^2 = \sigma_R^2$ το δ_M συμπίπτει με τον λόγο των περιθώριων διαμέσων της υπό έλεγχο προς της εγκεκριμένης μορφής.

Μια επίσης ελκυστική ποσότητα που συνδέεται με την βιοδιαθεσιμότητα είναι ο μέσος των ατομικών λόγων, ο οποίος δίνεται από τον τύπο:

$$\delta_I = \begin{cases} \exp(P + F + 2\sigma_d^2), & k = 1 \\ \exp(-P + F + 2\sigma_d^2), & k = 2 \end{cases}$$

$$\text{όπου } \sigma_d^2 = \frac{1}{4}(\sigma_T^2 + \sigma_R^2)$$

Όταν δεν υπάρχει επίδραση της περιόδου το δ_I μετασχηματίζεται ως εξής :

$$\delta_I = \exp(F + 2\sigma_d^2)$$

Επομένως η αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας τα δ_M και δ_I εμπλέκει όχι μόνο την ορισμένη κύρια επίδραση αλλά και τις εντός των ατόμων μεταβλητότητες. Συνεπώς ακόμα και αν η κύρια επίδραση των φαρμάκων των λογαριθμημένων δεδομένων είναι μηδέν οι δύο μορφές του φαρμάκου δεν μπορούν να θεωρηθούν βιοϊσοδύναμες λόγω των εντός των ατόμων μεταβλητοτήτων. Από την άλλη, η διάμεσος των ατομικών λόγων γίνεται ίση με το δ όταν απουσιάζει η επίδραση της περιόδου. Εφόσον το δ εμπλέκει μόνο τη κύρια επίδραση των φαρμάκων των λογαριθμισμένων δεδομένων θα εστιάσουμε την προσοχή μας αρχικά, όπως αναφέρουν οι Berger και Hsu (1996), στην εφαρμογή μεθόδου αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας που στηρίζεται στο δ . Ενώ στην συνέχεια θα προτείνουμε την εφαρμογή μιας μεθόδου αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας βασισμένοι στο δ_M χρησιμοποιώντας γενικευμένα p-values.

4.4.3 Αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στηριζόμενοι στο λόγο των κύριων επιδράσεων των δυο μορφών

Αν η λοξότητα του X_{ijk} μπορεί να αφαιρεθεί με λογαρίθμιση και οι μέσοι των λογαριθμημένων δεδομένων έχουν ασυμπτωτικά κανονική κατανομή, τότε η μέση βιοϊσοδυναμία μπορεί να αποτιμηθεί χρησιμοποιώντας τις στατιστικές μεθόδους που περιγράψαμε στις ενότητες 4.3.1 και 4.3.2, στην περίπτωση που τα αρχικά δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή, βασισμένοι όμως τώρα στα μετασχηματισμένα δεδομένα. Για παράδειγμα κατά τη σύγκριση των μέσων βιοδιαθεσιμοτήτων των δύο μορφών η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί είναι η υπόθεση

$$H_0 : \delta \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \delta \geq \delta_U$$

$$H_a : \delta_L < \delta < \delta_U$$

η οποία εφόσον ισχύει ότι $\delta = \frac{\tilde{\mu}_T}{\tilde{\mu}_R} = \frac{\exp(\mu + F_T)}{\exp(\mu + F_R)} = \exp(\mu_T - \mu_R)$ είναι ισοδύναμη με την :

$$H_0 : \exp(\mu_T - \mu_R) \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \exp(\mu_T - \mu_R) \geq \delta_U$$

$$H_a : \delta_L < \exp(\mu_T - \mu_R) < \delta_U$$

και λογαριθμιζοντάς την, παίρνουμε :

$$H_0 : \mu_T - \mu_R \leq \theta_L \quad \text{ή} \quad \mu_T - \mu_R \geq \theta_U$$

$$H_a : \theta_L < \mu_T - \mu_R < \theta_U \quad (4.17)$$

όπου $\theta_L = \log(\delta_L)$ και $\theta_U = \log(\theta_U)$.

Τέλος παρατηρούμε ότι οι παραπάνω διαστηματικές υποθέσεις (4.17) μπορούν να αναλυθούν σε δυο σύνολο μονόπλευρων υποθέσεων :

$$H_{01} : \mu_T - \mu_R \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \mu_T - \mu_R > \theta_L$$

$$H_{02} : \mu_T - \mu_R \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \mu_T - \mu_R < \theta_U$$

Οπότε για τον έλεγχο των υποθέσεων αυτών, χρησιμοποιώντας τη διαδικασία των δυο μονόπλευρων υποθέσεων, θα πρέπει να βασιστούμε στις λογαριθμημένες αποκρίσεις $Y_{ijk} = \log(X_{ijk})$, οι οποίες ακολουθούν το μοντέλο (4.15) και για τις οποίες όπως έχουμε αναφέρει και σε προηγούμενες ενότητες η ποσότητα :

$$D = \bar{Y}_T - \bar{Y}_R = \frac{\bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.12} - (\bar{Y}_{.11} + \bar{Y}_{.22})}{2}$$

αποτελεί έναν κανονικά κατανομημένο αμερόληπτο εκτιμητή της διαφοράς $F = \mu_T - \mu_R$

$$\text{με διακύμανση } \sigma_D^2 = \sigma_d^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) = \frac{1}{4} (\sigma_T^2 + \sigma_R^2) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)$$

Επομένως βασισμένοι στα στατιστικά :

$$T_L = \frac{D - \theta_L}{\hat{\sigma}_D} = \frac{\bar{Y}_T - \bar{Y}_R - \theta_L}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{και} \quad T_U = \frac{D - \theta_U}{\hat{\sigma}_D} = \frac{\bar{Y}_T - \bar{Y}_R - \theta_U}{\hat{\sigma}_d \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

μπορούμε να απορρίψουμε την μηδενική υπόθεση H_0 σε επίπεδο α και να ισχυριστούμε ότι οι δυο μορφές του φαρμάκου είναι βιοϊσοδύναμες, αν και οι δυο έλεγχοι απορρίπτον τις H_{0i} , δηλαδή αν ισχύει :

$$T_L > t(\alpha, n_1 + n_2 - 2) \quad \text{και} \quad T_U > t(\alpha, n_1 + n_2 - 2)$$

4.4.4 Αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας στηριζόμενοι στο λόγο των περιθώριων μέσων των δυο μορφών

Όπως έχουμε αναφέρει στο πρώτο κεφάλαιο ο έλεγχος της μέσης βιοϊσοδυναμίας στηρίζεται κατά κύριο λόγο στον λόγο των μέσων τιμών των φαρμακοκινητικών αποκρίσεων για αυτό θα ήταν καλύτερο να στηριχθούμε στην ποσότητα δ_M για την παραγωγή μεθόδων αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας. Εφόσον τα αρχικά μας δεδομένα X_{ijk} ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή τα $Y_{ijk} = \ln(X_{ijk})$ θα ακολουθούν κανονική κατανομή με παραμέτρους:

$$E(Y_{ijk}) = \begin{cases} \mu + F_R, & \text{αν } j = k \\ \mu + F_T, & \text{αν } j \neq k \end{cases} = \begin{cases} \mu_R, & \text{αν } j = k \\ \mu_T, & \text{αν } j \neq k \end{cases}$$

και

$$V(Y_{ijk}) = \begin{cases} \sigma_R^2 + \sigma_S^2, & \text{αν } j = k \\ \sigma_T^2 + \sigma_S^2, & \text{αν } j \neq k \end{cases}$$

για τις οποίες έχουμε αποδείξει ότι ένας αμερόληπτος εκτιμητής του μ_T είναι το \bar{Y}_T ενώ του μ_R το \bar{Y}_R . Οι \bar{Y}_T και \bar{Y}_R ακολουθούν κανονική κατανομή με μέση τιμή μ_T και μ_R αντίστοιχα και διακυμάνσεις:

$$\begin{aligned} V(\bar{Y}_T) &= \sigma_{\bar{Y}_T}^2 = V\left(\frac{1}{2}(\bar{Y}_{.21} + \bar{Y}_{.12})\right) = \frac{1}{4}[V(\bar{Y}_{.21}) + V(\bar{Y}_{.12})] \\ &= \frac{1}{4}\left[V\left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i21}\right) + V\left(\frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i12}\right)\right] = \frac{1}{4}\left[\frac{1}{n_1^2} \sum_{i=1}^{n_1} V(Y_{i21}) + \frac{1}{n_2^2} \sum_{i=1}^{n_2} V(Y_{i12})\right] \\ &= \frac{1}{4}\left[\frac{1}{n_1}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2) + \frac{1}{n_2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)\right] = \frac{1}{4}\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)(\sigma_T^2 + \sigma_S^2) \end{aligned}$$

$$\text{και ομοίως } V(\bar{Y}_R) = \sigma_{\bar{Y}_R}^2 = \frac{1}{4}\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)$$

Επομένως οι μέσοι για την υπό έλεγχο και εγκεκριμένη μορφή θα δίνονται από τους τύπους:

$$\mu_{\text{TEST}} = \exp(\eta_T) = \exp\left(\mu_T + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)\right) \quad \text{και} \quad \mu_{\text{REF}} = \exp(\eta_R) = \exp\left(\mu_R + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)\right)$$

Άρα η υπόθεση που πρέπει να ελεγχθεί είναι η υπόθεση

$$H_0 : \delta_M \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \delta_M \geq \delta_U$$

$$H_a : \delta_L < \delta_M < \delta_U$$

όπου

$$\begin{aligned} \delta_M &= \frac{\mu_{\text{TEST}}}{\mu_{\text{REF}}} = \frac{\exp\left(\mu + F_T + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)\right)}{\exp\left(\mu + F_R + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)\right)} \\ &= \exp\left[\mu + F_T + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2) - \left(\mu + F_R + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)\right)\right] \\ &= \exp\left[\underbrace{\mu_T + \frac{1}{2}(\sigma_T^2 + \sigma_S^2)}_{\eta_T} - \underbrace{\left(\mu_R + \frac{1}{2}(\sigma_R^2 + \sigma_S^2)\right)}_{\eta_R}\right] \end{aligned}$$

Οπότε η H_0 είναι ισοδύναμη με την :

$$H_0 : \exp(\eta_T - \eta_R) \leq \delta_L \quad \text{ή} \quad \exp(\eta_T - \eta_R) \geq \delta_U$$

$$H_a : \delta_L < \exp(\eta_T - \eta_R) < \delta_U$$

και λογαριθμίζοντας την, παίρνουμε :

$$H_0 : \eta_T - \eta_R \leq \theta_L \quad \text{ή} \quad \eta_T - \eta_R \geq \theta_U$$

$$H_a : \theta_L < \eta_T - \eta_R < \theta_U \quad (4.18)$$

όπου $\theta_L = \log(\delta_L)$ και $\theta_U = \log(\delta_U)$,

η οποία μπορεί να αναλυθεί σε δυο σύνολο μονόπλευρων υποθέσεων :

$$H_{a1} : \eta_T - \eta_R \leq \theta_L \quad \text{έναντι} \quad H_{a1} : \eta_T - \eta_R > \theta_L$$

$$H_{a2} : \eta_T - \eta_R \geq \theta_U \quad \text{έναντι} \quad H_{a2} : \eta_T - \eta_R < \theta_U$$

Εφόσον τα δεδομένα μας ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τις γενικευμένες μεταβλητές ελέγχου που παρουσιάσαμε στο κεφάλαιο 2 για την σύγκριση δυο λογαριθμοκανονικών κατανομών. Οπότε με βάση το γεγονός ότι η $\bar{Y}_T \sim N(\mu_T, \sigma_{\bar{Y}_T}^2)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο μ_T του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο $\sigma_{\bar{Y}_T}^2 = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) (\sigma_T^2 + \sigma_S^2)$ και ότι η $\bar{Y}_R \sim N(\mu_R, \sigma_{\bar{Y}_R}^2)$, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο μ_R του ενδιαφέροντός μας και την ενοχλητική παράμετρο $\sigma_{\bar{Y}_R}^2 = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) (\sigma_R^2 + \sigma_S^2)$, τότε μπορούμε να θεωρήσουμε τις γενικευμένες τυχαίες ποσότητες :

- Για $j \neq k$:

$$\begin{aligned} T_1(Y_{ijk}; y_{ijk}, \mu_T, \sigma_{\bar{Y}_T}^2) &= \bar{y}_T - \frac{\bar{Y}_T - \mu_T}{S_{\bar{Y}_T}} s_{\bar{Y}_T} + 2 \frac{\sigma_{\bar{Y}_T}^2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) S_{\bar{Y}_T}^2} s_{\bar{Y}_T}^2 \\ &= \bar{y}_T - \frac{Z_T}{U/\sqrt{n_1 + n_2 - 2}} s_{\bar{Y}_T} + 2 \frac{1}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) U^2 / (n_1 + n_2 - 2)} \frac{s_{\bar{Y}_T}^2}{s_{\bar{Y}_T}^2} \end{aligned}$$

- Για $j = k$:

$$\begin{aligned} T_2(Y_{ijk}; y_{ijk}, \mu_R, \sigma_{\bar{Y}_R}^2) &= \bar{y}_R - \frac{\bar{Y}_R - \mu_R}{S_{\bar{Y}_R}} s_{\bar{Y}_R} + 2 \frac{\sigma_{\bar{Y}_R}^2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) S_{\bar{Y}_R}^2} s_{\bar{Y}_R}^2 \\ &= \bar{y}_R - \frac{Z_R}{V/\sqrt{n_1 + n_2 - 2}} s_{\bar{Y}_R} + 2 \frac{1}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) V^2 / (n_1 + n_2 - 2)} \frac{s_{\bar{Y}_R}^2}{s_{\bar{Y}_R}^2} \end{aligned}$$

όπου $\bar{Y}_T = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i12} + \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i21} \right)$ και $\bar{Y}_R = \frac{1}{2} \left(\frac{1}{n_1} \sum_{i=1}^{n_1} Y_{i11} + \frac{1}{n_2} \sum_{i=1}^{n_2} Y_{i22} \right)$,

$$S_{\bar{Y}_T}^2 = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) S_1^2 \quad \text{και} \quad S_{\bar{Y}_R}^2 = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) S_2^2$$

θεωρώντας ότι οι S_1^2 και S_2^2 είναι οι εκτιμητές των $\sigma_T^2 + \sigma_S^2$ και $\sigma_R^2 + \sigma_S^2$ αντίστοιχα για τους οποίους ισχύει :

$$S_1^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i12} - \bar{Y}_{12})^2 + \sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i21} - \bar{Y}_{21})^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

και

$$S_2^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i11} - \bar{Y}_{11})^2 + \sum_{i=1}^{n_1} (Y_{i22} - \bar{Y}_{22})^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

Οι παρατηρούμενες τιμές των T_1 και T_2 είναι :

$$\begin{aligned} t_{1\text{obs}} &= T_1(Y_{ijk}; y_{ijk}, \mu_T, \sigma_{\bar{Y}_T}^2) = \bar{y}_T - \frac{\bar{y}_T - \mu_T}{s_{\bar{Y}_T}} s_{\bar{Y}_T} + 2 \frac{\sigma_{\bar{Y}_T}^2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) s_{\bar{Y}_T}^2} s_{\bar{Y}_T}^2 \\ &= \bar{y}_T - (\bar{y}_T - \mu_T) + \frac{2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)} \sigma_{\bar{Y}_T}^2 \\ &= \mu_T + \frac{2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)} \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) (\sigma_T^2 + \sigma_S^2) \\ &= \mu_T + \frac{1}{2} (\sigma_T^2 + \sigma_S^2) = \eta_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{2\text{obs}} &= T_2(Y_{ijk}; y_{ijk}, \mu_R, \sigma_{\bar{Y}_R}^2) = \bar{y}_R - \frac{\bar{y}_R - \mu_R}{s_{\bar{Y}_R}} s_{\bar{Y}_R} + 2 \frac{\sigma_{\bar{Y}_R}^2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) s_{\bar{Y}_R}^2} s_{\bar{Y}_R}^2 \\ &= \bar{y}_R - (\bar{y}_R - \mu_R) + \frac{2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)} \sigma_{\bar{Y}_R}^2 \\ &= \mu_R + \frac{2}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)} \frac{1}{4} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) (\sigma_R^2 + \sigma_S^2) \\ &= \mu_R + \frac{1}{2} (\sigma_R^2 + \sigma_S^2) = \eta_2 \end{aligned}$$

και $s_{\bar{Y}_T}$, $s_{\bar{Y}_R}$ είναι οι παρατηρούμενες τιμές των $S_{\bar{Y}_T}$ και $S_{\bar{Y}_R}$ αντίστοιχα και $Z_T = (\bar{Y}_T - \mu_T)/\sigma_{\bar{Y}_T} \sim N(0, 1)$, $Z_R = (\bar{Y}_R - \mu_R)/\sigma_{\bar{Y}_R} \sim N(0, 1)$, $U^2 = (n_1 + n_2 - 2) S_{\bar{Y}_T}^2 / \sigma_{\bar{Y}_T}^2 \sim \chi_{n_1+n_2-2}^2$ και $V^2 = (n_1 + n_2 - 2) S_{\bar{Y}_R}^2 / \sigma_{\bar{Y}_R}^2 \sim \chi_{n_1+n_2-2}^2$ και οι οποίες είναι επίσης ανεξάρτητες. Οπότε για τον έλεγχο των μηδενικών υποθέσεων H_{01} και H_{02} ορίζουμε τις γενικευμένες τυχαίες ποσότητες:

$$T_L = T_1 - T_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L \quad \text{και} \quad T_U = T_1 - T_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U$$

οι οποίες έχουν παρατηρούμενες τιμές ανεξάρτητες από τις ενοχλητικές παραμέτρους:

$$T_{Lobs} = T_{1obs} - T_{2obs} - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L = \eta_1 - \eta_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_L = \theta_L$$

$$\text{και} \quad T_{Uobs} = T_{1obs} - T_{2obs} - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U = \eta_1 - \eta_2 - (\eta_1 - \eta_2) + \theta_U = \theta_U$$

Παρατηρούμε επίσης ότι μειώνονται στοχαστικά με το $\eta_1 - \eta_2$. Άρα το γενικευμένο p-value για τον έλεγχο της υπόθεσης H_{01} δίνεται από τον τύπο:

$$p(x) = Pr(T_L \leq \theta_L \mid \eta_1 - \eta_2 = \theta_L)$$

Ενώ για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης H_{02} έχουμε το γενικευμένο p-value :

$$p(x) = Pr(T_U \geq \theta_U \mid \eta_1 - \eta_2 = \theta_U).$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο :

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Βασικός στόχος της εργασίας αυτής είναι να αποτελέσει ένα σημαντικό βοήθημα για κάποιον που θέλει να ασχοληθεί με μελέτες βιοϊσοδυναμίας. Για το λόγο αυτό προσπαθήσαμε να παρουσιάσουμε μια ολοκληρωμένη μελέτη του θέματος. Ξεκινώντας την παρουσίαση αυτή δώσαμε τους βασικούς ορισμούς και τους τρόπους προσδιορισμού των μελετών βιοϊσοδυναμίας. Στη συνέχεια βασισμένοι στους κανονισμούς των διεθνών οργανισμών έγκρισης, όπως του FDA και του EMEA καθώς και στην διεθνή βιβλιογραφία, παρουσιάσαμε τους δυο βασικούς σχεδιασμούς των μελετών βιοϊσοδυναμίας: τον παράλληλο (*parallel*) και τον διασταυρούμενο (*crossover*) σχεδιασμό καθώς και τους προτεινόμενους τρόπους αποτίμησης της μέσης βιοϊσοδυναμίας σε καθέναν από αυτούς.

Στον παράλληλο σχεδιασμό, θεωρώντας δυο ομάδες ασθενών που λαμβάνουν διαφορετικές μορφές ενός φαρμάκου, συγκρίναμε τις αποκρίσεις των ασθενών μεταξύ των δυο ομάδων χρησιμοποιώντας δυο μονόπλευρα t τεστ και εφαρμόσαμε την διαδικασία αυτή στις περιπτώσεις που οι αποκρίσεις των ασθενών ακολουθούν είτε κανονική είτε λογαριθμοκανονική κατανομή. Κατά την πορεία της έρευνας μας διαπιστώσαμε ότι όλες οι προτεινόμενες μεθοδολογίες για την αποτίμηση της μέσης βιοϊσοδυναμίας βασίζονται σε μια σημαντική υπόθεση. Πρόκειται για την ύπαρξη ίσων διακυμάνσεων μεταξύ των αποκρίσεων των δυο ομάδων. Παρόλα αυτά στοιχεία

μελετών βιοϊσοδυναμίας μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ένας τέτοιος ισχυρισμός δεν είναι πάντα αληθής. Προσπαθώντας να ξεπεράσουμε το πρόβλημα που δημιουργείται, όταν οι διακυμάνσεις των αποκρίσεων των δυο φαρμάκων δεν είναι ίσες, καταφύγαμε στην εφαρμογή της ιδέας των γενικευμένων p -values που παρουσιάστηκαν από τους Tsui και Weerahandi το 1989.

Τα γενικευμένα p -values αποτελούν μια μέθοδο ελέγχου μονόπλευρων υποθέσεων για παραμέτρους του ενδιαφέροντος μας, όταν παρουσιάζονται ενοχλητικές παράμετροι. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην επιλογή μιας κατάλληλης στατιστικής ποσότητας, η οποία περιέχει όχι μόνο τις τυχαίες μεταβλητές του ενδιαφέροντος μας αλλά και τις παρατηρήσεις αυτών καθώς και τις παραμέτρους του προβλήματος. Η στατιστική αυτή ποσότητα ονομάζεται γενικευμένη ποσότητα ελέγχου και απαιτούμε να έχει συγκεκριμένες ιδιότητες, όπως το ότι η παρατηρούμενη τιμή της και η κατανομή της να είναι ανεξάρτητη από τις ενοχλητικές παραμέτρους. Βασιζόμενοι σε αυτή τη γενικευμένη ποσότητα ελέγχου μπορούμε να παράγουμε ένα p -value για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης, το οποίο να είναι ανεξάρτητο από την ενοχλητική παράμετρο και κατά συνέπεια να είναι υπολογίσιμο.

Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι επιλέγοντας την στατιστική συνάρτηση ενός ελέγχου με τέτοιο τρόπο ώστε να πληρεί τις ιδιότητες που προαναφέραμε, μπορούμε να πραγματοποιήσουμε ελέγχους υποθέσεων που η κλασική θεωρία ελέγχων υποθέσεων δεν μπορεί να πραγματοποιήσει. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να σημειώσουμε ότι η επιλογή της γενικευμένης αυτής ποσότητας ελέγχου γίνεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να πληρεί τις προϋποθέσεις που έχουμε θέσει και όχι με μοναδικό σκοπό να ακολουθεί μια γνωστή κατανομή, όπως απαιτεί η κλασική θεωρία ελέγχων υποθέσεων. Τέλος, διαπιστώσαμε ότι η χρησιμότητα των γενικευμένων p -values είναι πολύ μεγάλη εφόσον, όπως παρουσιάσαμε στην εργασία αυτή, με την εφαρμογή τους μπορούμε να λύσουμε γνωστά προβλήματα της στατιστικής, όπως το πρόβλημα του Behrens – Fisher και το πρόβλημα του Fieller.

Στην περίπτωση του διασταυρούμενου σχεδιασμού, θεωρούμε δυο ομάδες ασθενών που λαμβάνουν και τις δυο μορφές ενός φαρμάκου σε διαφορετικές όμως χρονικές περιόδους. Κατά τον σχεδιασμό αυτό διαπιστώσαμε ότι εκτός από την επίδραση του φαρμάκου, τις αποκρίσεις των ασθενών επηρεάζουν η περίοδος λήψης του φαρμάκου, η επίδραση του άτομου και η μεταφερόμενη επίδραση από την προηγούμενη περίοδο. Οπότε, σε αντίθεση με τον παράλληλο σχεδιασμό στον διασταυρούμενο θα πρέπει να βγάλουμε στατιστικά συμπεράσματα για κάθε μια από τις επιδράσεις αυτές. Επειδή όμως στις μελέτες βιοϊσοδυναμίας κύριος στόχος μας είναι να

συγκρίνουμε τα δυο φάρμακα ή τις δυο θεραπείες, οι περισσότεροι ερευνητές στις μεθόδους που παρουσιάζουν, συγκρίνουν μόνο τις κύριες επιδράσεις των φαρμάκων. Η σύγκριση αυτή, στην περίπτωση που τα δεδομένα μας ακολουθούν κανονική κατανομή, είναι ισοδύναμη με την σύγκριση των μέσων τιμών των αποκρίσεων των δυο φαρμάκων. Στην περίπτωση όμως που οι αποκρίσεις των ασθενών ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή, η σύγκριση των κύριων επιδράσεων των φαρμάκων δεν είναι ισοδύναμη με την σύγκριση των μέσων τιμών των αποκρίσεων των φαρμάκων.

Όταν τα φαρμακοκινητικά δεδομένα ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή, παρατηρούμε ότι οι μέσες τιμές των αρχικών παρατηρήσεων περιέχουν τις κύριες επιδράσεις των φαρμάκων για τα λογαριθμο-μετασχηματισμένα δεδομένα καθώς και τις διακυμάνσεις αυτών. Επομένως, υπάρχει περίπτωση δυο φάρμακα να προκαλούν ίσες επιδράσεις στους ασθενείς αλλά ταυτόχρονα να προκαλούν διαφορετική μεταβλητότητα στις αποκρίσεις αυτών. Πράγμα που κάνει τα δυο φάρμακα να μην είναι ισοδύναμα και να μην μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά το ένα στην θέση του άλλου. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι ακόμα και στην περίπτωση του διασταυρούμενου σχεδιασμού θα ήταν καλύτερο να συγκρίνουμε τις μέσες τιμές των αποκρίσεων των φαρμάκων έτσι ώστε να προκύπτουν πραγματικά ισοδύναμα φάρμακα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά. Οπότε για την σύγκριση των μέσων τιμών των αποκρίσεων των δυο φαρμάκων, λόγω της εμφάνισης ενοχλητικών παραμέτρων, δηλαδή των διακυμάνσεων των λογαριθμησμένων αποκρίσεων προτείνουμε την χρησιμοποίηση των γενικευμένων p -values.

Επομένως καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι με την χρήση των γενικευμένων p -values μπορούμε να ξεπεράσουμε πολλές δυσκολίες που εμφανίζονται σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας και να δώσουμε γενικές μεθοδολογίες αποτίμησης των μελετών αυτών. Όμως η εφαρμογή των γενικευμένων p -values σε μελέτες βιοϊσοδυναμίας παρουσιάζει και ορισμένες δυσκολίες, οι οποίες βασίζονται κυρίως στην δυσκολία υπολογισμού αυτού του γενικευμένου p -value λόγω της πολυπλοκότητας που παρουσιάζει η κατανομή της αντίστοιχης γενικευμένης ποσότητας ελέγχου. Για να ξεπεράσουμε τις δυσκολίες αυτές μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε μεθόδους προσομοίωσης με τις οποίες μπορούμε να υπολογίσουμε τον Monte Carlo εκτιμητή του γενικευμένου p -value για κάθε περίπτωση. Η υλοποίηση τέτοιων προγραμμάτων για μελέτες βιοϊσοδυναμίας βρίσκεται υπό μελέτη και φιλοδοξούμε να αποτελέσει θέμα μελλοντικής εργασίας. Τέλος, σημαντικό θέμα για μελέτη αποτελεί η εφαρμογή των γενικευμένων p -values σε μελέτες πληθυσμιακής (*population*) και ατομικής (*individual*) βιοϊσοδυναμίας, η οποία ελπίζουμε να αποτελέσει επίσης θέμα μελλοντικής μας έρευνας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

- Ελληνικός Οργανισμός Φαρμάκων (ΕΟΦ) (1996). *Οδηγίες για μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας*, Αρ. Πρωτ.: 19978/20-05-98.
- Παπαϊωάννου, Τ. (2002). Στατιστικά ζητήματα στην ανάπτυξη φαρμάκων: Βιοϊσοδυναμίες. *Πρακτικά 15^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Στατιστικής*, Ιωάννινα 8 – 11 Μαΐου 2002, Ελληνικό Στατιστικό Ινστιτούτο.
- Παπαϊωάννου, Τ. (2003). Φαρμακευτική Στατιστική – Βιοϊσοδυναμίες, *Σημειώσεις: ΠΜΣ Εφαρμοσμένη Στατιστική*, Πανεπιστήμιο Πειραιώς Τμήμα Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης

Ξένα

- Berger, R. L. and Hsu, J. C. (1996). Bioequivalence trials, intersection – union tests and equivalence confidence sets. *Statistical Science*. **11** 283 -319.
- Bickel, P. J. and Doksum, A. D. (1977). *Mathematical Statistics*. Holden – Day, San Francisco, CA.
- Bradu, D. and Mundlak, Y. (1970). Estimation in lognormal linear model. *J. Am. Statist. Assoc.* **65**, 198 – 211.
- Casella, G. and Berger, R. L. (1990) *Statistical Inference*. Duxbury, Belmont, CA.
- Chow, S. – C. and Liu, J. – P. (1992). *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. Dekker, New York.
- Chow, S.– C. and Liu, J. – P.(1995). Current issues in bioequivalence trials. *Drug Inform. J.* **29**, 795 – 804.
- Chow, S.– C. and Liu, J. – P.(1995). *Statistical Design and Analysis in Pharmaceutical Science*. Marcel Dekker, New York.
- Crow, E. L. and Shimizu, K. (1988). *Lognormal Distribution*. Marcel Dekker, New York.
- Fieller, E. C. (1954). Some problems in interval estimation. *J. Roy. Statist. Soc. Ser. B* **16**, 175 – 185.
- Hauck, W. W. and Anderson, S. (1992). Types of bioequivalence and related statistical considerations. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **30**, 182 – 187.
- Koschat, M. A. (1987). A characterization of the Fieller solution. *Ann. Statist.* **15**(1), 462 – 468.

- Krishnamoorthy, K. and Mathew, T. (2003). Inferences on the means of lognormal distributions using generalized p – values and generalized confidence intervals. *J. Statist. Plan. and Infer.*, **115**, 103 – 121.
- Land, C.E.(1971), Confidence intervals for the linear function of the normal mean and variance. *Ann. Math. Statist.* **42**, 1187 – 1205.
- Land, C. E. (1972). An evaluation of approximate confidence interval estimation methods for lognormal means. *Technometrics*, **14**, 145 – 158.
- Land, C. E. (1973). Standard confidence limits for linear functions of the normal mean and variance. *J. Am. Statist. Assoc.* **68**, 960 – 963.
- Land, C. E. (1975). Tables of confidence limits for linear functions of the normal mean and variance. Harter, H.L., Owen, D. B (Eds), *Selected Tables in Math. Statist.* Vol **III**, pp. 385 – 419.
- Land, C. E. (1988). Hypotheses tests and interval estimates. Crow, E. L., Shimizu, K. (Eds) *Lognormal Distribution*. Marcel Dekker, New York, pp. 87 – 112.
- Lee, J. C. and Lin S. – H. (2004) Generalized confidence intervals for the ratio of means of two normal populations. *Journal of Statist. Plan. and Infer.* **123**, 49 – 60.
- Lehmann, E. L. (1986). *Testing Statistical Hypothesis 2nd ed.* Wiley, New York.
- Liu, J. – P. (1991). Bioequivalence and intrasubject variability. *J. Biopharm. Stat.* **1**, 205 – 219.
- Liu, J. – P. and Wend, C. –S. (1995). Bias of two one – sided test procedures in assessment of bioequivalence. *Statistics in Medicine.* **14**, 853 – 861.
- Metzler, C. M. and Huang, D. C. (1983). Statistical methods for bioavailability and bioequivalence. *Clin. Res. Pract. Drug Reg. Affairs*, **1**, 109 – 132.
- Sasabuchi, S. (1980). A test of a multivariate normal mean with composite hypotheses determined by linear inequalities. *Biometry*, **67**, 429 – 439.
- Sasabuchi, S. (1988a). A multivariate one – sided test with composite hypotheses when the covariance matrix is completely unknown. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. A* **42**, 37 – 46.
- Sasabuchi, S. (1988b). A multivariate test with composite hypotheses determined by linear inequalities when the covariance matrix has an unknown scale factor. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. A* **42**, 9 – 19.
- Schuirmann, D. L. (1981). On hypothesis testing to determine if the mean of a normal distribution is contained in a known interval. *Biometrics*, **37**, 617 [abstract]
- Schuirmann, D. J. (1987). A comparison of the two one – sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **15** 657 – 680.
- Senn S. (2003). *Cross-over Trials In Clinical Research* (second edition) John Wiley.
- Shimizu, K. (1998). Point estimation. In: *Lognormal Distribution*. Crow and Shimizu, (Eds) Marcel Dekker, New York. pp 27 – 86.
- The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) (1998) *Statistical Principles for Clinical Trial*. 18 March 1998, CPMP/ICH/363/96.
- The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) (2000) *Note for Guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*. 14 Dec. 2000, CPMP/EWP/QWP/1401/98.

- Tsui, K. and Weerahandi, S. (1989). Generalized p – Values in Significance Testing of Hypotheses in the Presence of Nuisance Parameters. *J. Am. Statist. Assoc.*, **84**, 602 – 607.
- US Food and Drug Administration (FDA) (1992). Guidance on Statistical Procedures for Bioequivalence Using a Standard Two – Treatment Crossover Design, Division of Bioequivalence, Office of Generics Drugs, Centre for Drug Evaluation and Research, U. S. Food and Drug Administration, Rockville, MD.
- US Food and Drug Administration (FDA) (1988a). Statistical Methods for Obtaining Confidence Interval for Individual and Population Bioequivalence Criteria. Published on Internet : www.fda.gov/cder/bioequivdata/statproc.htm
- US Food and Drug Administration (FDA) (1988b). Data Sets of Bioequivalence for Individual and Population Bioequivalence. Published on Internet: www.fda.gov/cder/bioequivdata/index.htm
- Westlake, W. J. (1973). The design and analysis of comparative blood – level trials. *Current Concepts in the Pharmaceutical Sciences, Dosage Form Design and Bioavailability* (J. Swarbrick, ed) 149 – 179. Lea and Febiger Philadelphia.
- Westlake, W. J. (1979). Statistical aspects of comparative bioavailability trials. *Biometrics*, **35**, 273 – 280.
- Westlake, W. J. (1988). Bioavailability and bioequivalence of pharmaceutical formulations. *Biopharmaceutical Statistics for Drug Development* (Karl E. Peace, ed) 329 – 352. Dekker, New York.
- Weerahandi, S. (1993) Generalized Confidence Intervals. *J. Am. Statist. Assoc.*, **88**, 899 – 905, correction in **89**, 726, 1994.
- Weerahandi, S. (1995) *Exact Statistical Methods for Data Analysis*. Springer, New York.
- Zhou, X. H., Gao, S., Hui, S. L. (1997). Methods for comparing the means of two independent lognormal samples. *Biometrics*, **53**, 1129 – 1135.