



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Φαρμακευτικής

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

**Βιοϊσοδυναμία - Θεραπευτική ισοδυναμία φαρμάκων:
Μοντελοποίηση και προσομοιώσεις**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ιωάννης Γουρνάρης

Αθήνα, 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καραλής Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής (επιβλέπων)

Μαρκαντώνη - Κυρούδη Σοφία, Καθηγήτρια

Βαλσαμή Γεωργία, Καθηγήτρια

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ευάγγελο Καραλή για την πολύτιμη καθοδήγηση, τις συμβουλές, τις γνώσεις που μου μετέδωσε και το πολύ καλό κλίμα συνεργασίας που διαμόρφωσε κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας.

Επιπροσθέτως ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στην καθηγήτρια κ. Σοφία Μαρκαντώνη - Κυρούδη για τις γνώσεις και την πολύτιμη καθοδήγηση στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος της «Κλινικής Φαρμακευτικής», όπως επίσης και στην καθηγήτρια κ. Γεωργία Βαλσαμή για τις γνώσεις που μου μετέδωσε κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους γονείς μου Ευάγγελο και Μαρία για όσα μου έχουν προσφέρει έως τώρα, καθώς και τη σύζυγό μου Αγγελική για την αμέριστη ηθική συμπαράστασή της.

Αθήνα, Απρίλιος 2020

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η αξία των υπηρεσιών υγείας και του φαρμάκου είναι αδιαμφισβήτητη, όπως και η προσφορά τους στην παράταση του προσδόκιμου επιβίωσης και στην βελτίωση του βιοτικού επιπέδου. Καθώς κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη νέων φαρμάκων, η κυκλοφορία γενόσημων και η τροποποίηση κυκλοφορούντων φαρμάκων, οι εθνικοί και διεθνείς κανονιστικοί υγειονομικοί οργανισμοί συντάσσουν και ανανεώνουν συνεχώς κατευθυντήριες οδηγίες για τις μελέτες που απαιτούνται και συνοδεύουν τις διαδικασίες αυτές.

Οι μελέτες πρέπει να παρέχουν αξιόπιστα αποτελέσματα, να εξασφαλίζουν τη μικρότερη δυνατή έκθεση εθελοντών στο φάρμακο, ενώ παράλληλα σημαντική είναι η συγκράτηση του κόστους. Η παρούσα εργασία ευελπιστεί να διαφωτίσει σχετικά με τον τρόπο που οφείλουν να ορίζονται διάφορες παράμετροι των μελετών για την επίτευξη αυτών των στόχων, καθώς επίσης να συμβάλει στη διατύπωση κατευθυντήριων οδηγιών περαιτέρω προσαρμοσμένων στις ιδιότητες του εκάστοτε φαρμάκου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<u>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</u>	ii
<u>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</u>	iii
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	iv
<u>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</u>	vi
<u>ABSTRACT</u>	viii
<u>ΠΙΝΑΚΕΣ</u>	x
<u>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ</u>	xi
<u>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΩΝ</u>	xv
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. Βιοδιαθεσιμότητα, Βιοϊσοδυναμία και Βασικοί Ορισμοί	1
2. Φαρμακοκινητική	5
α. Έκταση και ρυθμός απορρόφησης - Επιλογή των φαρμακοκινητικών παραμέτρων	6
β. Παράμετροι για την έκταση απορρόφησης	8
γ. Παράμετροι για το ρυθμό απορρόφησης	10
3. Στατιστική Ανάλυση	14
α. Μέση Βιοϊσοδυναμία	16
β. Υπολογισμός Διαστήματος Εμπιστοσύνης	17
γ. Εύρος Βιοϊσοδυναμίας – Ειδικές Περιπτώσεις	19
δ. Πληθυσμιακή Βιοϊσοδυναμία	21
ε. Εξατομικευμένη Βιοϊσοδυναμία	22
4. Σχεδίαση των Μελετών Βιοϊσοδυναμίας	22
α. Κλινικοί σχεδιασμοί	22
i. Κλινικοί σχεδιασμοί χωρίς επαναχορήγηση (non-replicated)	23
ii. Επαναλαμβανόμενοι κλινικοί σχεδιασμοί (replicated)	24
iii. Σχεδιασμοί δύο σταδίων (two-stage designs)	26
β. Εθελοντές	26
γ. Αριθμός των δόσεων	27
δ. Σχήμα δειγματοληψίας	28
5. Σκοπός της μελέτης	30
B. ΜΕΘΟΔΟΙ	32
1. Σχεδιασμός της Μελέτης Βιοϊσοδυναμίας	33
2. Μεθοδολογία της Έρευνας	35

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	41
1. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας	42
α. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε αρχικούς χρόνους.....	42
β. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε μεσαίους χρόνους	43
γ. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε τελικούς χρόνους.....	45
2. Διάρκεια σχήματος δειγματοληψίας	46
3. Πυκνότητα και διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας	48
α. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό σε αρχικούς χρόνους σχήμα δειγματοληψίας.....	49
β. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό στους εναπομείναντες χρόνους σχήμα δειγματοληψίας.....	50
4. Συγκεντρική παρουσίαση των επεμβάσεων που αφορούν το σχήμα δειγματοληψίας.....	52
5. Κλινικός σχεδιασμός της μελέτης	54
6. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας και κλινικός σχεδιασμός	56
α. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε αρχικούς χρόνους.....	56
β. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε μεσαίους χρόνους	57
γ. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε τελικούς χρόνους.....	58
7. Διάρκεια σχήματος δειγματοληψίας και κλινικός σχεδιασμός	60
8. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας, διάρκεια και κλινικός σχεδιασμός.....	61
α. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό σε αρχικούς χρόνους σχήμα δειγματοληψίας.....	62
β. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό στους εναπομείναντες χρόνους σχήμα δειγματοληψίας.....	64
9. Συγκεντρική παρουσίαση όλων των επεμβάσεων	65
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	68
Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	72
ΣΤ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	76

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι ιδιαίτερα χρήσιμες κατά την ανάπτυξη ενός νέου φαρμακευτικού σκευάσματος που περιέχει μια νέα δραστική ουσία, για αλλαγές μετά την άδεια κυκλοφορίας ή για την έγκριση κυκλοφορίας ενός γενόσημου φαρμακευτικού σκευάσματος. Μπορούν να χαρακτηριστούν και ως μελέτες συγκριτικής βιοδιαθεσιμότητας δύο σκευασμάτων της ίδιας δραστικής και διενεργούνται με τη μαθηματική επεξεργασία κατάλληλων φαρμακοκινητικών παραμέτρων. Οι τελευταίες υπολογίζονται από τα πειραματικά δεδομένα, τα οποία είναι οι συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας στο πλάσμα σε διάφορους χρόνους.

Απαιτούνται παράμετροι που να περιγράφουν την έκταση και το ρυθμό απορρόφησης, καθώς οι δύο αυτοί παράγοντες επηρεάζουν καθοριστικά τη φαρμακοκινητική και τελικά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Για την περιγραφή του ρυθμού απορρόφησης χρησιμοποιείται συνήθεστερα η C_{max} , ενώ η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη, ως AUC_t και AUC_{inf} , για τη έκταση της απορρόφησης.

Το κριτήριο βιοϊσοδυναμίας εξετάζει αν το 90% διάστημα εμπιστοσύνης της διαφοράς των μέσων τιμών των λογαριθμοποιημένων παραμέτρων, εμπεριέχεται στα προκαθορισμένα όρια, 80.00% έως 125.00%. Ευρύτερα, στενότερα ή κλιμακούμενα όρια βιοϊσοδυναμίας συνιστώνται στην περίπτωση φαρμάκων υψηλής μεταβλητότητας ή στενού θεραπευτικού εύρους. Επειδή η μέση βιοϊσοδυναμία δεν μπορεί να εκτιμήσει τη μεταβλητότητα των παραμέτρων, εισήχθηκαν οι έννοιες της πληθυσμιακής και της εξατομικευμένης βιοϊσοδυναμίας, οι οποίες εισάγουν συγκρίσεις και για τις διασπορές των παραμέτρων.

Για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα από τη μελέτη βιοϊσοδυναμίας είναι απαραίτητο να σχεδιαστεί ορθά, ανάλογα με τις ιδιότητες της δραστικής ουσίας. Θα πρέπει να επιλεγεί ο κατάλληλος κλινικός σχεδιασμός (π.χ. διασταυρωτός, παράλληλος, αντίγραφος, δύο σταδίων), οι εθελοντές (σε αριθμό, χαρακτηριστικά και κατάσταση της υγείας τους), ο αριθμός των δόσεων (απλή χορήγηση ή πολλαπλές δόσεις) καθώς και το σχήμα δοσοληψίας (ώστε να επιτρέπει την αξιόπιστη εκτίμηση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων).

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση των δυνατοτήτων ευελιξίας όσον αφορά την επιλογή του κλινικού σχεδιασμού καθώς και του δειγματοληπτικού σχήματος της μελέτης βιοϊσοδυναμίας. Συγκεκριμένα εξετάζεται η επίδραση στο αποτέλεσμα της μελέτης λιγότερο πυκνών και πιο σύντομων σχημάτων δειγματοληψίας ξεχωριστά και ο συνδυασμός αυτών των δύο επεμβάσεων. Όσον αφορά την πυκνότητα του σχήματος, θα δοθεί έμφαση στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της δειγματοληψίας. Στη συνέχεια ερευνάται η επίδραση της

αλλαγής του κλινικού σχεδιασμού της μελέτης από τον τυπικό διασταυρωτό σε παράλληλο και επιπλέον η επίδραση της αλλαγής αυτής σε συνδυασμό με παράλληλες τροποποιήσεις του σχήματος δειγματοληψίας, όπως προαναφέρθηκε.

Χρησιμοποιούνται τα πειραματικά δεδομένα συγκέντρωσης - χρόνου μίας μελέτης βιοϊσοδυναμίας της δονεπεζίλης, που έχει διενεργηθεί με διασταυρωτό σχεδιασμό. Οι χρόνοι δειγματοληψίας είναι 0.0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 96, 144 και 192 ώρες μετά τη χορήγηση. Τα δεδομένα επεξεργάζονται κατάλληλα (αφαίρεση συγκεκριμένων ζευγών δεδομένων) και εισάγονται στο πρόγραμμα WinNonlin. Ακολουθώς υπολογίζονται οι βασικές φαρμακοκινητικές παράμετροι: C_{max} , AUC_t και AUC_{inf} , οι λογάριθμοι αυτών για τα σκευάσματα R και T, οι μέσες τιμές τους, η διαφορά τους, οι γεωμετρικοί μέσοι, ο λόγος τους, τα όρια του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης, η υπολειπόμενη διασπορά και η ισχύς. Τελικά, αξιολογείται η επίδραση των επεμβάσεων εξετάζοντας τις μεταβολές της υπολειπόμενης διασποράς και της στατιστικής ισχύος.

Συμπεραίνεται ότι ο διασταυρωτός σχεδιασμός πλεονεκτεί έναντι του παράλληλου σχεδιασμού, καθώς η ανάλυση των αποτελεσμάτων δείχνει ότι σε όλες τις περιπτώσεις των επεμβάσεων ο πρώτος παρουσιάζει σημαντικά μειωμένη υπολειπόμενη διασπορά και αυξημένη ισχύ για τις τρεις κύριες φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Η παράμετρος C_{max} δεν επηρεάζεται από τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας, αλλά από την πυκνότητά του και σημαντικότερα επηρεάζεται όταν μειώνεται το πλήθος των αρχικών χρόνων δειγματοληψίας, καθώς σε αυτούς τους χρόνους παρατηρείται ο T_{max} . Όσον αφορά τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} , αυτές επηρεάζονται από την πυκνότητα και τη διάρκεια του σχήματος, περισσότερο όμως από την τελευταία. Από τις δύο παραμέτρους, το AUC_{inf} εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία στις επεμβάσεις.

Συνεπώς είναι δυνατή η εφαρμογή σχημάτων με αρκετά λιγότερους χρόνους δειγματοληψίας από αυτούς της μελέτης βιοϊσοδυναμίας που χρησιμοποιήθηκε, καθώς οι πρώτες σημαντικές επιδράσεις παρατηρούνται σε ποσοστό εναπομεινάντων χρόνων 64% για τα AUC_t και AUC_{inf} , και σε μικρότερο του 50% για τη C_{max} .

ABSTRACT

Bioequivalence studies are particularly useful in developing a new drug product containing a new active substance, for post-approval changes or for the approval of a generic drug product. They can also be characterized as studies of comparative bioavailability of two formulations of the same active substance and are carried out with the mathematical treatment of appropriate pharmacokinetic parameters. The latter are calculated from experimental data, namely the concentrations of the active substance in plasma at different times.

Parameters that describe the extent and rate of absorption are required, as these two factors significantly determine the pharmacokinetics and ultimately the drug's safety and efficacy. C_{\max} is most commonly used to describe the rate of absorption, while the area under the curve, as AUC_t and AUC_{inf} , is used to describe the extent of absorption.

The bioequivalence criterion examines whether the 90% confidence interval for the difference between mean measures of the log-transformed parameters is included in the preset limits, 80.00% to 125.00%. Wider, narrower or scaled bioequivalence limits are recommended for high variability or narrow therapeutic index drugs. Due to the fact that average bioavailability cannot assess the variability of parameters, population and individual bioavailability have been introduced, which also bring forth comparisons for parameters' variances.

In order to draw safe conclusions from a bioequivalence study, it is necessary that the study is designed correctly, according to the properties of the active substance. Appropriate clinical design (e.g. crossover, parallel, replicate, two-stage), volunteers (in number, characteristics and health status), the number of doses (simple administration or multiple doses) as well as a sampling scheme must be selected so that reliable assessment of pharmacokinetic parameters are allowed.

The aim of this study is to investigate the potential for flexibility when it comes to the selection of clinical design as well as the sampling schedule of the bioequivalence study. What is examined in particular is the effect on the result of the study of less dense and shorter sampling schemes both separately, as well as the combination of these two interventions. Regarding sampling density, emphasis will be placed on the beginning, the middle and the end of the sampling process. Thereupon, the object of investigation is the effect of change in the study's clinical design from standard crossover to parallel and the effect of this change in combination with parallel modifications of the sampling scheme, as mentioned above.

Experimental concentration-time data from a cross-over bioequivalence study of donepezil are used. Sampling times are 0.0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 96, 144 and 192 hours after the

products are administrated. Data are handled appropriately (removal of certain pairs of data) and entered into the WinNonlin program. Then the basic pharmacokinetic parameters: C_{max} , AUC_t and AUC_{inf} are calculated along with their logarithms for R and T formulations, their mean values, their difference, their geometric means, their ratio, the limits of 90% confidence interval, the residual variance and power. Finally, the effect of interventions is evaluated by examining changes in residual variance and power.

It is concluded that crossover design has an advantage over parallel design, as the analysis of the results demonstrates that in all cases of interventions, the former presents a significantly reduced residual variance and an increased power for all three main pharmacokinetic parameters. The C_{max} parameter is not affected by the sampling scheme duration, but by its density and it is more significantly affected when the number of the initial sampling times is reduced, as in these times T_{max} is observed. As for AUC_t and AUC_{inf} parameters, they are affected by the scheme's density and duration, but they are more affected by the latter. Between these two parameters, AUC_{inf} is more sensitive to interventions.

Consequently, it is possible to implement schemes with much fewer sampling times than those of the bioequivalence study used, as the initial significant effects are observed when the remaining sampling times are 64% for AUC_t , and AUC_{inf} and less than 50% for C_{max} .

ΠΙΝΑΚΕΣ

<u>A/A</u>	<u>Τίτλος</u>	<u>Σελ.</u>
1	Συγκεντρωτικά οι παρεμβάσεις που θα διενεργηθούν για τη διερεύνηση των επιδράσεών τους στα αποτελέσματα της μελέτης βιοϊσοδυναμίας.	36

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<u>A/A</u>	<u>Τίτλος</u>	<u>Σελ.</u>
1	Οι επιμέρους διαδικασίες της απορρόφησης, της κατανομής, του μεταβολισμού και της απέκκρισης, που μελετά η φαρμακοκινητική.	2
2	Παράσταση των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο διάγραμμα συγκέντρωσης – χρόνου (C – t).	7
3	Παράσταση του AUC _t στο διάγραμμα συγκέντρωσης - χρόνου (C - t).	9
4	Διασταυρωτός σχεδιασμός δύο σκευασμάτων (υπό έλεγχο – T και αναφοράς – R), δύο σειρών χορήγησης και δύο περιόδων χορήγησης (2 x 2).	23
5	Αντίγραφοι σχεδιασμοί που εμπεριέχουν αντίστοιχα: α) δύο σειρές και τρεις περιόδους χορήγησης και β) δύο σειρές και τέσσερις περιόδους χορήγησης. Μεταξύ των διαδοχικών περιόδων μεσολαβεί πάντα μία περίοδος έκπλυσης.	25
6	Παράδειγμα σχήματος δειγματοληψίας το οποίο δίνει αναξιόπιστη εκτίμηση των παραμέτρων C _{max} και T _{max} . Η καμπύλη του γραφήματος και οι ενδείξεις C _{max} και T _{max} , αντιστοιχούν στην πραγματικότητα. Οι μαύροι κύκλοι δείχνουν τα σημεία που αντιστοιχούν τα δείγματα 2,3,4 κ.λπ., ενώ οι κόκκινοι κύκλοι δείχνουν δύο πιθανά σημεία που έχουν επιλεγεί σε λάθος χρόνο για την πρώτη δειγματοληψία.	29
7	Γράφημα συγκέντρωσης - χρόνου του εθελοντή 4 για την πρώτη περίοδο χορήγησης. Παρατηρείται η ανεξήγητα μεγάλη μέτρηση στις 24 ώρες που οφείλεται σε σφάλμα.	34
8	Ένα τυπικό γράφημα συγκέντρωσης - χρόνου στο οποίο επισημαίνονται με τις μαύρες ελλείψεις οι αρχικοί, οι μεσαίοι και οι τελικοί χρόνοι ενός δειγματοληπτικού σχήματος που θα αφαιρούνται και σε ποια σημεία της καμπύλης αντιστοιχούν.	37
9	Κατανομή του αριθμού των παρατηρήσεων του T _{max} για τις 58 διαφορετικές ομάδες δεδομένων.	38
10	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC _t (A,B) και AUC _{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.	42
11	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για τη φαρμακοκινητική παράμετρο C _{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.	43
12	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC _t , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	44
13	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις παραμέτρους AUC _{inf} (A,B) και C _{max} (Γ,Δ) σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	44

14	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις παραμέτρους AUC_t (A,B) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	45
15	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	46
16	Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	47
17	Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	47
18	Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	48
19	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	49
20	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	49
21	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	50
22	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	51
23	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	51
24	Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	52
25	Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	53
26	Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.	53

- 27 Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα 54
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 28 Γραφήματα επίδρασης της επέμβασης στον κλινικό σχεδιασμό στην 55
υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για τις κύριες φαρμακοκινητικές
παραμέτρους AUC_t , AUC_{inf} και C_{max} .
- 29 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος 56
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις
παραμέτρους AUC_t (A,B) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών
δεδομένων. Σε αυτό το σχήμα και τα επόμενα, τα μπλε σημεία αντιστοιχούν στο
διασταυρωτό σχεδιασμό και τα κόκκινα στον παράλληλο.
- 30 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος 57
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 31 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος 57
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις
παραμέτρους AUC_t (A,B) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών
δεδομένων.
- 32 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος 58
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 33 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος 58
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο AUC_t , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 34 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος 59
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο AUC_{inf} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 35 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος 59
δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την
παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 36 Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην 60
υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t , σε σχέση
με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 37 Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην 60
υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} , σε σχέση
με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 38 Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην 61
υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση
με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.
- 39 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη 62
διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και
την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών
δεδομένων.

- 40 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 62
- 41 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 63
- 42 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 64
- 43 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 64
- 44 Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 65
- 45 Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 66
- 46 Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 66
- 47 Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. 67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

AchE	ακετυλοχολινεστεράση
ANOVA	ανάλυση διασποράς
AUC	η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη του γραφήματος C - t
AUC ₀₋₇₂	το AUC έως τις 72 ώρες
AUC _{0-∞} ή AUC _{inf}	το AUC έως να μηδενιστεί η συγκέντρωση προεκτείνοντας στο άπειρο
AUC _{0-T} ή AUC _t	το AUC έως την τελευταία τιμή του χρόνου δειγματοληψίας
AUC _{earlier}	το AUC έως το T _{max} του σκευάσματος (T ή R) που επιτυγχάνεται νωρίτερα
AUC _{refer.} ή AUC _{Tmax,R}	το AUC έως το T _{max} του σκευάσματος αναφοράς
AUC _T	το AUC ανάμεσα σε δύο συνεχόμενες χορηγήσεις του σκευάσματος
BA	βιοδιαθεσιμότητα
BE	βιοϊσοδυναμία
C ή C _p	η συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα
C _{av,ss}	η μέση συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση
CI	διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval)
CL ή Cl	η κάθαρση του φαρμάκου (Clearance)
C _{max}	η μέγιστη συγκέντρωση πλάσματος
C _{max,ss}	η μέγιστη συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση
C _{min,ss}	η ελάχιστη συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση
C _T	η τελευταία μετρηθείσα συγκέντρωση
C _{trough} ή C _{T,ss}	η συγκέντρωση αμέσως πριν τη χορήγηση της επόμενης δόσης στη σταθεροποιημένη κατάσταση
CV	συντελεστής διακύμανσης
D	η δόση του φαρμάκου
EMA	Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων
F	ο συντελεστής βιοδιαθεσιμότητας
FDA	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Η.Π.Α.)
GMR	ο λόγος των γεωμετρικών μέσων
H ₀	μηδενική υπόθεση
H ₁	εναλλακτική υπόθεση
HVD	φάρμακα υψηλής μεταβλητότητας
K ₀₁ ή k _a	η σταθερά του ρυθμού απορρόφησης
Kg	χιλιόγραμμα/κilo

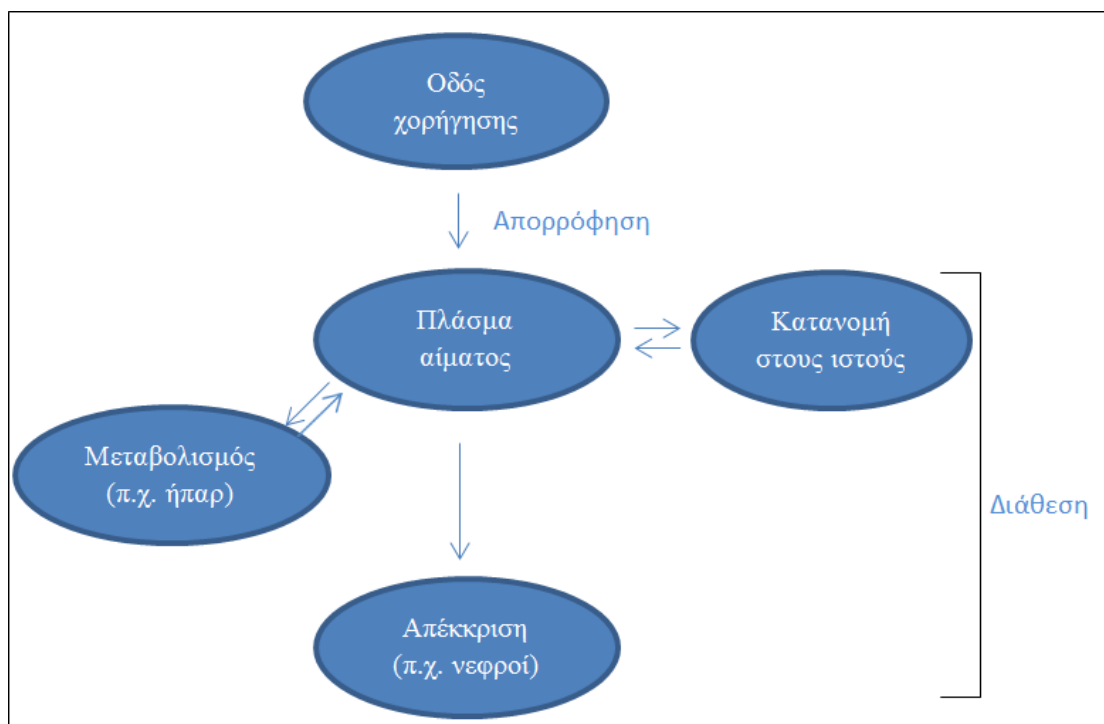
m	μέτρο
mg	χιλιοστόγραμμα
ml	χιλιοστόλιτρο
MAT	μέσος χρόνος απορρόφησης
MDT	μέσος χρόνο διάλυσης
MIT	μέσος χρόνος εισόδου στον οργανισμό
MRT	μέσος χρόνος παραμονής στον οργανισμό
MSE	μέση τιμή του τετραγώνου του σφάλματος
MTT	μέσος χρόνος διάβασης
n	ο αριθμός των εθελοντών
ng	νανογραμμάριο
NTID	φάρμακα στενού θεραπευτικού εύρους
PTF	ο βαθμός διακύμανσης
t	ο χρόνος
$t_{0.95(v)}$	το σημείο της κατανομής Student's που απομονώνει πιθανότητα 0.05 στο άνω άκρο για ν βαθμούς ελευθερίας
$t_{1/2}$	ο χρόνος ημιζωής
T_{max}	ο χρόνος στον οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση
$T_{max,ss}$	ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της $C_{max,ss}$
θ	το όριο βιοϊσοδυναμίας στη λογαριθμοποιημένη μορφή
λ_z	η σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης της τελευταίας φάσης
μ_T και μ_R	οι μέσες πληθυσμιακές τιμές των λογαριθμοποιημένων δεδομένων για τα σκευάσματα T και R αντίστοιχα
ΚΝΣ	κεντρικό νευρικό σύστημα
κ.λπ.	και λοιπά
ν	βαθμοί ελευθερίας
π.χ.	παραδείγματος χάριν
σ_D^2	μεταβλητότητα λόγω της αλληλεπίδρασης σκευάσματος - ατόμου
σ_T^2	ολική μεταβλητότητα
σ_W^2	ενδοατομική μεταβλητότητα
σκεύασμα R	σκεύασμα αναφοράς (reference)
σκεύασμα T	υπό έλεγχο σκεύασμα (test)
τ	χρόνος ίσος με το μεσοδιάστημα των δόσεων
%AUC-F	το ποσοστό διακύμανσης του AUC

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Βιοδιαθεσιμότητα, Βιοϊσοδυναμία και Βασικοί Ορισμοί

Ο κύριος λόγος για τον οποίο χορηγείται ένα φάρμακο είναι η εκδήλωση μιας καθορισμένης δράσης με σκοπό τη θεραπεία, πρόληψη, ανακούφιση ή τη διάγνωση μιας νόσου (European Parliament and Council Directive 2004/27/EC), σύμφωνα με τον ορισμό του φαρμάκου από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) και τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των Η.Π.Α. Για να συμβεί αυτό, το μόριο της δραστικής ουσίας του φαρμάκου θα πρέπει να βρεθεί στη θέση δράσης του σε επαρκή συγκέντρωση και για επαρκή διάρκεια, αφού νωρίτερα απορροφηθεί και κατανεμηθεί στον ανθρώπινο οργανισμό. Επισημαίνεται ότι οι διαδικασίες της απορρόφησης και της κατανομής από κοινού με το μεταβολισμό και την απέκκριση (όπως αποτυπώνονται στο Σχήμα 1) συνιστούν την πορεία ενός φαρμάκου στο ανθρώπινο σώμα και ταυτόχρονα τον τρόπο με τον οποίο το σώμα επιδρά στο φάρμακο. Η φαρμακοκινητική μελετά και αναλύει ακριβώς αυτές τις διαδικασίες και τους μηχανισμούς τους.

Η φαρμακοκινητική, εκτός από τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε ατόμου που λαμβάνει το φάρμακο και τις φυσικοχημικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας, επηρεάζεται καθοριστικά και από τις ιδιότητες του χορηγούμενου φαρμακευτικού σκευάσματος. Αυτό συμβαίνει διότι τροποποιείται η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το σκεύασμα και συνεπώς επηρεάζεται η απορρόφησή της. Επομένως, δύο φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν την ίδια δραστική ουσία δε θεωρείται εκ των προτέρων ότι θα δράσουν με τον ίδιο τρόπο και άρα ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ένα εναλλακτικά ως προς το άλλο. Εφόσον για να επιτευχθεί ισοδύναμο φαρμακευτικό αποτέλεσμα απαιτούνται όμοιες συγκεντρώσεις στη θέση δράσης και καθώς αυτό είναι αποτέλεσμα ισορροπίας κατά την κατανομή της δραστικής ουσίας στους διάφορους ιστούς του σώματος, το ζητούμενο είναι η επίτευξη όμοιων συγκεντρώσεων πλάσματος σε συνάρτηση με το χρόνο. Από τα ανωτέρω συνάγεται ότι απαιτούνται φαρμακοκινητικές μελέτες για την απόδειξη ισοδύναμης βιολογικής δράσης μεταξύ δύο φαρμακευτικών σκευασμάτων της ίδιας δραστικής ουσίας.



Σχήμα 1. Οι επιμέρους διαδικασίες της απορρόφησης, της κατανομής, του μεταβολισμού και της απέκκρισης, που μελετά η φαρμακοκινητική.

Συνεπώς, προτού συγκριθούν δύο διαφορετικά φαρμακευτικά σκευάσματα της ίδιας δραστικής ουσίας, πρέπει να εκτιμηθεί ο βαθμός άφιξης στη γενική κυκλοφορία με κάθε ένα από αυτά. Αυτό οδήγησε στην εισαγωγή του όρου της «Βιοδιαθεσιμότητας» (Bioavailability - BA), δηλαδή της μελέτης του ποσοστού της χορηγούμενης δόσης της δραστικής ουσίας που εισέρχεται στη γενική κυκλοφορία και επιπροσθέτως του ρυθμού με τον οποίο εισέρχεται (έκταση και ρυθμός απορρόφησης αντίστοιχα). Οι δύο αυτοί παράγοντες επηρεάζουν καθοριστικά τις δράσεις του φαρμάκου στον οργανισμό. Επιπλέον, η μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας παρέχει φαρμακοκινητικές πληροφορίες αναφορικά με την κατανομή και την απομάκρυνση (μεταβολισμός και απέκκριση) του φαρμάκου και την επίδραση της τροφής στην απορρόφηση. Για τη μελέτη της, απαιτούνται μετρήσεις της συγκέντρωσης στο πλάσμα της δραστικής ουσίας ή/και των μεταβολιτών της (προϊόντα του μεταβολισμού της) (CDER, 2003; CHMP, 2010).

Συναφής όρος με τον παραπάνω, είναι η έννοια της «Βιοϊσοδυναμίας» (Bioequivalence - BE), η οποία προκύπτει από τη σύγκριση της βιοδιαθεσιμότητας δύο διαφορετικών φαρμακευτικών σκευασμάτων της δραστικής ουσίας. Το ένα αποτελεί το σκεύασμα αναφοράς (reference - R) και το δεύτερο είναι το υπό έλεγχο σκεύασμα (test - T).

Βιοϊσοδυναμία ορίζεται ως η απουσία σημαντικών διαφορών στην έκταση και το ρυθμό διάθεσης στη θέση δράσης της, της δραστικής ουσίας που περιέχεται σε δύο φαρμακευτικά ισοδύναμα ή υποκατάστατα σκευάσματα (CDER, 2003). Διαφορετικά, η απουσία σημαντικών διαφορών στη βιοδιαθεσιμότητα δύο σκευασμάτων που χορηγούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες και στην ίδια δόση δραστικής ουσίας οδηγεί σε απουσία κλινικών διαφορών όσον αφορά τις δράσεις της, δηλαδή παρόμοια αποτελεσματικότητα και ασφάλεια.

Οι μελέτες βιοδιαθεσιμότητας, όπως προαναφέρθηκε, δίνουν πληροφορίες για τη φαρμακοκινητική της δραστικής (απορρόφηση, κατανομή, απομάκρυνση), αλλά επιπροσθέτως και για την διαπερατότητά της και την επίδραση ενζύμων ή πρωτεϊνών μεταφοράς στην απορρόφησης της. Αντιθέτως, οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι ιδιαιτέρως χρήσιμες και απαραίτητες για τη σύνδεση δύο διαφορετικών φαρμακευτικών σκευασμάτων. Αυτό μπορεί να απαιτηθεί κατά την ανάπτυξη ενός νέου φαρμάκου, στις περιπτώσεις που διαφέρει το σκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε στις αρχικές και τις τελικές κλινικές μελέτες ή είναι διαφορετικό από το σκεύασμα στο οποίο μελετήθηκε η σταθερότητα ή όταν ενδεχομένως το προϊόν που αναμένεται να κυκλοφορήσει διαφέρει από το φαρμακευτικό σκεύασμα των κλινικών μελετών. Επιπροσθέτως, μπορεί να απαιτηθούν όταν πρόκειται να μεταβληθούν σημαντικά κάποια χαρακτηριστικά ενός ήδη εγκεκριμένου σκευάσματος που κυκλοφορεί, όπως η μέθοδος παρασκευής, η μορφοποίηση ή τα συστατικά του. Τέλος, οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας είναι προαπαιτούμενο για την κυκλοφορία ενός γενόσημου φαρμάκου κατόπιν σύγκρισης με το αντίστοιχο ήδη εγκεκριμένο πρωτότυπο, ώστε να τεκμηριωθεί η ισοδύναμη αποτελεσματικότητα και ασφάλειά του.

Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις μελετών βιοϊσοδυναμίας, συγκρίνεται η βιοδιαθεσιμότητα του νεότερου - υπό έλεγχο σκευάσματος (T) με εκείνη του παλαιότερου - σκευάσματος αναφοράς (R), αφού αυτά χορηγηθούν σε υγιείς εθελοντές. Τα πειραματικά δεδομένα είναι οι μετρήσεις της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας σε κατάλληλο βιολογικό υλικό, συννηθέστερα στο πλάσμα του αίματος, αφού θεωρείται ότι δεν μπορεί να μετρηθεί στη θέση δράσης της. Με βάση λοιπόν αυτά τα πειραματικά δεδομένα, υπολογίζονται κατάλληλες φαρμακοκινητικές παράμετροι με αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης στις τιμές τους και συγκρίνονται με προκαθορισμένα όρια, σύμφωνα με τους εκάστοτε κανονιστικούς οργανισμούς.

Αναλυτικότερα, κατά τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας, οι οποίες μπορούν να χαρακτηριστούν και ως μελέτες συγκριτικής βιοδιαθεσιμότητας, συγκρίνονται στατιστικά οι μέσες τιμές φαρμακοκινητικών παραμέτρων, που χρησιμοποιούνται για να εκφραστεί η έκταση και ο ρυθμός απορρόφησης (extent and rate of absorption), κατόπιν χορήγησης των δύο διαφορετικών φαρμακευτικών σκευασμάτων (T και R). Αυτού του τύπου οι μελέτες, οι οποίες είναι οι πιο συνηθισμένες και οι συνιστώμενες, βασίζονται στη «Μέση Βιοϊσοδυναμία» (Average Bioequivalence) (CDER, 2001). Όσον αφορά το σχεδιασμό της μελέτης, αυτός είναι ο διασταυρωτός (two formulation, two period, two sequence crossover design), κατά τον οποίο το υπό έλεγχο σκεύασμα και το σκεύασμα αναφοράς χορηγούνται σε δύο διαδοχικές περιόδους με δύο τυχαίες σειρές. Σπανιότερα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο παράλληλος σχεδιασμός (parallel design), στον οποίο κάθε ομάδα ασθενών λαμβάνει τυχαία μόνο το ένα από τα δύο σκευάσματα (T ή R). Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος των μέσων τιμών των παραμέτρων των δύο σκευασμάτων (T και R) και το 90% διάστημα εμπιστοσύνης του λόγου αυτού. Εφόσον τα όρια του διαστήματος εμπιστοσύνης του λόγου περιλαμβάνονται εντός της περιοχής 80% έως 125% (δηλαδή δε διαφέρουν περισσότερο από 20%), τότε συμπεραίνεται ότι τα δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα. Η μέση βιοϊσοδυναμία όμως παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι ασχολείται με τη σύγκριση των πληθυσμιακών μέσων των παραμέτρων και όχι με τη μεταβλητότητα αυτών για τα σκευάσματα T και R. Για αυτόν το λόγο, δεν μπορεί να εκτιμήσει τη διατομική μεταβλητότητα της διαφοράς των σκευασμάτων.

Για να αντιμετωπιστεί το παραπάνω πρόβλημα εισήχθηκαν οι έννοιες της πληθυσμιακής και της εξατομικευμένης βιοϊσοδυναμίας, καθώς εισάγουν συγκρίσεις για τις μέσες τιμές και τις διασπορές των παραμέτρων. Η εξατομικευμένη βιοϊσοδυναμία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εκτιμηθούν η ενδοατομική, αλλά και η διατομική μεταβλητότητα για τα δύο σκευάσματα. Για να συμβεί αυτό, θα πρέπει το σκεύασμα να χορηγείται περισσότερες από μία φορές σε κάθε εθελοντή, ώστε η μία περίοδος χορήγησης να χρησιμοποιείται ως μέτρο σύγκρισης για τη δεύτερη περίοδο χορήγησης του ίδιου σκευάσματος. Αυτού του τύπου ο σχεδιασμός ονομάζεται επαναλαμβανόμενος διασταυρωτός (replicated crossover design). Η πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία από την άλλη πλευρά, χρησιμοποιείται για να εκτιμηθεί στον πληθυσμό η ολική μεταβλητότητα της φαρμακοκινητικής παραμέτρου. Οι παραπάνω έννοιες θα αναλυθούν πιο διεξοδικά στη συνέχεια.

2. Φαρμακοκινητική

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η φαρμακοκινητική μελετά και περιγράφει την πορεία του φαρμάκου στον ανθρώπινο οργανισμό από τη στιγμή της λήψης του έως την απομάκρυνσή του από αυτόν. Οι διαδικασίες που συνιστούν αυτή την πορεία είναι η απορρόφηση, η κατανομή, ο μεταβολισμός και η απέκκριση (όπως εμφανίζονται στο Σχήμα 1) και αναφέρονται ως ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion). Αυτές καθορίζονται από τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες του φαρμάκου και με τη σειρά τους είναι αυτές που καθορίζουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα του αίματος και στη θέση δράσης του (Νιώπας, 1997).

Η απορρόφηση συνιστά τη μετάβαση του φαρμάκου από το σημείο εφαρμογής στη συστηματική κυκλοφορία. Για παράδειγμα, μετά την από του στόματος χορήγηση το φάρμακο θα πρέπει να διέλθει από βιολογικές μεμβράνες και να διαφύγει από ένζυμα που το αδρανοποιούν είτε στο γαστρεντερικό σωλήνα είτε στο ήπαρ (φαινόμενο πρώτης διόδου). Αντιθέτως, η ενδοφλέβια χορήγηση μεταφέρει το φάρμακο απευθείας στη συστηματική κυκλοφορία. Τα αντικείμενα μελέτης της βιοδιαθεσιμότητας είναι η έκταση και ο ρυθμός της άφιξης στη συστηματική κυκλοφορία. Αυτοί οι παράγοντες έχουν βαρύνουσα σημασία όσον αφορά τις δράσεις του φαρμάκου. Η έκταση της απορρόφησης σχετίζεται με την ένταση της δράσης του φαρμάκου, ενώ ο ρυθμός της απορρόφησης σχετίζεται επιπλέον και με την έναρξη της δράσης του.

Στη συνέχεια το αίμα μεταφέρει το φάρμακο σε όλο το σώμα και έτσι κατανέμεται στους διάφορους ιστούς ανάλογα με τις φυσικοχημικές του ιδιότητες και την παρουσία πρωτεϊνών που το αναγνωρίζουν. Η έκταση και ο ρυθμός της κατανομής σε κάθε ιστό είναι σημαντική. Κάποιος ιστός ή κάποιο όργανο είναι ο στόχος του φαρμάκου, άρα η θέση δράσης του. Μεγάλη έκταση κατανομής σε ιστούς που δεν εμφανίζει δράση το φάρμακο (π.χ. λιπώδη ιστό για τα λιπόφιλα φάρμακα) μειώνει τη συγκέντρωσή του στο πλάσμα με αποτέλεσμα να το στερεί από τις θέσεις δράσης του.

Από την πρώτη στιγμή που κάποια ποσότητα του φαρμάκου φθάσει στη συστηματική κυκλοφορία και είναι διαθέσιμη για εκδήλωση της δράσης, αυτή υπόκειται σε διαρκή μείωση μέσω των διαδικασιών της απομάκρυνσης. Συγκεκριμένα, ένα μέρος απεκκρίνεται αναλλοίωτο (συνηθέστερα από τους νεφρούς στα παραγόμενα ούρα ή σπανιότερα από τους πνεύμονες ή το δέρμα) και ένα άλλο μέρος μεταβολίζεται (κυρίως από τα ηπατικά μεταβολικά ένζυμα φάσης I και II) προς αδρανείς μεταβολίτες, οι οποίοι με τη σειρά τους απεκκρίνονται από τον οργανισμό (μέσω των νεφρών ή μέσω της χολής στο γαστρεντερικό

σωλήνα). Οι διαδικασίες απομάκρυνσης επηρεάζουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα και ο ρυθμός τους επηρεάζει τη διάρκεια δράσης και κατά συνέπεια το δοσολογικό σχήμα μιας θεραπείας. Οι διαδικασίες αυτές θα είναι ενεργές έως την πλήρη απομάκρυνση του φαρμάκου από τον οργανισμό.

Οι διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα μετά την απορρόφηση του φαρμάκου στη συστηματική κυκλοφορία, δηλαδή η κατανομή, ο μεταβολισμός και η απέκκριση, συνιστούν από κοινού τη διαδικασία της διάθεσης (Disposition).

Αποτέλεσμα της φαρμακοκινητικής μελέτης, κατόπιν της επεξεργασίας των πειραματικών δεδομένων, είναι η περιγραφή της μεταβολής της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο πλάσμα σε συνάρτηση με το χρόνο για μία συγκεκριμένη δόση. Αυτό γίνεται με την εξαγωγή μιας μαθηματικής σχέσης, στην οποία η εξαρτημένη μεταβλητή είναι η συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα (C_p ή C), ενώ οι ανεξάρτητες μεταβλητές είναι ο χρόνος (t) και η δόση του φαρμάκου (D). Η εξαρτημένη μεταβλητή επηρεάζεται και αλλάζει με τη μεταβολή των ανεξάρτητων μεταβλητών, αλλά στη μαθηματική σχέση που τις συνδέει εμπεριέχονται οι φαρμακοκινητικές παράμετροι του φαρμάκου, οι οποίες χαρακτηρίζουν τις διαδικασίες της απορρόφησης, της κατανομής, του μεταβολισμού και της απέκκρισης. Ο υπολογισμός αυτών των παραμέτρων αποτελεί στόχο της φαρμακοκινητικής μελέτης. Με αυτή τη σχέση ως εργαλείο, περιγράφεται το γράφημα συγκέντρωσης - χρόνου ($C - t$) κατόπιν χορήγησης μίας συγκεκριμένης δόσης και ακόμη μπορεί να προβλεφθεί η μεταβολή της συγκέντρωσης κάτω από σταθερές και γνωστές συνθήκες.

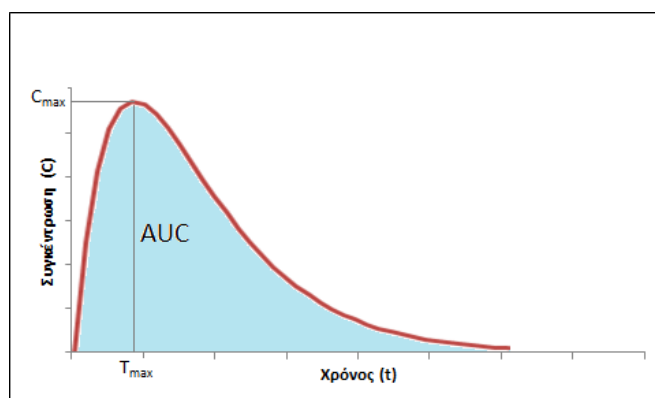
α. Έκταση και ρυθμός απορρόφησης - Επιλογή των φαρμακοκινητικών παραμέτρων

Αναφέρθηκε ότι οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας αποτελούν μελέτες συγκριτικής βιοδιαθεσιμότητας. Αντικείμενο μελέτης της τελευταίας, όπως προκύπτει και από τον ορισμό της είναι η μελέτη της έκτασης και του ρυθμού της απορρόφησης. Οι δύο αυτοί παράγοντες είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη φαρμακοκινητική και τελικά τη δράση του φαρμάκου.

Υψηλή έκταση απορρόφησης αυξάνει την συνολική έκθεση του οργανισμού στο φάρμακο στη διάρκεια του χρόνου και αυξάνει τις παρατηρούμενες συγκεντρώσεις του στο πλάσμα με κίνδυνο εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών. Αντιθέτως, μικρή έκταση απορρόφησης ενδεχομένως να οδηγήσει σε υποθεραπευτικά επίπεδα συγκεντρώσεων και σε

ανεπαρκή δράση. Μία φαρμακοκινητική παράμετρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την έκταση της απορρόφησης είναι η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη του γραφήματος συγκέντρωσης - χρόνου, C - t (Area Under the Curve, AUC) (Σχήμα 2) (Bois et al., 1994a, 1994b). Από την άλλη πλευρά υψηλός ρυθμός απορρόφησης οδηγεί σε αυξημένη αρχική συγκέντρωση στο πλάσμα του αίματος και ταυτόχρονα σε γρήγορη έναρξη δράσης. Αυτά τα χαρακτηριστικά είναι επιθυμητά σε κάποιες θεραπευτικές περιπτώσεις, όμως ενδεχομένως να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών. Σε αντίθεση, χαμηλός ρυθμός απορρόφησης έχει τα αντίθετα αποτελέσματα. Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι γενικώς που χρησιμοποιούνται για να εκφράσουν το ρυθμό απορρόφησης είναι η μέγιστη συγκέντρωση πλάσματος (C_{max}) και ο χρόνος στον οποίο αντιστοιχεί αυτή η μέγιστη συγκέντρωση (T_{max}) (Bois et al., 1994a, 1994b; Chen et al., 2001).

Συγκεκριμένα στην περίπτωση των μελετών βιοϊσοδυναμίας, προτείνεται και γίνεται κυρίως χρήση του AUC για την εκτίμηση της έκτασης απορρόφησης του φαρμάκου, ενώ η C_{max} χρησιμοποιείται ως δείκτης του ρυθμού απορρόφησης του.



Σχήμα 2. Παράσταση των βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων στο διάγραμμα συγκέντρωσης - χρόνου (C - t).

Αξίζει να σημειωθεί ότι είχε προταθεί η αντικατάσταση των όρων της έκτασης και του ρυθμού απορρόφησης κατά τη διενέργεια των μελετών βιοϊσοδυναμίας με την έννοια της έκθεσης (exposure) (Chen et al., 2001; Rostami-Hodjekan et al., 1994; Tozer et al., 1996). Έτσι σκοπός των μελετών θα πρέπει να είναι η διερεύνηση κατά πόσο η χορήγηση δύο σκευασμάτων οδηγεί σε όμοια έκθεση του οργανισμού στο φάρμακο. Η έννοια της έκθεσης συνίσταται από τους όρους της ολικής (total exposure), της μέγιστης (peak exposure) και της αρχικής έκθεσης (early exposure). Για την εκτίμηση της ολικής έκθεσης έχει προταθεί η παράμετρος AUC. Η μέγιστη έκθεση προσεγγίζεται με την παράμετρο C_{max} και σχετίζεται με την ασφάλεια. Τέλος, η αρχική έκθεση αποδίδεται με το T_{max} ή το $AUC_{T_{max},R}$ και είναι

χρήσιμη όταν απαιτείται γρήγορη έναρξη δράσης ή βραδεία είσοδος στη συστηματική κυκλοφορία.

β. Παράμετροι για την έκταση απορρόφησης

Η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη (AUC) είναι εκείνη η οποία βρίσκει εφαρμογή για να εκφράσει την έκταση της απορρόφησης ενός φαρμάκου (Bois et al., 1994a). Καθώς έχει την έννοια του εμβαδού που έχει ως άνω όριο την καμπύλη του γραφήματος συγκέντρωσης - χρόνου (C-t) και κάτω όριο τον άξονα του χρόνου, οι μονάδες της είναι μάζα*χρόνος/όγκος. Εκείνο που απαιτείται για να υπολογιστεί είναι τα σημεία της καμπύλης, δηλαδή τα πειραματικά δεδομένα των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο πλάσμα με τους αντίστοιχους χρόνους. Η τεχνική που ακολουθείται για τον υπολογισμό του είναι η μέθοδος των τραπεζίων.

Η χρησιμοποίηση της παραμέτρου AUC προήλθε από το γεγονός ότι είναι ανάλογη της συνολικής ποσότητας του φαρμάκου που φθάνει στη συστηματική κυκλοφορία, σύμφωνα με τη σχέση:

$$AUC = \frac{F \cdot D}{Cl} \quad (\text{Σχέση } 1)$$

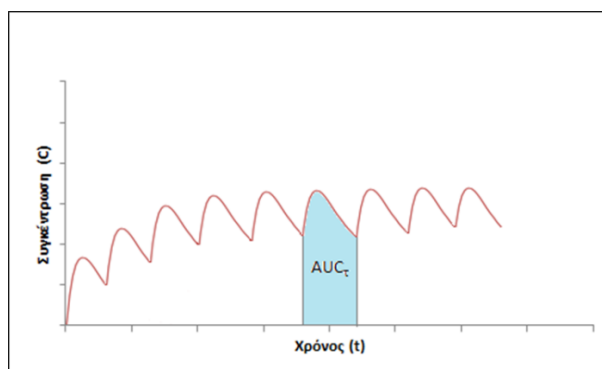
στην οποία το F αναπαριστά το συντελεστή βιοδιαθεσιμότητας με τιμές $0 \leq F \leq 1$, δηλαδή το ποσοστό της δόσης που φθάνει στη συστηματική κυκλοφορία, το D τη δόση που χορηγείται και το Cl την κάθαρση του φαρμάκου. Το γινόμενο $F \cdot D$ αντιπροσωπεύει την ποσότητα που φθάνει στην κυκλοφορία, ενώ η κάθαρση είναι η σταθερά αναλογίας μεταξύ των δύο μεγεθών.

Σε μερικές περιπτώσεις δεν μπορούμε με βεβαιότητα να πούμε ποιος είναι ο χρόνος στον οποίο μηδενίζεται η συγκέντρωση του φαρμάκου, όπως παριστάνεται και στο Σχήμα 2. Αυτό μπορεί να συμβαίνει είτε λόγω της περιορισμένης ευαισθησίας της μεθόδου ανάλυσης (η χαμηλότερη συγκέντρωση που μπορεί να ανιχνευτεί) είτε λόγω μελέτης φαρμάκου με εξαιρετικά αργή απομάκρυνση, δηλαδή μεγάλο χρόνο βιολογικής ημιζωής ($t_{1/2}$, ο χρόνος που απαιτείται για να υποδιπλασιαστεί η συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα). Έτσι δεν είναι απόλυτος ο χρόνος μέχρι τον οποίο υπολογίζεται το AUC και αυτό οδήγησε σε διαφορετικές εκφράσεις της συγκεκριμένης φαρμακοκινητικής παραμέτρου.

Όσον αφορά τις μελέτες με σχεδιασμό απλής χορήγησης των σκευασμάτων, έχουν προταθεί και χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες εκφράσεις της συγκεκριμένης παραμέτρου:

- Το AUC_{0-T} ή AUC_t , το οποίο εκφράζει το εμβαδό έως την τελευταία τιμή του χρόνου δειγματοληψίας, ο οποίος είναι κοινός για όλους τους εθελοντές, ή έως την τελευταία τιμή του χρόνου στην οποία παρατηρείται μετρήσιμη τιμή συγκέντρωσης (Kharidia et al., 1999). Υπολογίζεται σύμφωνα με τον κανόνα των τραπεζίων, από τη σχέση: $AUC_{0-T} = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{1}{2} (t_{i+1} - t_i)(C_i + C_{i+1})$ (Σχέση 2)
- Το $AUC_{0-\infty}$ ή AUC_{inf} , το οποίο εκφράζει το συνολικό εμβαδό κάτω από την καμπύλη και υπολογίζεται προσθέτοντας το εμβαδό μέχρι την τελευταία συγκέντρωση που μετρήθηκε (σύμφωνα με τη σχέση 2) και το εμβαδό από την τελευταία αυτή μέτρηση μέχρι να μηδενιστεί η συγκέντρωση, προεκτείνοντας έως το άπειρο, σύμφωνα με τη σχέση που ακολουθεί: $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-T} + AUC_{T-\infty}$ (Σχέση 3), στην οποία $AUC_{T-\infty} = \frac{C_T}{\lambda_z}$ (Σχέση 4), όπου C_T είναι η τελευταία μετρηθείσα συγκέντρωση και λ_z η σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης της τελευταίας φάσης. Για να θεωρείται αξιόπιστο, θα πρέπει το AUC_{0-T} να είναι τουλάχιστον το 80% του $AUC_{0-\infty}$.
- Το AUC_{0-72} , το οποίο είναι το εμβαδό έως τις 72 ώρες και χρησιμοποιείται για φάρμακα με μεγάλο χρόνο ημιζωής και χαμηλής ενδοατομικής μεταβλητότητας σύμφωνα με τον FDA (CDER, 2003) ή για όλα τα φάρμακα σύμφωνα με τον EMA (CHMP, 2010).

Όταν η μελέτη διενεργείται με σχεδιασμό πολλαπλών δόσεων η εκτίμηση της βιοϊσοδυναμίας διενεργείται στη σταθεροποιημένη κατάσταση (steady state). Σε αυτές τις περιπτώσεις βρίσκει εφαρμογή το AUC_t , το οποίο αποτελεί το εμβαδό κάτω από την καμπύλη ανάμεσα σε δύο συνεχόμενες χορηγήσεις του σκευάσματος, συνεπώς για χρόνο ίσο με το μεσοδιάστημα των δόσεων (τ), όπως φαίνεται στο Σχήμα 3 (CDER, 2003; CHMP, 2010, 2014).



Σχήμα 3. Παράσταση του AUC_t στο διάγραμμα συγκέντρωσης - χρόνου (C - t).

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης του AUC για την εκτίμηση της έκτασης της απορρόφησης σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά που εμφανίζει και τα οποία τον καθιστούν τελικά πολύ καλό δείκτη. Αυτά είναι:

- η καλή ειδικότητα - εκλεκτικότητα (specificity) που παρουσιάζει, καθώς αντικατοπτρίζει την έκταση της απορρόφησης και δεν επηρεάζεται από άλλες παραμέτρους,
- η καλή γραμμικότητα (linearity), καθώς συνδέεται με γραμμική σχέση με την έκταση απορρόφησης και
- η ικανοποιητική στατιστική απόκριση (statistical responsiveness), καθώς εμφανίζει μικρές μεταβολές σε σφάλματα μετρήσεων.

Σε αντίθεση με τα παραπάνω όμως, εμφανίζει κάποιους περιορισμούς στη χρήση του (Niazi et al., 1997). Αυτό συμβαίνει όταν η κινητική απορρόφησης ή απομάκρυνσης είναι Michaelis - Menten ή όταν παρουσιάζεται μηχανισμός ανακύκλωσης του φαρμάκου (π.χ. εντεροηπατικός κύκλος). Επιπλέον, για να είναι αξιόπιστα τα αποτελέσματα θα πρέπει να παρουσιάζεται γραμμικότητα στα τελευταία σημεία του γραφήματος και να μπορούν να χρησιμοποιηθούν τουλάχιστον τρία με τέσσερα σημεία για τον υπολογισμό της σταθεράς του ρυθμού απομάκρυνσης (λ_z).

γ. Παράμετροι για το ρυθμό απορρόφησης

Ενώ για τη μελέτη της έκτασης απορρόφησης το AUC με τις διάφορες εκφράσεις του θεωρείται πολύ ικανοποιητικός δείκτης, για την εκτίμηση του ρυθμού της απορρόφησης έχουν μελετηθεί διάφορες φαρμακοκινητικές παράμετροι και ανάλογα με το αν πρόκειται για σκευάσματα άμεσης αποδέσμευσης (Immediate Release - IR) ή τροποποιημένης αποδέσμευσης (Modified Release - MR). Η αιτία για αυτό είναι ο μεταβαλλόμενος στη διάρκεια του χρόνου ρυθμός απορρόφησης (Tozer et al., 1996). Οι διάφορες αυτές φαρμακοκινητικές παράμετροι αξιολογούνται ως δείκτες του ρυθμού απορρόφησης με βάση τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν και τη συσχέτιση με τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι η ειδικότητα - εκλεκτικότητα, η γραμμικότητα, η κινητική ευαισθησία (kinetic sensitivity) και η στατιστική απόκριση.

Η έννοια της ειδικότητας - εκλεκτικότητας περιγράφει την ικανότητα του δείκτη να αντανακλά μόνο το χαρακτηριστικό το οποίο εξετάζεται, δηλαδή τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης (K_{01} ή k_a), χωρίς να εξαρτάται από άλλες παραμέτρους. Συνεχίζοντας, η ιδιότητα της κινητικής ευαισθησίας αφορά την ικανότητα του ελεγχόμενου δείκτη να αντανακλά τις μεταβολές της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης, δηλαδή μία ποσοστιαία μεταβολή της σταθεράς του ρυθμού απορρόφησης να αντανακλάται με την ίδια ποσοστιαία μεταβολή του δείκτη. Ακολούθως, ο όρος της γραμμικότητας περιγράφει τη παρουσία γραμμικής συσχέτισης του δείκτη με την εκτιμώμενη φαρμακοκινητική παράμετρο. Από τους ορισμούς προκύπτει ότι η βέλτιστη κινητική ευαισθησία είναι η παρουσία γραμμικότητας. Από την άλλη πλευρά, η στατιστική απόκριση αντανακλά την έλλειψη μεταβολών του δείκτη σε σφάλματα μετρήσεων.

Όπως προαναφέρθηκε ο ρυθμός απορρόφησης δεν έχει μία συγκεκριμένη τιμή, αλλά μεταβάλλεται στο χρόνο. Ακόμη και αν ο μέσος χρόνος απορρόφησης είναι ίδιος, μπορεί το γράφημα ρυθμού απορρόφησης - χρόνου να παρουσιάζει αξιοσημείωτες διαφορές, έτσι που καθίσταται δύσκολο να ανακτηθούν ακριβείς πληροφορίες για αυτόν.

Στη συνέχεια θα αναφερθούν οι δείκτες του ρυθμού απορρόφησης που έχουν προταθεί για τις μελέτες με σχεδιασμό απλής χορήγησης αρχικά και κατόπιν για τις μελέτες πολλαπλών δόσεων (CDER, 2003; CHMP, 2010; Reppas et al., 1995; Tozer et al., 1996; Vincze et al., 2019).

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη και αυτή που απαιτείται από τους κανονιστικούς οργανισμούς είναι η C_{max} , η οποία αποτελεί τη μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα του αίματος (CDER, 2003; CHMP, 2010). Παρόλα αυτά, η χρήση της δεν είναι ικανοποιητική, καθώς παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα. Αρχικά, δεν είναι εκλεκτική, διότι δεν αντικατοπτρίζει μόνο τη σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, αλλά επηρεάζεται ακόμη από την απομάκρυνση του φαρμάκου και από την έκταση της απορρόφησης. Επιπλέον, γίνεται αντιληπτό ότι επηρεάζεται από το σχήμα δειγματοληψίας, αφού είναι η μέγιστη παρατηρούμενη συγκέντρωση και ο χρόνος για να επιτευχθεί είναι διακριτή μεταβλητή. Εμφανίζει χαμηλή κινητική ευαισθησία στις μεταβολές της σταθεράς k_a καθώς δεν παρουσιάζει ανάλογες μεταβολές και δεν εμφανίζει γραμμική συσχέτιση με την συγκεκριμένη σταθερά. Τέλος, δεν έχει αρκετά χαμηλή στατιστική απόκριση, αφού συχνά η μεταβλητότητά της είναι μεγαλύτερη εκείνης του AUC και το γεγονός ότι είναι μέτρηση ενός σημείου (εκτός από το να κάνει εύκολο τον υπολογισμό της) την καθιστά ευάλωτη σε σφάλματα (Lacey et al., 1994).

Ο T_{max} , το οποίο αποτελεί το χρόνο στον οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα (C_{max}). Παρουσιάζει το μειονέκτημα της προηγούμενης παραμέτρου, δηλαδή ότι επηρεάζεται από το σχήμα της δειγματοληψίας, δεν μπορεί να λάβει οποιοσδήποτε τιμές και είναι διακριτή μεταβλητή, το οποίο δημιουργεί προβλήματα στη στατιστική ανάλυσή της. Επιπλέον, δεν έχει γραμμική σχέση με την σταθερά k_a , έχει χαμηλή κινητική ευαισθησία και υψηλή στατιστική απόκριση. Τα παραπάνω περιορίζουν τη χρήση του, παρόλο που έχει το συγκριτικό πλεονέκτημα ως προς τη C_{max} ότι δεν επηρεάζεται από την έκταση της απορρόφησης (Basson et al., 1996).

Ο μέσος χρόνος απορρόφησης, MAT (Mean Absorption Time), πλέον δε χρησιμοποιείται. Είναι χρήσιμο για τη συνέχεια να σημειωθεί ότι από κοινού με το μέσο χρόνο διάλυσης, MDT (Mean Dissolution Time), συνιστούν την έννοια του μέσου χρόνου εισόδου στον οργανισμό, MIT (Mean Input Time).

Ο MRT (Mean Residence Time), είναι ο μέσος χρόνος παραμονής στον οργανισμό. Περιγράφει το χρόνο από την είσοδο του φαρμάκου έως την απομάκρυνσή του, δηλαδή περιλαμβάνει στην έννοιά του τον προαναφερθέντα MIT και το μέσο χρόνο διάβασης (Mean Transit Time - MTT). Πλεονεκτεί όπως και ο T_{max} στο ότι δεν εξαρτάται από την έκταση της απορρόφησης, αλλά εμφανίζει μεταβαλλόμενη κινητική ευαισθησία και επιπλέον έχει υψηλή στατιστική απόκριση.

Επίσης, ως δείκτης για το ρυθμό απορρόφησης έχει χρησιμοποιηθεί το κλάσμα $C_{max}/AUC_{0-\infty}$. Όπως προαναφέρθηκε η παράμετρος C_{max} , παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι επηρεάζεται και από την έκταση απορρόφησης, με τη διαίρεσή του με το AUC απαλείφεται αυτή η εξάρτηση και αυτό είναι ένα σημαντικό πλεονέκτημα του νέου δείκτη (Endrenyi et al., 1991; Tothfalusi and Endrenyi, 1995). Επιπλέον, είναι πιο ακριβής συγκριτικά με τη C_{max} και το T_{max} , και πιο ευαίσθητος από την C_{max} . Επιπροσθέτως, μπορεί να χειριστεί από την άποψη της στατιστικής πιο εύκολα. Τα μειονεκτήματά του είναι ότι ούτε αυτός έχει γραμμική σχέση με τη σταθερά k_a και ότι επηρεάζεται από τις διαδικασίες της απομάκρυνσης και της κατανομής. Στις περιπτώσεις εκείνες που παρουσιάζεται μία διαφορά στην έκταση της απορρόφησης, η συνήθης επιτρεπόμενη διαφορά 20% σε αυτόν το δείκτη θα οδηγούσε σε απαγορευτικές αποκλίσεις της C_{max} . Αυτή είναι η αιτία που έχει προταθεί η χρήση του ως βοηθητικός μόνο δείκτης.

Ο δείκτης C_{max}/T_{max} , επίσης έχει χρησιμοποιηθεί και φανερώνει μεγάλη διακύμανση.

Επιπλέον των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που αναφέρθηκαν ήδη, κάποιες εκφράσεις του AUC έχουν βρει εφαρμογή για την περιγραφή του ρυθμού απορρόφησης. Αυτές περιγράφηκαν ως μερικές επιφάνειες (partial areas) και διαφοροποιούνται ανάλογα με το χρόνο αποκοπής, δηλαδή το χρόνο στον οποίο διακόπτεται ο υπολογισμός του εμβαδού της καθεμίας από αυτές. Καλύτερη κινητική ευαισθησία παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιούνταν τα αρχικά σημεία της καμπύλης συγκέντρωσης - χρόνου, αυτό όμως προϋποθέτει ότι το σχήμα δειγματοληψίας είναι τέτοιο που να επιτρέπει επαρκή αριθμό σημείων. Συνηθέστερα το σημείο αποκοπής είναι ο χρόνος επίτευξης της μέγιστης συγκέντρωσης (T_{max}) με ανάλογη επιλογή του σκευάσματος (T ή R) στο οποίο θα αναφέρεται ο T_{max} (Chen, 1992). Διακρίνονται οι ακόλουθες περιπτώσεις:

- Το AUC_i , το οποίο υπολογίζεται μέχρι το T_{max} του καθενός σκευάσματος ξεχωριστά.
- Το $AUC_{earlier}$, το οποίο υπολογίζεται μέχρι το T_{max} εκείνου του σκευάσματος εκ των δύο (T ή R), που επιτυγχάνεται νωρίτερα.
- Και τέλος το $AUC_{reference}$, ή $AUC_{T_{max},R}$, το οποίο υπολογίζεται έως το T_{max} του σκευάσματος αναφοράς.

Το κυριότερο πρόβλημα που παρουσιάζεται κατά τη χρησιμοποίηση των μερικών επιφανειών, όπως γίνεται αντιληπτό, είναι το γεγονός ότι επηρεάζονται εκτός από το ρυθμό και από την έκταση της απορρόφησης. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο προτάθηκε η κανονικοποίησή τους διαιρώντας τα με το $AUC_{0-\infty}$. Έτσι προέκυψαν οι όροι $AUC_i/AUC_{0-\infty}$, $AUC_{earlier}/AUC_{0-\infty}$ και $AUC_{reference}/AUC_{0-\infty}$. Από τους παραπάνω όρους, οι δύο τελευταίοι εμφάνισαν μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από την C_{max} και τις διάφορες μη κανονικοποιημένες μερικές επιφάνειες να ανιχνεύουν διαφορές στο ρυθμό απορρόφησης. Επίσης, ο όρος $AUC_{reference}/AUC_{0-\infty}$ αποδείχθηκε καλύτερος από τον $AUC_{earlier}/AUC_{0-\infty}$, ενώ ο όρος $C_{max}/AUC_{0-\infty}$ ως πιο ακριβής είναι προτιμότερος στις περιπτώσεις φαρμάκων υψηλής μεταβλητότητας (Duquesnoy et al., 1998).

Για τις μελέτες με σχεδιασμό πολλαπλών δόσεων, οι οποίες προτείνονται για τα σκευάσματα τροποποιημένης αποδέσμευσης, η εκτίμηση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων γίνεται στη σταθεροποιημένη κατάσταση. Σε αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιούνται διαφορετικοί παράμετροι για την εκτίμηση του ρυθμού απορρόφησης, καθώς απαιτούνται επιπλέον των καθιερωμένων και βοηθητικοί δείκτες (CDER, 2003; CHMP, 2010, 2014; Kondra et al., 2011).

- Η $C_{max,ss}$, η οποία είναι η μέγιστη συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση.
- Η $C_{min,ss}$, η οποία είναι η ελάχιστη συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση.
- Η $C_{av,ss}$ είναι η μέση συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση και υπολογίζεται από τη σχέση:
$$C_{av,ss} = AUC_{\tau}/\tau. \quad (\text{Σχέση 5})$$
- Η C_{trough} ή $C_{\tau,ss}$ είναι η συγκέντρωση στο τέλος του μεσοδιαστήματος χορήγησης, δηλαδή αμέσως πριν τη χορήγηση της επόμενης δόσης, στη σταθεροποιημένη κατάσταση.
- Ο $T_{max,ss}$ είναι ο χρόνος που χρειάζεται για την επίτευξη της $C_{max,ss}$.
- Ο λόγος $C_{max}/AUC_{0-\infty}$, που αναφέρθηκε προηγουμένως βρίσκει εφαρμογή και στις μελέτες πολλαπλών δόσεων.
- Το $Swing$, το οποίο ισούται με $(C_{max}-C_{min})/C_{min}$.
- Ο βαθμός διακύμανσης (degree of fluctuation), παλαιότερα αναφερόμενος ως Peak to Trough Fluctuation (PTF), ο οποίος εκφράζει τη διακύμανση της συγκέντρωσης γύρω από τη $C_{av,ss}$ και ισούται με $(C_{max}-C_{min})/C_{av}$.
- Το ποσοστό διακύμανσης του AUC (%AUC-F), το οποίο εκφράζει την ποσοστιαία διακύμανση του AUC πάνω και κάτω από τη μέση συγκέντρωση στη σταθεροποιημένη κατάσταση και ισούται με $100*[AUC(\text{above } C_{av})+AUC(\text{below } C_{av})]/AUC$.

Οι τρεις τελευταίοι παράμετροι είναι δείκτες διακύμανσης και από τη συγκριτική τους αξιολόγηση προκύπτει ότι ο %AUC-F εμφανίζει χαμηλή ικανότητα να διακρίνει διαφορές, ενώ το $Swing$ είναι ευαίσθητο σε αλλαγές, αλλά και σε λάθη του C_{min} . Τελικά, φαίνεται ότι χρησιμότερος δείκτης από τους τρεις είναι ο βαθμός διακύμανσης (PTF), καθώς εμφανίζει την καλύτερη ευαισθησία ως προς τις αλλαγές της σταθεράς k_a , αν και χρειάζεται μία διόρθωση στην τιμή του (Endrenyi and Tothfalusi, 2012; Reppas et al., 1995).

3. Στατιστική Ανάλυση

Ο τρόπος με τον οποίο θα πρέπει να χειρίζονται οι φαρμακοκινητικές παράμετροι κατά τις μελέτες ελέγχου βιοϊσοδυναμίας έχει διανύσει μια πορεία μέχρι να διαμορφωθεί στη σημερινή του εικόνα (Midha and McKay, 2009). Αρχικά, γινόταν σύγκριση των μέσων τιμών των παραμέτρων κατά την οποία θα έπρεπε οι παράμετροι του υπό έλεγχο σκευάσματος να μη διαφέρουν περισσότερο από 20% από εκείνες του σκευάσματος αναφοράς, για να θεωρηθούν βιοϊσοδύναμα (Cheresson, 1996). Μία άλλη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο κανόνας 75/75. Αυτός απαιτούσε για να γίνει αποδεκτή η βιοϊσοδυναμία δύο σκευασμάτων, ο λόγος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων τους να

είναι εντός των ορίων 75% έως 125% για τουλάχιστον το 75% των εθελοντών. Σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται ότι η σύγκριση των παραμέτρων των σκευασμάτων T και R γίνεται σε κάθε εθελοντή ξεχωριστά. Ακολούθως, όταν έγινε αντιληπτό ότι το κάθε σκεύασμα εμφανίζει τη δική του μεταβλητότητα, έγινε η εισαγωγή των διαστημάτων εμπιστοσύνης.

Με την οδηγία που εξέδωσε ο FDA το 1992 «Statistical Procedures for Bioequivalence Studies Using a Standard Two-treatment Crossover Design», συνιστά οι παράμετροι να αναλύονται στατιστικά με βάση τη διαδικασία των δύο μονόπλευρων ελέγχων (t-test) (CDER, 2001). Σκοπός είναι να διερευνηθεί αν είναι συγκρίσιμοι οι παράμετροι των δύο σκευασμάτων (T και R), δηλαδή αν το υπολογιζόμενο 90% διάστημα εμπιστοσύνης περικλείεται στα όρια βιοϊσοδυναμίας 80% έως 125%. Ο υπολογισμός γίνεται στη λογαριθμική κλίμακα και το διάστημα εμπιστοσύνης του λόγου των γεωμετρικών μέσων των παραμέτρων απαιτείται να είναι εντός του διαστήματος $\ln(0.8)$ έως $\ln(1.25)$ για να γίνει αποδεκτή η βιοϊσοδυναμία.

Το 90% διάστημα εμπιστοσύνης και στις περισσότερες περιπτώσεις τα όρια βιοϊσοδυναμίας 80% έως 125% (με στρογγυλοποίηση σε δύο δεκαδικά ψηφία) ορίζονται και από τον EMA (CHMP, 2010). Τα όρια βιοϊσοδυναμίας (80% έως 125%) έχουν προκύψει από την κλινική εκτίμηση ότι απόκλιση των παραμέτρων της βιοδιαθεσιμότητας μικρότερη από 20% δεν προκαλεί σημαντική μεταβολή στο κλινικό αποτέλεσμα, ενώ απόκλιση μεγαλύτερη από αυτό το ποσοστό εγείρει θέματα ασφάλειας για τον ασθενή. Τα προκαθορισμένα αυτά όρια είναι ο γενικός κανόνας που ακολουθείται. Όμως εξαιρέσεις στην εφαρμογή του αποτελούν τα φάρμακα που παρουσιάζουν υψηλή μεταβλητότητα καθώς και εκείνα με στενό θεραπευτικό εύρος και θα αναπτυχθούν στη συνέχεια.

Γενικά θεωρείται ότι η επίδραση των διαφόρων πηγών μεταβλητότητας στις παραμέτρους που αναλύονται (AUC, C_{max}) ακολουθεί το πολλαπλασιαστικό μοντέλο, συνεπώς οι παράμετροι ακολουθούν τη λογαριθμική-κανονική κατανομή (log-normal) και λόγω των ιδιοτήτων των μαθηματικών σχέσεων οι λογαριθμικά τροποποιημένες παράμετροι ακολουθούν την κανονική κατανομή. Επίσης σημασία έχει ο λόγος των μέσων των παραμέτρων και η ποσοστιαία σχέση τους και όχι η διαφορά τους. Αυτοί είναι οι λόγοι που οι κανονιστικοί οργανισμοί προτείνουν τη μετατροπή των παραμέτρων στη λογαριθμική κλίμακα για την στατιστική ανάλυσή τους (CDER, 2001).

α. Μέση Βιοϊσοδυναμία

Η μέση βιοϊσοδυναμία (Average Bioequivalence), η οποία βασίζεται στον υπολογισμό του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης του λόγου των γεωμετρικών μέσων, είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη. Κατά την εφαρμογή της, το κριτήριο για να αποδειχθεί ότι δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα είναι η απουσία σημαντικής διαφοράς στις μέσες πληθυσμιακές τιμές των επιλεγμένων φαρμακοκινητικών τους παραμέτρων. Απαιτείται δηλαδή η διαφορά να είναι εντός των προκαθορισμένων ορίων βιοϊσοδυναμίας. Όπως προαναφέρθηκε, τα όρια αυτά ορίστηκαν με βάση την κλινική εμπειρία και είναι από 80% έως 125% στην κανονική κλίμακα και αντίστοιχα $\ln(0.8)$ έως $\ln(1.25)$ ή ± 0.223 στη λογαριθμική κλίμακα.

Το κριτήριο περιγράφεται μαθηματικά από τη σχέση:

$$(\mu_T - \mu_R)^2 \leq \theta_A^2 \quad (\text{Σχέση 6})$$

η οποία ισοδυναμεί με την ακόλουθη:

$$-\theta_A \leq (\mu_T - \mu_R) \leq \theta_A \quad (\text{Σχέση 7})$$

Στις παραπάνω σχέσεις, οι όροι μ_T και μ_R αναπαριστούν τις μέσες πληθυσμιακές τιμές των λογαριθμοποιημένων δεδομένων για τα σκευάσματα T και R αντίστοιχα, ενώ το θ_A αναπαριστά το όριο βιοϊσοδυναμίας στη λογαριθμοποιημένη μορφή και ισούται με $\ln(1.25)$ ή 0.223 , καθώς χρησιμοποιούνται οι φυσικοί λογάριθμοι (CDER, 2001). Οι μέσες πληθυσμιακές τιμές των λογαριθμοποιημένων δεδομένων προκύπτουν από τη σχέση:

$$\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln Y_i$$

ενώ ο γεωμετρικός μέσος από τη σχέση:

$$e^{\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln Y_i\right)}$$

Εύλογα προκύπτει ότι ο λόγος των γεωμετρικών μέσων (Geometric Mean Ratio - GMR) ισούται με την παράσταση $e^{(\mu_T - \mu_R)}$.

Στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαφορά μεγαλύτερη από την καθορισμένη στις παραμέτρους της έκτασης ή του ρυθμού απορρόφησης, η βιοϊσοδυναμία απορρίπτεται.

Απαιτείται δηλαδή να είναι εντός των ορίων βιοϊσοδυναμίας οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που περιγράφουν τόσο την έκταση όσο και το ρυθμό απορρόφησης.

β. Υπολογισμός Διαστήματος Εμπιστοσύνης

Όπως έχει αναφερθεί η διενέργεια των μελετών βιοϊσοδυναμίας και η στατιστική ανάλυση των δεδομένων, όταν εφαρμόζεται η μέση βιοϊσοδυναμία, βασίζεται στο 90% διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval – CI). Αξίζει να διευκρινιστεί ότι αυτό αποτελεί ισοδύναμη διαδικασία με δύο μονόπλευρους ελέγχους υποθέσεων σε επίπεδο 5% (Schuirmann, 1987). Κατά τον έναν έλεγχο υπόθεσης, διατυπώνονται οι υποθέσεις που ακολουθούν.

Μηδενική υπόθεση (null) $H_{01}: \mu_T - \mu_R < \theta_1$ και (Σχέση 8)

Εναλλακτική υπόθεση (alternative) $H_{11}: \mu_T - \mu_R \geq \theta_1$ (Σχέση 9)

Ενώ κατά το δεύτερο έλεγχο υπόθεσης οι υποθέσεις που διατυπώνονται είναι:

Μηδενική υπόθεση (null) $H_{02}: \mu_T - \mu_R > \theta_2$ και (Σχέση 10)

Εναλλακτική υπόθεση (alternative) $H_{12}: \mu_T - \mu_R \leq \theta_2$ (Σχέση 11)

Στις παραπάνω σχέσεις οι δύο όροι μ_T και μ_R αναπαριστούν αντιστοίχως τις μέσες τιμές των λογαρίθμων των παραμέτρων για τα σκευάσματα T και R, ενώ τα θ_1 και θ_2 αναπαριστούν τους λογαρίθμους του κατώτερου και του ανώτερου αντιστοίχως αποδεκτού ορίου της βιοϊσοδυναμίας. Η απόρριψη των μηδενικών υποθέσεων συνεπάγεται την αποδοχή των εναλλακτικών, άρα θα ισχύει $\theta_1 \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_2$ και συνεπώς αποδεικνύεται η βιοϊσοδυναμία.

Παρατηρείται ότι η εναλλακτική υπόθεση είναι αυτή της βιοϊσοδυναμίας, ενώ η μηδενική υπόθεση εκείνη της απόρριψής της. Αυτό συμβαίνει για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος για τον ασθενή ή αλλιώς το σφάλμα τύπου I, το οποίο ορίζεται σε $\alpha=5\%$ και περιγράφει την πιθανότητα να γίνει αποδεκτή η βιοϊσοδυναμία (απόρριψη της H_0), ενώ στην πραγματικότητα δεν ισχύει (ισχύει η H_0). Άρα είναι επιθυμητό ο έλεγχος της μηδενικής υπόθεσης να γίνει σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% (1- α). Ανάλογα το σφάλμα τύπου II (β) περιγράφει τον κίνδυνο για τον παραγωγό, δηλαδή την πιθανότητα να απορριφθεί η βιοϊσοδυναμία (αποδοχή της H_0), ενώ στην πραγματικότητα ισχύει (ισχύει η H_1). Η ισχύς της

δοκιμασίας (1-β) είναι η πιθανότητα να γίνει ορθά αποδεκτή η βιοϊσοδυναμία (απόρριψη της H_0).

Στις μελέτες βιοϊσοδυναμίας που ακολουθούν το 2x2 διασταυρωτό σχεδιασμό και στις οποίες καθεμία από τις δύο ομάδες εθελοντών αποτελείται από ίσο αριθμό ατόμων, το 90% διάστημα εμπιστοσύνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$90\% \text{ CI} = \mu_T - \mu_R \pm t_{0.95(v)} \sqrt{\text{MSE} \frac{2}{n}} \quad (\text{Σχέση } 12)$$

στην οποία οι μ_T και μ_R αναπαριστούν αντιστοίχως τους μέσους των λογαριθμικά τροποποιημένων τιμών των παραμέτρων για τα σκευάσματα T και R και $t_{0.95(v)}$ είναι το σημείο της κατανομής Student's που απομονώνει πιθανότητα 0.05 στο άνω άκρο για v βαθμούς ελευθερίας. Οι βαθμοί ελευθερίας εξαρτώνται από το συνολικό πλήθος των εθελοντών και το πλήθος στις ομάδες εθελοντών στις δύο σειρές χορήγησης και δίνεται από την εξίσωση:

$$v = n_1 + n_2 - 2 = n - 2 \quad (\text{Σχέση } 13)$$

όπου n_1 και n_2 είναι ο αριθμός των εθελοντών σε καθεμία από τις δύο ίσες ομάδες εθελοντών, ενώ n είναι ο συνολικός αριθμός των εθελοντών που λαμβάνουν μέρος και ισούται με το άθροισμα n_1 και n_2 . Το MSE είναι η μέση τιμή του τετραγώνου του σφάλματος (Mean Square Error).

Για να υπολογιστεί το 90% διάστημα εμπιστοσύνης σύμφωνα με τη Σχέση 12, απαιτείται πρωτίτερα ο υπολογισμός του MSE, το οποίο προκύπτει από την ανάλυση ANOVA (Ανάλυση Διασποράς - Analysis of Variance) για τις τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων για n άτομα. Με αυτόν τον τρόπο αναλύεται η συνολική μεταβλητότητα και ορισμένα μέρη της αποδίδονται σε γνωστές πηγές μεταβλητότητας, όπως είναι τα σκευάσματα, οι εθελοντές, οι περίοδοι χορήγησης και οι σειρές χορήγησης. Κατόπιν αφαίρεσης της μεταβλητότητας που οφείλεται στις ανωτέρω πηγές, περισσεύει η μεταβλητότητα που αντιπροσωπεύει το MSE, το οποίο μπορεί να εκπροσωπεί υπό προϋποθέσεις την ενδοατομική μεταβλητότητα.

Το MSE έχει επιπλέον και μία ακόμη χρησιμότητα. Με βάση την τιμή του, μπορεί να γίνει ο υπολογισμός του συντελεστή διακύμανσης (Coefficient of Variation - CV), αξιοποιώντας την ακόλουθη σχέση:

$$CV = 100\sqrt{e^{\text{MSE}} - 1} \quad (\text{Σχέση } 14)$$

Λόγω του γεγονότος ότι χρησιμοποιείται το MSE και συνεπώς έχει απομακρυνθεί η

επίδραση των γνωστών πηγών μεταβλητότητας, η τιμή του συντελεστή διακύμανσης είναι μικρότερη από εκείνη που υπολογίζεται από τα δεδομένα των παραμέτρων.

γ. Εύρος Βιοϊσοδυναμίας – Ειδικές Περιπτώσεις

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σύμφωνα με τον FDA και τον EMA, τα καθιερωμένα και συνήθη όρια βιοϊσοδυναμίας είναι οι τιμές 80.00% και 125.00% (στρογγυλοποιημένες σε δύο δεκαδικά ψηφία) (CDER, 2003; CHMP, 2010). Τα όρια αυτά ακολουθούνται παραδοσιακά και προέκυψαν από την κλινική εκτίμηση ότι διαφορά 20% στις τιμές των παραμέτρων δεν εμφανίζει σημαντική κλινική μεταβολή στις δράσεις του φαρμάκου, ενώ διαφορά μεγαλύτερη από αυτή δεν γίνεται αποδεκτή λόγω κινδύνου για τον ασθενή. Εκ του αποτελέσματος προκύπτει ότι αυτή η θεώρηση είναι ορθή και ασφαλής. Παρόλα αυτά, εγείρονται αμφιβολίες για το κατά πόσο θα πρέπει να εξακολουθήσουν να τηρούνται αυστηρά προκαθορισμένα όρια για το σύνολο των περιπτώσεων στις μελέτες βιοϊσοδυναμίας. Οι συζητήσεις αφορούν στις περιπτώσεις των φαρμάκων με υψηλή μεταβλητότητα (Highly Variable Drugs – HVD) και εκείνες των φαρμάκων με στενό θεραπευτικό εύρος (Narrow Therapeutic Index Drugs – NTID).

Όσον αφορά την υψηλή μεταβλητότητα, αυτή μπορεί να οφείλεται σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, καθώς και στις ιδιότητες της δραστικής, όπως οι φυσικοχημικές (Van Peer, 2010). Υπάρχει πολύ μικρή πιθανότητα τα HVD να πληρούν τα καθιερωμένα όρια και συνεπώς δυσχεραίνεται η αποδοχή της βιοϊσοδυναμίας. Το πρόβλημα τίθεται από το γεγονός ότι το υπολογιζόμενο 90% διάστημα εμπιστοσύνης είναι ιδιαίτερα ευρύ ώστε να καθίσταται δύσκολο να εμπεριέχεται στα όρια 80% έως 125%. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι η οροφή της 20% απόκλισης είναι σχετικά μικρή ως προς τις διαφορές που εμφανίζονται από μέρα σε μέρα στον ίδιο εθελοντή, όταν η ενδοατομική μεταβλητότητα είναι υψηλή. Εκείνο που θα απαιτούνταν για τη μείωση του διαστήματος εμπιστοσύνης είναι ένας ιδιαίτερα μεγάλος αριθμός εθελοντών, εφόσον ταυτόχρονα ο GMR βρίσκεται πλησίον της μονάδας (Midha et al., 1999, 2005). Έτσι προκύπτουν ηθικά, αλλά και πρακτικά προβλήματα, λόγω και της δυσκολίας νέας προσπάθειας μορφοποίησης. Σε αυτές τις περιπτώσεις λοιπόν, των HVD, τα κλασσικά όρια βιοϊσοδυναμίας θεωρούνται ιδιαίτερα αυστηρά και έχει προταθεί η διεύρυνσή τους σε μεγαλύτερες τιμές, ώστε να μην παρεμποδίζεται η αποδοχή βιοϊσοδυναμίας (Boddy et al., 1995; Haidar et al., 2008b).

Αρχικά απαιτείται ο υπολογισμός της ενδοατομικής μεταβλητότητας του σκευάσματος αναφοράς (within-subject variability). Για να υπάρχει όμως αυτή η

δυνατότητα θα πρέπει να ακολουθηθεί ο διασταυρωτός σχεδιασμός κατά τον οποίο το σκεύασμα αναφοράς χορηγείται δύο φορές σε κάθε ομάδα εθελοντών στις δύο σειρές χορήγησης. Γενικά, τα φάρμακα τα οποία εμφανίζουν σε κάποια από τις βασικές παραμέτρους της έκτασης ή του ρυθμού απορρόφησης (AUC ή C_{max}) ενδοατομική μεταβλητότητα τουλάχιστον 30% εμπίπτουν στην κατηγορία των HVD (Blume and Midha, 1993; CHMP, 2010; McGilveray et al., 1990). Οι οδηγίες από τον EMA προτείνουν τη διεύρυνση των ορίων βιοϊσοδυναμίας μόνο για την παράμετρο C_{max} και όχι για το AUC, εφόσον η ενδοατομική μεταβλητότητα της C_{max} για το σκεύασμα R είναι μεγαλύτερη από 30%. Η διεύρυνση των ορίων εξαρτάται από το μέγεθος της ενδοατομικής μεταβλητότητας και έχει ως οροφή το εύρος 69.84% έως 143.19%, το οποίο αντιστοιχεί σε CV 50% (Karalis et al., 2011). Σε κάθε περίπτωση όμως ο GMR θα πρέπει να κινείται εντός των ορίων 80% έως 125%. Αντιστοίχως υπάρχει πρόταση από τον FDA για υιοθέτηση των κλιμακούμενων ορίων ανάλογα με την ενδοατομική μεταβλητότητα για τα φάρμακα HVD ($CV \geq 30\%$), με την προϋπόθεση ότι ο GMR είναι μεταξύ 80% και 125% (CDER, 2014; Tothfalusi et al., 2009). Σε αυτή την περίπτωση δεν υπάρχει κάποια οροφή στη διεύρυνση των ορίων.

Όσον αφορά τα φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος είναι εκείνα στα οποία ο λόγος της μέσης τοξικής δόσης προς τη μέση θεραπευτική δόση είναι μικρός. Από τον ορισμό προκύπτει ότι μικρές αλλαγές στη δόση ή στη συγκέντρωση του αίματος μπορεί να προκαλέσουν είτε θεραπευτική αποτυχία είτε εμφάνιση σημαντικών ανεπιθύμητων ενεργειών. Αυτές είναι οι εμμένουσες, οι μη αναστρέψιμες, οι βραδέως αναστρέψιμες ή οι απειλητικές για τη ζωή. Συνήθως πρόκειται για φάρμακα με μικρή ενδοατομική μεταβλητότητα. Σε αυτή την περίπτωση σκοπός είναι ο περιορισμός των ορίων, ώστε να καθίσταται δυσκολότερη η αποδοχή βιοϊσοδυναμίας, με τελικό στόχο την προσπάθεια πληρέστερης διασφάλισης κατά την εναλλαγή από ένα σκεύασμα της δραστικής ουσίας σε ένα άλλο.

Ο EMA από το 2010 ορίζει ότι στις περιπτώσεις φαρμάκων με στενό θεραπευτικό δείκτη τα κλασσικά όρια 80% έως 125% είναι μεγάλα και θα πρέπει να περιορίζονται στο εύρος 90.00% έως 111.11% για την παράμετρο AUC και ομοίως για την παράμετρο C_{max} , στις περιπτώσεις που αυτή είναι καθοριστική για την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα ή τον έλεγχο επιπέδων φαρμάκου. Όσον αφορά όμως την απόφαση για το ποια φάρμακα θα πρέπει να εμπίπτουν στη συγκεκριμένη σύσταση, δεν παρατίθεται κάποιος κατάλογος, αλλά προτείνει ότι θα πρέπει να αξιολογείται ανά περίπτωση σύμφωνα με την κλινική θεώρηση. Αντιθέτως ο FDA δεν προβλέπει ακόμη διαφορετικά όρια βιοϊσοδυναμίας, αλλά

έχει προταθεί η διενέργεια μελετών με πλήρως αντίγραφο διασταυρωτό σχεδιασμό τεσσάρων περιόδων, στην οποία δηλαδή χορηγείται το κάθε σκεύασμα δύο φορές. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δυνατότητα υπολογισμού της ενδοατομικής μεταβλητότητας για τα δύο σκευάσματα. Ακολούθως προτείνεται να τηρούνται κλιμακούμενα όρια και συγκεκριμένα για σκευάσματα αναφοράς με μεταβλητότητα έως 10% στενότερα από το εύρος 90.00%-111.11%, ενώ για σκευάσματα με μεταβλητότητα μεγαλύτερη από 10% όρια ευρύτερα από 90.00%-111.11%, αλλά με οροφή τα κλασσικά όρια 80%-125%.

δ. Πληθυσμιακή Βιοϊσοδυναμία

Μεταγενέστερα από τη μέση βιοϊσοδυναμία, αναπτύχθηκε η έννοια της πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας (Population Bioequivalence) (Hauck and Anderson, 1992). Η αιτία ήταν ότι η μέση βιοϊσοδυναμία ασχολείται με τη σύγκριση των μέσων τιμών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων στον πληθυσμό, χωρίς όμως να δίνει πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά της κατανομής αυτών. Αντιθέτως, η πληθυσμιακή βιοϊσοδυναμία επιτρέπει επιπλέον τον υπολογισμό της ολικής μεταβλητότητας των παραμέτρων, η οποία είναι το άθροισμα της ενδοατομικής και της διατομικής μεταβλητότητας (Schall and Luus, 1993).

Κατά την εφαρμογή της πληθυσμιακής ΒΕ, η διαφορά του σκευάσματος T από το R δεν πρέπει να είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τη διαφορά R-R. Η σύγκριση γίνεται χρησιμοποιώντας τη μεταβλητότητα του σκευάσματος R, άρα είναι κλιμακούμενη. Το κριτήριο διατυπώνεται μαθηματικά από τη σχέση:

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{\sigma_{TR}^2} \leq \theta_p \quad (\text{Σχέση } 15)$$

στην οποία οι μ_T και μ_R αναπαριστούν αντιστοίχως τους μέσους των λογαριθμικά τροποποιημένων τιμών των παραμέτρων για τα σκευάσματα T και R, οι σ_{TT}^2 και σ_{TR}^2 είναι οι ολικές μεταβλητότητες για τα σκευάσματα T και R, σ_{T0}^2 είναι μία υπολογιζόμενη σταθερά της ολικής μεταβλητότητας και θ_p είναι το όριο πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας (CDER, 2001). Το παραπάνω κριτήριο πλεονεκτεί στο ότι επιτρέπει την ευκολότερη αποδοχή βιοϊσοδυναμίας για σκευάσματα μεγαλύτερης μεταβλητότητας. Για σκευάσματα όμως μικρής μεταβλητότητας με μεγάλο θεραπευτικό δείκτη, θα δυσχέραινε αχρείαστα την αποδοχή βιοϊσοδυναμίας. Για να αποφευχθεί αυτό το μειονέκτημα, στις περιπτώσεις που $\sigma_{TR} \leq \sigma_{T0}$, ο όρος σ_{TR} αντικαθίσταται στον παρονομαστή από τον όρο σ_{T0} . Επιπλέον, είναι προαπαιτούμενο ο GMR να κυμαίνεται μεταξύ 80% και 125%.

ε. Εξατομικευμένη Βιοϊσοδυναμία

Επιπλέον της πληθυσμιακής, έχει αναπτυχθεί και η εξατομικευμένη βιοϊσοδυναμία (Individual Bioequivalence) (Anderson and Hauck, 1990; Hauck and Anderson, 1992). Η τελευταία βρίσκει χρήση στη διερεύνηση της εναλλαξιμότητας δύο σκευασμάτων, δηλαδή της δυνατότητας εναλλαγής κατά τη θεραπεία από το ένα σκεύασμα στο δεύτερο. Παρουσιάζει το πλεονέκτημα ότι εστιάζει επιπροσθέτως στην ενδοατομική μεταβλητότητα, ενώ εισάγει και έναν όρο που χαρακτηρίζει την αλληλεπίδραση σκευάσματος - ατόμου (subject-by-formulation) (Chen et al., 2000; Schall and Luus, 1993). Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο απαιτείται το καθένα σκεύασμα να χορηγηθεί από δύο φορές σε κάθε σειρά χορήγησης (Chen and Lesko, 2001).

Το κριτήριο για την εξατομικευμένη βιοϊσοδυναμία διατυπώνεται μαθηματικά από τη σχέση:

$$\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{WR}^2} \leq \theta_I \quad (\text{Σχέση } 16)$$

στην οποία οι όροι σ_{WT}^2 και σ_{WR}^2 είναι οι ενδοατομικές μεταβλητότητες για τα σκευάσματα T και R, σ_D^2 είναι η μεταβλητότητα λόγω της αλληλεπίδρασης σκευάσματος - ατόμου, σ_{W0}^2 είναι μία υπολογιζόμενη σταθερά της ενδοατομικής μεταβλητότητας και θ_I είναι το όριο εξατομικευμένης βιοϊσοδυναμίας (CDER, 2001). Αντιστοίχως με το κριτήριο της πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας και το παρόν κριτήριο επιτρέπει την κλιμάκωση με βάση τη μεταβλητότητα του σκευάσματος R, ενώ για σκευάσματα μικρής μεταβλητότητας, στις περιπτώσεις που ισχύει $\sigma_{WR} \leq \sigma_{W0}$, ο όρος σ_{WR} στον παρονομαστή αντικαθίσταται από τον όρο σ_{W0} . Ομοίως, είναι προαπαιτούμενο ο GMR να κυμαίνεται μεταξύ 80% και 125%.

4. Σχεδίαση των Μελετών Βιοϊσοδυναμίας

α. Κλινικοί σχεδιασμοί

Κατά τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας, διενεργείται σύγκριση της βιοδιαθεσιμότητας των σκευασμάτων. Για να είναι όμως ασφαλές το συμπέρασμα που θα εξαχθεί, θα πρέπει να διαχωριστεί η επίδραση του σκευάσματος από τους διάφορους άλλους παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα. Αυτό επιτυγχάνεται με τον κατάλληλο σχεδιασμό της μελέτης, η επιλογή του οποίου εξαρτάται από τις φυσικοχημικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας (CHMP, 2010).

ι. Κλινικοί σχεδιασμοί χωρίς επαναχορήγηση (non-replicated)

Ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος σχεδιασμός που προτείνεται από τους κανονιστικούς οργανισμούς είναι ο τυχαιοποιημένος διασταυρωτός σχεδιασμός δύο σκευασμάτων, δύο σειρών χορήγησης και δύο περιόδων χορήγησης (2 x 2) (CDER, 2001, 2003; CHMP, 2010). Ο συγκεκριμένος ανήκει στους κλινικούς σχεδιασμούς χωρίς επαναχορήγηση του σκευάσματος (non - replicated) και προτείνεται στην περίπτωση χρησιμοποίησης της μέσης και της πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας. Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4, ο αριθμός των εθελοντών χωρίζεται τυχαία σε δύο ίσες ομάδες. Η καθεμία ομάδα αντιστοιχεί σε μία σειρά χορήγησης (sequence). Τα δύο σκευάσματα T και R χορηγούνται και στις δύο σειρές, αλλά διαδοχικά σε δύο περιόδους χορήγησης (periods) και όχι ταυτόχρονα. Προκύπτει ότι υπάρχουν δύο σειρές χορήγησης, οι RT και TR, αποτελούμενες από δύο περιόδους χορήγησης η καθεμία, στις οποίες χορηγείται το σκεύασμα T ή R. Οι περίοδοι χορήγησης διαχωρίζονται χρονικά από μία περίοδο έκπλυσης. Η τελευταία έχει τέτοια διάρκεια ώστε να απομακρύνεται από τον οργανισμό η δραστική ουσία του σκευάσματος της πρώτης περιόδου προτού ληφθεί το δεύτερο και συγκεκριμένα να διασφαλίζεται ότι η συγκέντρωσή της είναι κάτω από το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης της βιοαναλυτικής μεθόδου. Η διάρκεια της περιόδου έκπλυσης ορίζεται σε τουλάχιστον πέντε χρόνους ημιζωής. Η περίοδος έκπλυσης είναι απαραίτητη, ώστε να ελαχιστοποιείται η επίδραση του σκευάσματος που χορηγείται πρώτο στα αποτελέσματα του δεύτερου σκευάσματος (carryover effect) και το οποίο είναι ένα μειονέκτημα του διασταυρωτού σχεδιασμού.

		Περίοδος	
		1	2
Σειρά	1	R	T
	2	T	R

Σχήμα 4. Διασταυρωτός σχεδιασμός δύο σκευασμάτων (υπό έλεγχο - T και αναφοράς - R), δύο σειρών χορήγησης και δύο περιόδων χορήγησης (2 x 2).

Στην κατηγορία των σχεδιασμών που δεν περιλαμβάνουν επαναχορήγηση ανήκει και ο παράλληλος σχεδιασμός. Στις μελέτες που ακολουθούν τη συγκεκριμένη σχεδίαση, σε

κάθε ομάδα εθελοντών χορηγείται μόνο το ένα σκεύασμα, ή το T ή το R, καθώς υπάρχει μόνο μία περίοδος χορήγησης. Η σχεδίαση παράλληλης μελέτης είναι χρήσιμη στην περίπτωση δραστικών ουσιών με μεγάλο χρόνο ημιζωής, καθώς με το διασταυρωτό σχεδιασμό θα απαιτούνταν σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια των περιόδων της μελέτης, αυξάνοντας την πιθανότητα απόσυρσης εθελοντών και το κόστος (CDER, 2003; CHMP, 2010). Από την άλλη πλευρά μειονεκτεί έναντι του διασταυρωτού σχεδιασμού διότι απαιτεί μεγαλύτερο αριθμό εθελοντών.

Ως αποτέλεσμα της φύσης τους, ο διασταυρωτός και ο παράλληλος σχεδιασμός διαφέρουν στον τρόπο χειρισμού της διατομικής μεταβλητότητας. Η διατομική μεταβλητότητα είναι εκείνη που οφείλεται στις διαφορές από άτομο σε άτομο, ενώ η ενδοατομική μεταβλητότητα είναι εκείνη η οποία οφείλεται στις διαφορές που εμφανίζονται στο ίδιο άτομο μέσα στο χρόνο. Ο διασταυρωτός σχεδιασμός εμφανίζει το πλεονέκτημα ότι η επίδραση του ενός σκευάσματος συγκρίνεται με του δεύτερου σκευάσματος στον ίδιο εθελοντή, καθώς χορηγούνται σε κάθε εθελοντή και τα δύο σκευάσματα. Με αυτόν τον τρόπο απαλείφεται η επίδραση της διατομικής μεταβλητότητας.

Παρόλα αυτά, λόγω της σχεδίασης, δεν μπορεί να υπολογιστεί η ενδοατομική μεταβλητότητα των σκευασμάτων T και R. Στις μελέτες που ακολουθούν διασταυρωτό σχεδιασμό η συνολική μεταβλητότητα περιλαμβάνει γνωστές πηγές όπως τα σκευάσματα, τους εθελοντές, τη σειρά και την περίοδο χορήγησης. Εφαρμόζοντας όμως την ανάλυση ANOVA και αφαιρώντας από τη συνολική μεταβλητότητα τις παραπάνω γνωστές πηγές μεταβλητότητας, υπολογίζεται το υπολειπόμενο σφάλμα, το οποίο είναι εκτίμηση της συνολικής μεταβλητότητας των δύο σκευασμάτων και θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει την ενδοατομική μεταβλητότητα της δραστικής ουσίας.

ii. Επαναλαμβανόμενοι κλινικοί σχεδιασμοί (replicated)

Επιπλέον των κλινικών σχεδιασμών χωρίς επαναχορήγηση του σκευάσματος, υπάρχουν και οι επαναλαμβανόμενοι κλινικοί σχεδιασμοί. Οι τελευταίοι εμπεριέχουν τρεις ή περισσότερες περιόδους σε κάθε σειρά χορήγησης, καθώς σκοπός είναι η διπλή χορήγηση του ενός ή και των δύο σκευασμάτων στις διάφορες ομάδες των εθελοντών (Σχήμα 5). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι έχουν βρει εφαρμογή και σχεδιασμοί με περισσότερες από δύο σειρές χορήγησης.

		Περίοδος				
		1	2	3		
Σειρά	1	T	Εκπλυση	R	Εκπλυση	T
	2	R	Εκπλυση	T	Εκπλυση	R

		Περίοδος						
		1	2	3	4			
Σειρά	1	T	Εκπλυση	R	Εκπλυση	T	Εκπλυση	R
	2	R	Εκπλυση	T	Εκπλυση	R	Εκπλυση	T

Σχήμα 5. Επαναλαμβανόμενοι σχεδιασμοί που εμπεριέχουν αντίστοιχα: α) δύο σειρές και τρεις περιόδους χορήγησης και β) δύο σειρές και τέσσερις περιόδους χορήγησης. Μεταξύ των διαδοχικών περιόδων μεσολαβεί πάντα μία περίοδος έκπλυσης.

Οι επαναλαμβανόμενοι σχεδιασμοί παρουσιάζουν το πλεονέκτημα ότι καθιστούν εφικτό τον υπολογισμό της ενδοατομικής μεταβλητότητας. Όταν κάποιο σκεύασμα χορηγείται περισσότερες από μία φορές σε μία ομάδα εθελοντών, μπορεί να υπολογιστεί η ενδοατομική μεταβλητότητα του σκευάσματος αυτού. Έτσι στις περιπτώσεις των φαρμάκων HVD (CHMP, 2010; Haider et al., 2008a, 2008b), που απαιτείται η γνώση της ενδοατομικής μεταβλητότητας του σκευάσματος αναφοράς, βρίσκουν χρήση οι αντίστοιχοι επαναλαμβανόμενοι σχεδιασμοί τριών περιόδων με επαναχορήγηση του σκευάσματος R. Επιπροσθέτως, οι επαναλαμβανόμενοι σχεδιασμοί τεσσάρων περιόδων χορήγησης εφαρμόζονται όταν χρησιμοποιείται η εξατομικευμένη βιοϊσοδυναμία, η οποία απαιτεί τη γνώση των ενδοατομικών μεταβλητοτήτων και των δύο σκευασμάτων, R και T (CDER, 2001). Μπορούν όμως να εφαρμοστούν και στις περιπτώσεις της μέσης και της πληθυσμιακής βιοϊσοδυναμίας. Ένα άλλο πλεονέκτημα που εμφανίζουν είναι ότι απαιτούν μικρότερο αριθμό εθελοντών έως και 50% σε σχέση με τον τυπικό 2 x 2 διασταυρωτό σχεδιασμό (CDER, 2003; Shah et al., 1996).

iii. Σχεδιασμοί δύο σταδίων (*two-stage designs*)

Επίσης δίνεται η δυνατότητα σχεδιασμού μελετών βιοϊσοδυναμίας που περιλαμβάνουν δύο στάδια (Shih, 2006). Κατά το πρώτο στάδιο, διενεργείται η μελέτη με έναν αριθμό εθελοντών και εάν πληρούνται τα κριτήρια βιοϊσοδυναμίας η μελέτη τερματίζεται με επιτυχία. Στην αντίθετη περίπτωση, λαμβάνει μέρος το δεύτερο στάδιο με την επανεκτίμηση του αριθμού των εθελοντών και τη συμπερίληψη επιπλέον ατόμων. Τα δεδομένα και από τα δύο στάδια αναλύονται κατάλληλα. Θα πρέπει η σχεδίαση να λαμβάνει μέριμνα ώστε να διατηρείται το επίπεδο σημαντικότητας 5% και να μην αυξάνεται το σφάλμα τύπου I περισσότερο από 5% (Pocock, 1978).

β. Εθελοντές

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κατά τη σχεδίαση της μελέτης βιοϊσοδυναμίας μία κρίσιμη παράμετρος είναι η επιλογή του αριθμού των εθελοντών. Είναι απαραίτητη η συμμετοχή ενός τέτοιου αριθμού ώστε να μπορεί να αποδειχθεί η βιοϊσοδυναμία όταν όντως υπάρχει, επιτυγχάνοντας στατιστική ισχύ τουλάχιστον 80% και μειώνοντας τον κίνδυνο για τον παραγωγό (σφάλμα τύπου II, $\beta < 20\%$). Από την άλλη πλευρά θα πρέπει να αποφευχθεί η έκθεση μεγάλου αριθμού εθελοντών στο φάρμακο, όταν αυτό δεν είναι απαραίτητο, για ηθικούς λόγους και λόγω κόστους. Επίσης το πλήθος των εθελοντών εξαρτάται από το επίπεδο σημαντικότητας που ορίζεται σε 5%, από τα όρια βιοϊσοδυναμίας, τον κλινικό σχεδιασμό της μελέτης, τη διαφορά των σκευασμάτων R και T και από την υπολειπόμενη μεταβλητότητα. Ο ελάχιστος αριθμός που έχει οριστεί είναι οι δώδεκα εθελοντές, αλλά παράλληλα οφείλεται να γίνει πρόβλεψη για πιθανή απόσυρση κάποιων εθελοντών (CDER, 2001; CHMP, 2010).

Επίσης βαρύτητα δίνεται στην επιλογή των εθελοντών (CHMP, 2010). Για να μειωθεί η μεταβλητότητα προτιμώνται υγιείς εθελοντές, εκτός αν παρουσιάζονται σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Επίσης προτιμώνται οι μη καπνιστές, με απουσία ιστορικού κατάχρησης αλκοόλ ή φαρμάκων και με δείκτη μάζας σώματος εντός των ορίων 18.5 έως 30 Kg/m². Συμμετέχουν άτομα και των δύο φύλων ηλικίας 18 έως 55 ετών, αλλά με μέριμνα για τις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας με πιθανότητα εγκυμοσύνης.

γ. Αριθμός των δόσεων

Μία άλλη παράμετρος που πρέπει να εξετάζεται κατά τη σχεδίαση των μελετών βιοϊσοδυναμίας είναι ο αριθμός των δόσεων. Γενικά συστήνονται οι μελέτες απλής χορήγησης (single dose studies), στις οποίες το κάθε σκεύασμα χορηγείται μία και μόνο φορά σε κάθε περίοδο χορήγησης στους εθελοντές (CDER, 2003; CHMP, 2010). Η πρόταση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανίχνευση διαφορών κατά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή και την εμφάνισή της στο αίμα.

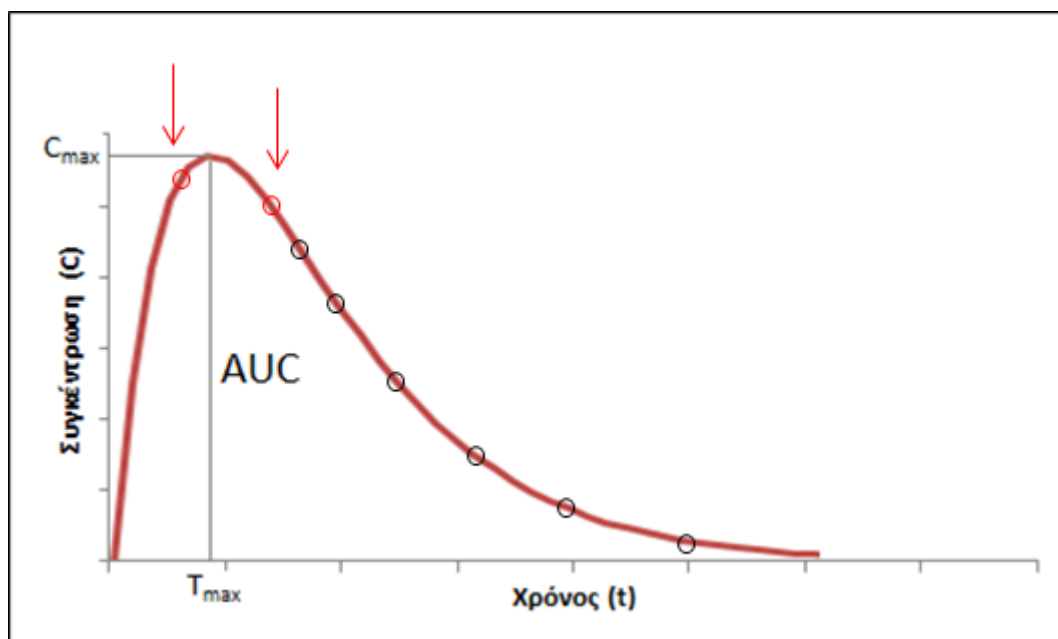
Παρόλα αυτά σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί η σχεδίαση μίας μελέτης πολλαπλών δόσεων (multiple dose study) να εμφανίζει πλεονεκτήματα. Σε αυτές τις μελέτες προβλέπονται πολλαπλές δόσεις των δύο σκευασμάτων ανά περίοδο χορήγησης. Όταν εφαρμόζονται θα πρέπει να εξασφαλίζεται ότι έχει επιτευχθεί η σταθεροποιημένη κατάσταση. Όσον αφορά την περίοδο έκπλυσης, αυτή μπορεί να αλληλεπικαλύπτεται με την χορήγηση του επόμενου σκευάσματος, εφόσον ο χρόνος για την επίτευξη της σταθεροποιημένης κατάστασης είναι τουλάχιστον πέντε χρόνοι ημιζωής.

Μία εφαρμογή τους είναι στα φάρμακα HVD. Ο λόγος είναι ότι η μεταβλητότητα των παραμέτρων συνήθως είναι μικρότερη μετά την πολλαπλή χορήγηση δόσεων σε σχέση με την απλή χορήγηση (El-Tahtawy et al., 1995, 1994; Jackson, 1987). Επίσης μπορεί να είναι απαραίτητη στην περίπτωση που δεν είναι δυνατή η μελέτη απλής χορήγησης σε υγιείς εθελοντές για λόγους ασφάλειας, ενώ παράλληλα δεν είναι εφικτή μία μελέτη απλής χορήγησης σε ασθενείς (CHMP, 2010). Επιπροσθέτως υπάρχει η περίπτωση ανεπαρκούς ευαισθησίας της αναλυτικής μεθόδου, ώστε να μην είναι εφικτός ο ακριβής υπολογισμός της συγκέντρωσης στο πλάσμα της δραστικής ουσίας μετά από απλή χορήγηση. Εάν η συγκέντρωση που επιτυγχάνεται μετά από πολλαπλή χορήγηση είναι επαρκής, τότε μπορεί να βρει εφαρμογή η μελέτη πολλαπλών δόσεων, αν και είναι λιγότερο ευαίσθητη στην ανίχνευση διαφορών της C_{max} . Αυτές οι περιπτώσεις όμως περιορίζονται λόγω της ανάπτυξης της βιοαναλυτικής μεθοδολογίας. Έχει προταθεί ακόμη από τον FDA η χρήση των μελετών πολλαπλών δόσεων όταν υπάρχει διαφορά στο ρυθμό, αλλά όχι στην έκταση της απορρόφησης (CDER, 2014). Τέλος, οι μελέτες πολλαπλών δόσεων βρίσκουν εφαρμογή στα σκεύασμα τροποποιημένης αποδέσμευσης που υπάρχει πιθανότητα συσσώρευσης, δηλαδή όταν το $AUC_{0-\tau}$ μετά από μία δόση είναι λιγότερο από το 90% του μέσου $AUC_{0-\infty}$ (CHMP, 2014).

δ. Σχήμα δειγματοληψίας

Κατά τη σχεδίαση των μελετών βιοϊσοδυναμίας ιδιαίτερα κρίσιμος είναι ο καθορισμός των χρονικών στιγμών κατά τις οποίες θα γίνεται η λήψη των δειγμάτων από τους εθελοντές. Η ορθή επιλογή των χρόνων δειγματοληψίας θα επιτρέψει το σωστό υπολογισμό των φαρμακοκινητικών παραμέτρων για την περιγραφή της μεταβολής της συγκέντρωσης έως την πλήρη απομάκρυνση από τον οργανισμό. Απαιτείται λοιπόν επαρκής αριθμός δειγμάτων ώστε να χαρακτηριστεί ικανοποιητικά το προφίλ συγκέντρωσης - χρόνου. Μία πιλοτική μελέτη πριν τη διενέργεια της μελέτης βιοϊσοδυναμίας μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη στον κατάλληλο καθορισμό του δειγματοληπτικού σχήματος.

Αρχικά είναι πολύ σημαντικό να αποφευχθεί το πρώτο σημείο του γραφήματος συγκέντρωσης - χρόνου να αντιστοιχεί στη C_{max} . Εάν συνέβαινε κάτι τέτοιο θα υπήρχε αμφιβολία κατά πόσον έχει προσεγγιστεί η πραγματική μέγιστη συγκέντρωση και ο αντίστοιχος χρόνος της, άρα η εκτίμηση αυτών των φαρμακοκινητικών παραμέτρων θα είναι αναξιόπιστη, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6. Σε αυτή την περίπτωση είναι πιθανό το πρώτο δείγμα να μην ανταποκρίνεται όντως στο σημείο (C_{max}, T_{max}) , αλλά να βρίσκεται στο γράφημα είτε αριστερά είτε δεξιά από αυτό. Έτσι θα γίνεται μικρότερη εκτίμηση για τη C_{max} , ενώ για την παράμετρο T_{max} θα γίνεται μικρότερη ή μεγαλύτερη εκτίμηση. Για να αποφευχθούν τέτοιου είδους σφάλματα, θα πρέπει να υπάρχει συχνή δειγματοληψία γύρω από τον προβλεπόμενο T_{max} και μία πιλοτική μελέτη μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμησή του. Επιπροσθέτως συνήθως είναι απαραίτητη μία δειγματοληψία μεταξύ πέντε και δεκαπέντε λεπτών μετά τη χορήγηση και ακόμη δύο έως πέντε δειγματοληψίες την πρώτη ώρα μετά τη χορήγηση κάθε σκευάσματος, ανάλογα με το ρυθμό απορρόφησης του φαρμάκου (CDER, 2003; CHMP, 2010).



Σχήμα 6. Παράδειγμα σχήματος δειγματοληψίας το οποίο δίνει αναξιόπιστη εκτίμηση των παραμέτρων C_{max} και T_{max} . Η καμπύλη του γραφήματος και οι ενδείξεις C_{max} και T_{max} , αντιστοιχούν στην πραγματικότητα. Οι μαύροι κύκλοι δείχνουν τα σημεία που αντιστοιχούν τα δείγματα 2,3,4 κ.λπ., ενώ οι κόκκινοι κύκλοι δείχνουν δύο πιθανά σημεία που έχουν επιλεγεί σε λάθος χρόνο για την πρώτη δειγματοληψία.

Από την άλλη πλευρά, θα πρέπει να δοθεί προσοχή ώστε το σχήμα δειγματοληψίας να επιτρέπει την αξιόπιστη εκτίμηση την έκτασης απορρόφησης. Όπως έχει αναφερθεί, το AUC_{0-T} υπολογιζόμενο έως το τελευταίο σημείο δειγματοληψίας πρέπει να είναι τουλάχιστον το 80% του εκτιμώμενου $AUC_{0-\infty}$. Άρα θα πρέπει να έχουν προβλεφθεί δειγματοληψίες για αρκετό χρόνο μετά τη χορήγηση (CHMP, 2010), ενώ ο FDA προτείνει διάρκεια τριών ή περισσότερων χρόνων ημιζωής της δραστικής ουσίας (CDER, 2003). Έχει προταθεί η διάρκεια να είναι τέτοια ώστε να καλυφθεί το 90% του $AUC_{0-\infty}$ (CDER, 2014). Ο EMA δίνει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης του AUC_{0-72} για την εκτίμηση της έκτασης απορρόφησης των σκευασμάτων άμεσης αποδέσμευσης, ενώ ο FDA για τα σκευάσματα χαμηλής ενδοατομικής μεταβλητότητας, οπότε διάρκεια δειγματοληψίας 72 ωρών θεωρείται αρκετή.

Επιπλέον για την ορθή εκτίμηση της παραμέτρου $AUC_{0-\infty}$, σύμφωνα με τις σχέσεις 3 και 4, απαιτείται ο ακριβής υπολογισμός της σταθεράς λ_z του ρυθμού απομάκρυνσης της

τελευταίας φάσης, καθώς εμφανίζει ευαισθησία στη διακύμανση της τιμής της τελευταίας. Η σταθερά αυτή υπολογίζεται από την κλίση του τελευταίου ευθύγραμμου τμήματος του γραφήματος σε ημλογαριθμική κλίμακα, οπότε απαιτούνται τουλάχιστον τρία με τέσσερα σημεία σε αυτό το τμήμα ώστε να είναι αξιόπιστος ο υπολογισμός της (CDER, 2003; CHMP, 2010).

Στην περίπτωση των μελετών πολλαπλών δόσεων η έκταση απορρόφησης περιγράφεται από την παράμετρο $AUC_{0-\tau}$ και θα πρέπει αυτή να υπολογίζεται με ακρίβεια. Οπότε θα πρέπει ένα δείγμα να λαμβάνεται το πολύ πέντε λεπτά πριν τη δόση και το τελευταίο δείγμα να λαμβάνεται το πολύ δέκα λεπτά από τον ονομαστικό χρόνο του μεσοδιαστήματος χορήγησης (CHMP, 2010). Κατά τον προσδιορισμό ενδογενών ουσιών, απαιτείται ο προσδιορισμός της γραμμής βάσης της ενδογενούς συγκέντρωσης. Αυτό συνήθως επιτυγχάνεται με δύο έως τρία δείγματα πριν τη χορήγηση, εκτός εάν παρατηρούνται μεταβολές της συγκέντρωσης λόγω του κικκάδιου ρυθμού, οπότε θα απαιτηθεί δειγματοληψία μίας με δύο ημερών πριν τη δόση (CHMP, 2010).

Ως γενικός κανόνας προτείνεται η λήψη δώδεκα με δεκαοχτώ δειγμάτων από τον FDA εκ των οποίων το ένα να αποτελεί το δείγμα πριν τη χορήγηση (CDER, 2003). Τέλος θα πρέπει να σημειωθεί ότι το σχήμα δειγματοληψίας θα πρέπει να είναι κοινό για τα δύο σκευάσματα, για κάθε περίοδο χορήγησης και για όλους τους εθελοντές.

5. Σκοπός της μελέτης

Όπως έχει διαφανεί από την έως τώρα παρουσίαση, κατά τη σχεδίαση των μελετών βιοϊσοδυναμίας υπάρχουν διάφορες παράμετροι που θα πρέπει να οριστούν με τον καταλληλότερο κάθε φορά τρόπο, ώστε τα αποτελέσματα στα οποία καταλήγουν να είναι αξιόπιστα. Παράλληλα αυτό είναι απαραίτητο από τη μία πλευρά για λόγους ηθικής και από την άλλη για λόγους κόστους. Έτσι θα εξασφαλιστεί η μικρότερη δυνατή έκθεση των εθελοντών στο φάρμακο, αλλά και η έκθεση όσο το δυνατόν λιγότερων εθελοντών, χωρίς όμως να καθίστανται τα αποτελέσματα αμφίβολα και αναξιόπιστα. Για παράδειγμα, πολλοί χρόνοι δειγματοληψίας αυξάνουν το κόστος και τις εργατοώρες του αναλυτικού εργαστηρίου και καθιστούν πιο δύσκολη την εξεύρεση εθελοντών και τη συμμόρφωσή τους, ενώ λίγοι χρόνοι δεν είναι κατάλληλοι για αξιόπιστα αποτελέσματα.

Η παρούσα μελέτη ασχολείται με τη διερεύνηση των δυνατοτήτων ευελιξίας όσον αφορά την επιλογή του κλινικού σχεδιασμού καθώς και του δειγματοληπτικού σχήματος

της μελέτης βιοϊσοδυναμίας. Συγκεκριμένα θα εξεταστεί η επίδραση στο αποτέλεσμα της μελέτης λιγότερο πυκνών και πιο σύντομων σχημάτων δειγματοληψίας ξεχωριστά. Στην περίπτωση της πυκνότητας του σχήματος θα δοθεί έμφαση στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της δειγματοληψίας. Επίσης, θα εξεταστεί και ο συνδυασμός των δύο παραπάνω επεμβάσεων. Στη συνέχεια θα ερευνηθεί η επίδραση που θα έχει η αλλαγή του κλινικού σχεδιασμού της μελέτης από τον τυπικό διασταυρωτό σε παράλληλο σχεδιασμό και επιπλέον η επίδραση της αλλαγής αυτής σε συνδυασμό με παράλληλες τροποποιήσεις του σχήματος δειγματοληψίας, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

B. ΜΕΘΟΔΟΙ

Καθώς ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι να διερευνηθεί η επίδραση που έχουν διάφορες αλλαγές στη σχεδίαση των μελετών βιοϊσοδυναμίας και όπως καθορίστηκε αλλαγές στο σχήμα δειγματοληψίας και στον κλινικό σχεδιασμό, απαιτείται η χρήση μίας μελέτης βιοϊσοδυναμίας. Συγκεκριμένα, απαιτείται η χρησιμοποίηση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων συγκέντρωσης πλάσματος σε κάθε εθελοντή κάποιας δραστικής ουσίας κατόπιν χορήγησης ενός σκευάσματος αναφοράς και ενός υπό έλεγχο σκευάσματος στα πλαίσια της σχετικής μελέτης.

Τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων θα δώσουν τη δυνατότητα τροποποίησης κάθε φορά, ανάλογα με τους σκοπούς της παρούσας έρευνας, του πλήθους των δειγμάτων που θα λαμβάνονται υπόψη καθώς και της διασποράς στο χρόνο των χρόνων δειγματοληψίας που απομένουν. Όσον αφορά την επίδραση του κλινικού σχεδιασμού της μελέτης, θα πρέπει η μελέτη που θα χρησιμοποιηθεί να είναι διασταυρωτού σχεδιασμού, ώστε αγνοώντας τις μετρήσεις της μίας από τις δύο περιόδους χορήγησης σε κάθε εθελοντή να εκπίπτει σε μελέτη παράλληλου σχεδιασμού. Το αντίθετο θα ήταν αδύνατο, καθώς δε θα μπορούσαν τα αποτελέσματα των μετρήσεων κατόπιν χορήγησης του ενός σκευάσματος να αναγεννήσουν τα αποτελέσματα που θα έδινε πιθανή χορήγηση του δεύτερου σκευάσματος σε κάθε εθελοντή. Στη συνέχεια, έχοντας το τροποποιημένο σύνολο των αποτελεσμάτων, θα υπολογίζεται η υπολειπόμενη διασπορά (Residual Variance) ή μέσο τετράγωνο σφάλματος (MSE) και η ισχύς (Power) για τις βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους και θα εξετάζεται η επίδραση σε αυτά τα στατιστικά μέτρα των τροποποιήσεων που έγιναν.

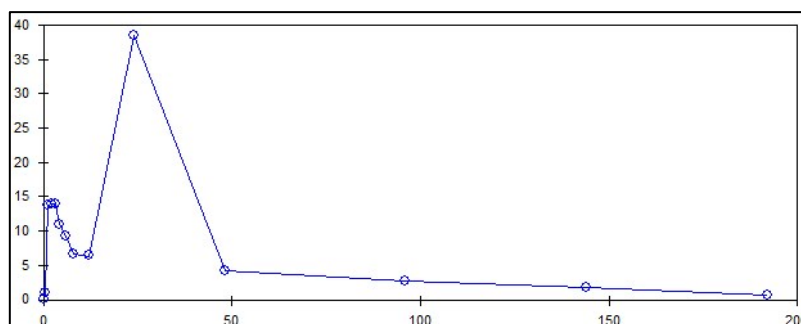
Η μελέτη βιοϊσοδυναμίας που θα χρησιμοποιηθεί αφορά τη δραστική ουσία donepezil (donepezil), η οποία βρίσκει εφαρμογή στην άνοια που οφείλεται στη νόσο Alzheimer. Η νόσος Alzheimer είναι η πιο κοινή αιτία της άνοιας (Harper, Johnston, Landefeld, 2019). Είναι νευροεκφυλιστική νόσος που χαρακτηρίζεται στις περισσότερες περιπτώσεις από διαταραχή της βραχυπρόθεσμης μνήμης και διαφόρου βαθμού διαταραχές της λειτουργικότητας, της ομιλίας και της οπτικοχωρικής αντίληψης (Douglas, Aminoff, 2019). Η φαρμακευτική αγωγή αποσκοπεί στον έλεγχο των νοητικών, συμπεριφορικών και ψυχολογικών συμπτωμάτων της νόσου, καθώς επίσης και στην καθυστέρηση της εξέλιξης των νοητικών συμπτωμάτων, αφού καμία ουσία έως σήμερα δε σταματά την εκφύλιση του νευρικού συστήματος, ούτε αντιστρέφει τη νόσο (Πολίτης,

Κατριτζόγλου, Μούγιας; Kasper et al., 2016). Για την αντιμετώπιση των νοητικών συμπτωμάτων χρησιμοποιούνται οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (δονεπεζίλη, γαλανταμίνη, ριβαστιγμίνη), η μεμαντίνη (ανταγωνιστής του γλουταμινικού υποδοχέα NMDA – N-μεθυλ-D-ασπαραγινικό) και το φυτικό σκεύασμα *Ginkgo biloba*.

Οι αναστρέψιμοι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) παρεμποδίζουν τη διάσπαση της ακετυλοχολίνης και έτσι αυξάνουν τα επίπεδά της και ενισχύουν τη μειωμένη χολινεργική μετάδοση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Παρουσιάζουν σχετική εκλεκτικότητα όσον αφορά τη δράση τους στο ΚΝΣ σε σχέση με την περιφέρεια του οργανισμού. Εμφανίζουν μέτρια δράση και χρησιμοποιούνται σε ήπια έως μέτρια νόσο. Οι ανεπιθύμητες ενέργειές τους περιλαμβάνουν διάρροια, ναυτία, ανορεξία, απώλεια βάρους και συγκοπή. Θα πρέπει να διακόπτονται απουσία εμφανούς οφέλους. Η δονεπεζίλη έχει το πλεονέκτημα των λίγων ανεπιθύμητων ενεργειών και της χορήγησης άπαξ ημερησίως. Η αρχική δόση είναι 5 mg x 1 και η δόση στόχος είναι 10 mg x 1. Από την άλλη πλευρά, η μεμαντίνη χρησιμοποιείται για μέτρια έως σοβαρή νόσο. Δεν τεκμηριώνεται ωφέλεια από την προσθήκη μεμαντίνης σε έναν αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης.

1. Σχεδιασμός της Μελέτης Βιοϊσοδυναμίας

Η συγκεκριμένη μελέτη έχει σχεδιαστεί σύμφωνα με τον τυχαίοποιημένο διασταυρωτό σχεδιασμό δύο περιόδων και δύο σειρών χορήγησης (2 x 2), ο οποίος είναι και ο συνηθέστερα εφαρμοζόμενος. Το υπό έλεγχο σκεύασμα (T) της δραστικής ουσίας είναι το Donepezil/Verisfield, το οποίο συγκρίνεται με το σκεύασμα αναφοράς (R) Aricept®/Pfizer. Τα δύο σκευάσματα R και T χορηγήθηκαν στη δόση των 10 mg. Στη μελέτη συμμετείχαν τριάντα εθελοντές, ενώ από την παρούσα έρευνα εξαιρείται ο εθελοντής με αριθμό τέσσερα (4), ο οποίος συμμετέχει στην πρώτη σειρά χορήγησης, διότι κατά την πρώτη περίοδο - μετά τη χορήγηση του σκευάσματος R και στο δείγμα που αντιστοιχεί σε χρόνο 24 ώρες από τη χορήγησή του μετρήθηκε ανεξήγητα μεγάλη συγκέντρωση (38.5 ng/ml). Εάν γινόταν αποδεκτή ως σωστή αυτή η μέτρηση, θα αποτελούσε τη C_{max} . Η προηγούμενη και η επόμενη μέτρηση που αντιστοιχούν σε χρόνους 12 και 48 ώρες μετά τη χορήγηση αντίστοιχα (6.36 και 4.27 ng/ml) ακολουθούν τη φυσιολογική πορεία μείωσης μετά την αποδεχόμενη ως μέγιστη συγκέντρωση που παρατηρείται σε χρόνους 2 και 3 ώρες (14 ng/ml) και διαφέρουν αισθητά από την προηγούμενη μέτρηση που πιθανότητα οφείλεται σε σφάλμα μέτρησης (Σχήμα 7). Οι παραπάνω χρόνοι βρίσκονται σε συμφωνία με τους χρόνους T_{max} των υπολοίπων εθελοντών που κυμαίνονται από 1 έως 6 ώρες.



Σχήμα 7. Γράφημα συγκέντρωσης - χρόνου του εθελοντή 4 για την πρώτη περίοδο χορήγησης. Παρατηρείται η ανεξήγητα μεγάλη μέτρηση στις 24 ώρες που οφείλεται σε σφάλμα.

Οι εθελοντές που έλαβαν μέρος στη μελέτη ήταν άντρες και γυναίκες, καυκάσιοι και ηλικίας 21 έως 45 ετών. Επίσης ήταν μη καπνιστές και καλής φυσικής κατάστασης. Επειδή πρόκειται για μελέτη βιοϊσοδυναμίας, δε μελετήθηκαν η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια, όμως έγινε ο κλινικός έλεγχος ρουτίνας πριν και μετά τη χορήγηση των σκευασμάτων, όπως καρδιακός έλεγχος, μέτρηση βάρους, ύψους, , αρτηριακής πίεσης, παλμών κ.λπ.

Οι εθελοντές κατανεμήθηκαν με τυχαίο τρόπο σε δύο ομάδες, μία για κάθε σειρά χορήγησης. Την ημέρα 1 χορηγήθηκε από του στόματος μία δόση σε κάθε εθελοντή, είτε του σκευάσματος R είτε του T, ανάλογα με τη σειρά χορήγησης. Στη συνέχεια λαμβάνονταν δείγματα έως την ημέρα 8. Μετά την πρώτη περίοδο, ακολούθησε μία περίοδος έκπλυσης έως την ημέρα 29. Με δεδομένο ότι ο χρόνος ημιζωής της δονεπεζίλης είναι 59.7 ± 16.1 ώρες (Ohnishi et al., 1993), η διάρκεια είκοσι οκτώ ημερών της περιόδου έκπλυσης θεωρείται αρκετή. Στη συνέχεια ακολούθησε η δεύτερη περίοδος με τη χορήγηση την ημέρα 29 από του στόματος και πάλι μίας δόσης των 10 mg του έτερου όμως σκευάσματος, ώστε στο τέλος της μελέτης κάθε εθελοντής να έχει λάβει και τα δύο σκευάσματα. Όπως και στην πρώτη περίοδο, η περίοδος δειγματοληψίας διήρκεσε οκτώ ημέρες, έως την ημέρα 36.

Όσον αφορά το σχήμα δειγματοληψίας, τα δείγματα λαμβάνονταν σε προκαθορισμένους χρόνους. Συγκεκριμένα λήφθηκαν δείγματα κατά τους χρόνους 0.0 (πριν τη χορήγηση της δόσης) και σε 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 96, 144, 192 ώρες μετά την κάθε χορήγηση, δηλαδή πανομοιότυπο δειγματοληπτικό σχήμα για τις δύο περιόδους. Συνολικά δηλαδή λήφθηκαν 14 δείγματα αίματος για κάθε εθελοντή σε κάθε περίοδο

χορήγησης. Τα δείγματα για την μέτρηση της συγκέντρωσης της δονεπεζίλης ήταν όγκου 4 ml, ενώ για τη διενέργεια των εργαστηριακών εξετάσεων ήταν όγκου 10 ml. Συγκεντρωτικά κατά τη διάρκεια της μελέτης λήφθηκαν από κάθε εθελοντή 132 ml αίματος (2 x 10 ml + 2 x 14 x 4 ml).

Τα δείγματα πλάσματος των εθελοντών τοποθετήθηκαν σε δοχεία όγκου 2.2 ml. Στη συνέχεια εκχυλίστηκε η δραστική ουσία από το πλάσμα με την τεχνική της εκχύλισης υγρού-υγρού και με οργανικό διαλύτη το εξάνιο. Στα διάφορα στάδια μεταφοράς και προετοιμασίας των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν ρομποτικοί μηχανισμοί διαχείρισης, ώστε τα δείγματα να προετοιμάζονται χωρίς καθυστερήσεις. Ακολούθως έγινε ανάδευση σε vortex, φυγοκέντρηση και κατάψυξη του δείγματος. Ο υπερκείμενος οργανικός διαλύτης εξατμίστηκε και ελήφθη τελικά το διάλυμα ανασύστασης μικρού όγκου.

Στη συνέχεια για να προσδιοριστεί ποσοτικά η δονεπεζίλη χρησιμοποιήθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σε σύζευξη με φασματοσκοπία μάζας (liquid chromatography / tandem mass spectrometry, LC-MS/MS). Συγκεκριμένα τα δείγματα αναλύθηκαν με LC-MS/MS αντίστροφης φάσης με ιοντισμό ηλεκτροψεκασμού θετικού ιόντος και με τη χρήση της τεχνικής παρακολούθησης πολλαπλών αντιδράσεων (multiple reaction monitoring, MRM). Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν C18, ο ρυθμός ροής του διαλύτη 0.7 ml/min και ο χρόνος διαπέρασης της στήλης ορίστηκε σε 2 λεπτά.

Σχεδιάστηκε η καμπύλη αναφοράς και εξακριβώθηκε η γραμμικότητά της για εύρος συγκεντρώσεων 0.1 έως 100 ng/ml, ενώ το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation - LoQ) για την αναλυόμενη ουσία δονεπεζίλη στην στήλη της LC-MS/MS ήταν η συγκέντρωση 0.1 ng/ml. Η μέθοδος της εκχύλισης, που περιγράφηκε, επικυρώθηκε και εφαρμόστηκε για τον αξιόπιστο ποσοτικό προσδιορισμό της δονεπεζίλης στην μελέτη βιοϊσοδυναμίας. Επιπλέον, η αναλυτική μέθοδος εμφάνισε υψηλή ευαισθησία, ειδικότητα, ακρίβεια και ταχύτητα.

2. Μεθοδολογία της Έρευνας

Κατά τη διενέργεια της παρούσας έρευνας χρησιμοποιούνται τα δεδομένα συγκέντρωσης - χρόνου της ανωτέρω περιγραφείσας μελέτης βιοϊσοδυναμίας της δονεπεζίλης και επιπλέον θα χρησιμοποιηθεί το πρόγραμμα WinNonlin στην έκδοση 5.0.1. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα βρίσκει εφαρμογή στη μη διαμερισματική ανάλυση (Non-

Compartmental Analysis - NCA) και στη φαρμακοκινητική/φαρμακοδυναμική (pharmacokinetic/pharmacodynamic - PK/PD) μοντελοποίηση και προσομοίωση.

Σύμφωνα με το σκοπό της έρευνας, αρχικά θα μελετηθεί η επίδραση που θα έχει ένα πιο αραιό σχήμα δειγματοληψίας στα αποτελέσματα της μελέτης βιοϊσοδυναμίας (Πίνακας 1, περίπτωση Α). Πιο συγκεκριμένα θα αφαιρούνται διάφοροι χρόνοι δειγματοληψίας και οι συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν σε αυτούς από το σύνολο των δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου, για όλους τους εθελοντές και για τις δύο περιόδους χορήγησης. Στη συνέχεια, το νέο σύνολο δεδομένων που θα δημιουργείται από την παραπάνω μέθοδο, θα επεξεργάζεται και θα αναλύεται με το πρόγραμμα WinNonlin, ώστε τα αποτελέσματά του να συγκρίνονται με εκείνα του αρχικού και πλήρους συνόλου δεδομένων, αλλά και με εκείνα που θα προκύπτουν από τις επόμενες τροποποιήσεις.

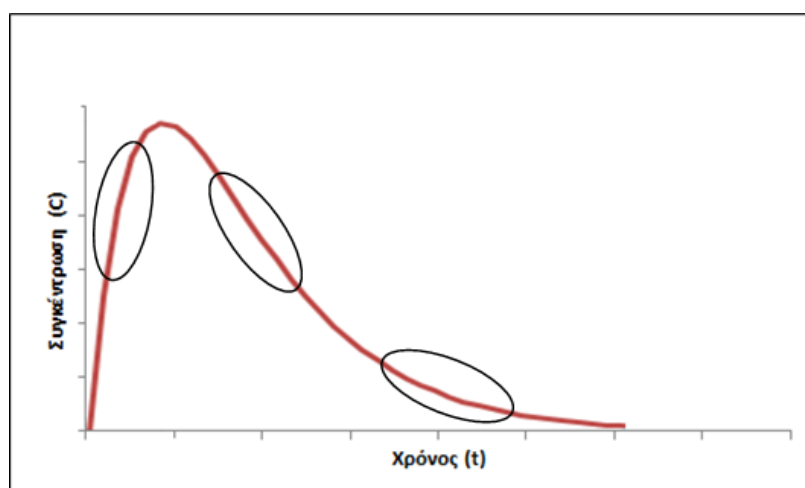
Πίνακας 1. Συγκεντρωτικά οι παρεμβάσεις που θα διενεργηθούν για τη διερεύνηση των επιδράσεών τους στα αποτελέσματα της μελέτης βιοϊσοδυναμίας.

<u>Είδος Παρέμβασης</u>	<u>Περιγραφή</u>
Α. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας	Αφαίρεση σημείων για πιο αραιό σχήμα:
-1. έμφαση σε αρχικούς χρόνους	- αρχικών σημείων
-2. έμφαση σε ενδιάμεσους χρόνους	- ενδιάμεσων σημείων
-3. έμφαση σε τελικούς χρόνους	- τελικών σημείων
Β. Διάρκεια σχήματος δειγματοληψίας	Αφαίρεση σημείων για πιο σύντομο σχήμα
Γ. Πυκνότητα και διάρκεια σχήματος	Αφαίρεση συνεχών τελικών σημείων και:
-1. πιο αραιό στην αρχή και πιο σύντομο	- αρχικών σημείων
-2. πιο αραιό και πιο σύντομο	- ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους
Δ. Κλινικός σχεδιασμός	Προσομοίωση παράλληλου σχεδιασμού
Ε. Συνδυασμός παράλληλου σχεδιασμού με όλες τις παραπάνω παρεμβάσεις	Συνδυάζονται οι παραπάνω τεχνικές

Η αρχή θα γίνει αφαιρώντας δύο ζεύγη δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου, ακολούθως τρία ζεύγη, τέσσερα και ούτω καθεξής, μέχρι και την αφαίρεση έντεκα ζευγών. Η αφαίρεση ενός μόνο ζεύγους από τα δεκατέσσερα δεν αναμένεται να επηρεάσει

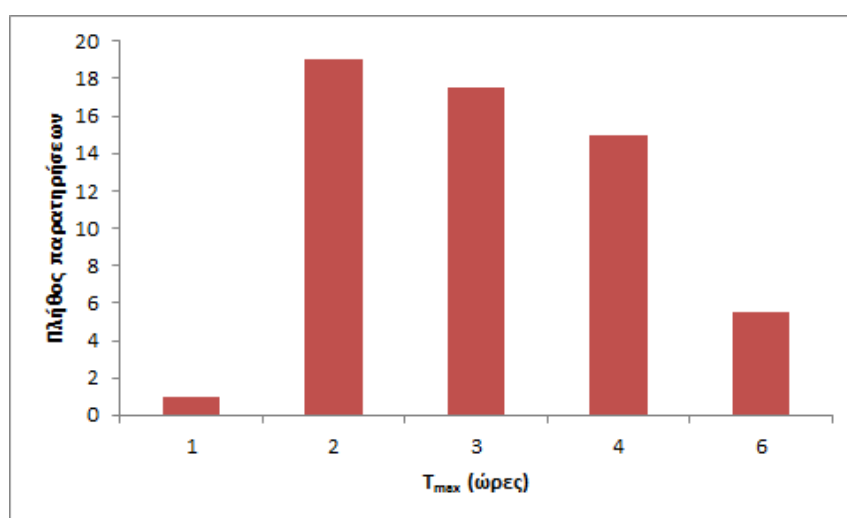
ιδιαίτερα τα αποτελέσματα και δε θα εφαρμοστεί. Σε όλες τις περιπτώσεις το ζεύγος που αντιστοιχεί σε χρόνο 0 ώρες, δηλαδή πριν τη χορήγηση των σκευασμάτων, ήταν όπως αναμενόταν το (0,0), δηλαδή μηδενικής συγκέντρωσης. Κατά την αφαίρεση διάφορων ζευγών πάντα θα διατηρείται το ζεύγος (0,0). Έτσι η αφαίρεση έντεκα ζευγών είναι η ακραία και δε θα είχε ουσία η αφαίρεση επιπλέον σημείων, καθώς από τα συνολικά δεκατέσσερα θα παραμένουν μόλις δύο αναφερόμενα σε χρόνους μετά τη χορήγηση των σκευασμάτων.

Όσον αφορά την κατανομή των χρόνων που θα επιλέγονται για αφαίρεση, θα ακολουθηθούν τρεις τακτικές. Για κάθε πλήθος αφαιρούμενων ζευγών δεδομένων, θα επιλέγεται η αφαίρεση σε αρχικούς χρόνους του δειγματοληπτικού σχήματος, σε μεσαίους χρόνους και σε τελικούς, όπως φαίνεται στο Σχήμα 8 και περιγράφεται στον Πίνακα 1 (περιπτώσεις A.1,2,3). Πρέπει να αναφερθεί ότι θα γίνεται προσπάθεια, όσο αυτό επιτρέπεται από το πλήθος των αφαιρούμενων ζευγών, να μην αφαιρούνται δεδομένα δύο συνεχόμενων χρόνων δειγματοληψίας, καθώς αυτό θα δημιουργούσε σημαντικά κενά στο χρόνο και δε θα ήταν ορθή ή και πιθανή η εξαρχής σχεδίαση ενός τέτοιου δειγματοληπτικού σχήματος. Είναι αναμενόμενο ότι όσο θα αυξάνεται το πλήθος των αφαιρούμενων ζευγών, κάποια στιγμή οι τρεις τακτικές θα δώσουν ένα σύνολο δεδομένων με χρόνους που θα κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλο το δειγματοληπτικό σχήμα. Από αυτό το σημείο και μετέπειτα θα δημιουργούνται κενά από την αφαίρεση συνεχόμενων χρόνων δειγματοληψίας, τα οποία θα τοποθετούνται και πάλι σε αρχικούς, μεσαίους και τελικούς χρόνους αντίστοιχα, ώστε οι τρεις τακτικές να δίνουν διαφορετικά σύνολα δεδομένων.



Σχήμα 8. Τυπικό γράφημα συγκέντρωσης - χρόνου στο οποίο επισημαίνονται με μαύρες ελλείψεις οι αρχικοί, μεσαίοι και τελικοί χρόνοι ενός δειγματοληπτικού σχήματος που θα αφαιρούνται και σε ποια σημεία της καμπύλης αντιστοιχούν.

Παρατηρείται σύμφωνα με το Σχήμα 9, ότι ο T_{\max} στις 58 ομάδες δεδομένων, για τους είκοσι εννέα εθελοντές στις δύο περιόδους χορήγησης, εμφανίζει μία ευρεία κατανομή με σχεδόν ίσο αριθμό παρατηρήσεων στους χρόνους 2, 3 και 4 ώρες μετά τη χορήγηση. Αυτό το γεγονός είναι θετικό, καθώς στην αντίθετη περίπτωση, που οι περισσότεροι T_{\max} συνέπιπταν σε ένα συγκεκριμένο χρόνο δειγματοληψίας, η αφαίρεση του συγκεκριμένου ζεύγους δεδομένων αναμένεται να επηρέαζε σημαντικά τα αποτελέσματα. Τέλος, επισημαίνεται ότι η επιλογή των ζευγών τα οποία θα αφαιρούνται, θα γίνεται με κριτήριο τη σειρά τους, που προκύπτει από τις αυξανόμενες τιμές των χρόνων δειγματοληψίας.



Σχήμα 9. Κατανομή του αριθμού των παρατηρήσεων του T_{\max} για τις 58 διαφορετικές ομάδες δεδομένων.

Αφού ολοκληρωθεί το πρώτο στάδιο της έρευνας με τη μελέτη της επίδρασης ενός πιο αραιού σχήματος δειγματοληψίας, όσον αφορά τους αρχικούς, τους μεσαίους και τους τελικούς του χρόνου, στα αποτελέσματα της μελέτης βιοϊσοδυναμίας, όπως περιγράφηκε παραπάνω, θα ακολουθήσει η διερεύνηση της επίδρασης της διάρκειας του δειγματοληπτικού σχήματος στα αποτελέσματα (Πίνακας 1, περίπτωση Β).

Αυτό θα επιτευχθεί με τη δημιουργία συνόλου δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου τα οποία θα περιγράφουν πιο σύντομα σχήματα δειγματοληψίας. Αρχικά θα αφαιρεθεί το τελευταίο ζεύγος δεδομένων, το οποίο αντιστοιχεί σε χρόνο 192 ώρες ή 8 ημέρες μετά τη χορήγηση του εκάστοτε σκευάσματος. Στη συνέχεια θα αφαιρεθούν συνεχόμενα από το τέλος δύο ζεύγη, τρία και ούτω καθεξής, μέχρι και οκτώ ζεύγη και με την προϋπόθεση ότι

ήδη με αφαίρεση μικρότερου αριθμού ζευγών απορρίπτεται η βιοϊσοδυναμία των δύο σκευασμάτων. Στην τελευταία και ακραία περίπτωση δηλαδή, το σχήμα δειγματοληψίας θα είναι ιδιαίτερα σύντομο με διάρκεια μόλις τεσσάρων ωρών και για κάποιες ομάδες δεδομένων θα χάνεται η C_{max} , διότι όπως φαίνεται και από το Σχήμα 9 σε κάποιες περιπτώσεις ο T_{max} είναι 6 ώρες, άρα δε θα έχει ολοκληρωθεί η απορρόφηση της δονεπεζίλης.

Κατόπιν της διενέργειας του δεύτερου σταδίου, θα διερευνηθεί η επίδραση στα αποτελέσματα των δύο παραπάνω παρεμβάσεων ταυτόχρονα. Θα εξεταστούν δηλαδή πιο σύντομα και παράλληλα πιο αραιά δειγματοληπτικά σχήματα (Πίνακας 1, περίπτωση Γ).

Η μεθοδολογία που θα ακολουθηθεί για τη δημιουργία των αντίστοιχων συνόλων δεδομένων, θα περιλαμβάνει αρχικά την αφαίρεση του τελευταίου ζεύγους τιμών (για τη δημιουργία συντομότερου σχήματος) και παράλληλα την αφαίρεση δύο ενδιάμεσων ζευγών (για την ταυτόχρονη δημιουργία πιο αραιού σχήματος). Όσον αφορά τα δύο ενδιάμεσα ζεύγη δεδομένων, θα αφαιρεθούν έως πέντε ζεύγη, ενώ θα ακολουθηθούν δύο τακτικές. Στη μία περίπτωση θα αφαιρούνται σε αρχικούς χρόνους και στη δεύτερη ομοιόμορφα από τους εναπομείναντες χρόνους (Πίνακας 1, περιπτώσεις Γ.1,2). Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, θα αποφεύγεται η αφαίρεση δύο συνεχόμενων ζευγών. Στη συνέχεια θα αφαιρούνται τα δύο τελευταία ζεύγη τιμών με παράλληλη αφαίρεση ενδιάμεσων ζευγών, όπως αναφέρθηκε μόλις, μέχρις ότου αφαιρεθεί και το πέμπτο ζεύγος από το τέλος και προκύψει ένα σχήμα διάρκειας μόλις 12 ωρών με ταυτόχρονη αφαίρεση επιπλέον πέντε ενδιάμεσων ζευγών, ώστε να περιλαμβάνει μόνο τρεις χρόνους δειγματοληψίας μετά τη χορήγηση των σκευασμάτων.

Στη συνέχεια και αφού θα έχει μελετηθεί η επίδραση των δύο αρχικών επεμβάσεων μεμονωμένα και συνδυαστικά, θα γίνει επέμβαση στον κλινικό σχεδιασμό της μελέτης βιοϊσοδυναμίας. Συγκεκριμένα θα επεξεργαστούν με τέτοιο τρόπο τα δεδομένα ώστε να μην περιγράφουν τον αρχικό διασταυρωτό σχεδιασμό δύο σειρών και δύο περιόδων χορήγησης, αλλά μία υποθετική μελέτη με παράλληλο σχεδιασμό (Πίνακας 1, περίπτωση Δ). Για να συμβεί αυτό θα διατηρηθούν τα δεδομένα της μίας μόνο περιόδου χορήγησης. Καθώς κατά τη δεύτερη περίοδο, οι εθελοντές έχουν ήδη εκτεθεί στη δράση ενός εκ των δύο σκευασμάτων της δραστικής ουσίας, θα προτιμηθούν τα δεδομένα της πρώτης περιόδου. Με αυτό τον τρόπο θα διατηρηθεί η όμοια με τον διασταυρωτό σχεδιασμό τυχαιοποιημένη κατανομή των εθελοντών σε δύο ομάδες, τα μέλη των οποίων θα έχουν λάβει είτε το σκεύασμα R είτε το T σε μία μόνο περίοδο χορήγησης.

Στο τέλος, θα διερευνηθεί η επίδραση της επέμβασης στον κλινικό σχεδιασμό παράλληλα με την επέμβαση στην πυκνότητα του σχήματος δειγματοληψίας, παράλληλα με τη διάρκεια του σχήματος και συνδυαστικά οι τρεις παραπάνω επεμβάσεις (Πίνακας 1, περίπτωση E). Αυτό θα επιτευχθεί συνδυάζοντας όλες τις παραπάνω περιγραφείσες μεθόδους αφαίρεσης δεδομένων. Συγκεκριμένα θα χρησιμοποιηθούν τα ίδια σύνολα δεδομένων που προέκυψαν από την αφαίρεση των παραπάνω επιλεγέντων χρόνων δειγματοληψίας για τη δημιουργία πιο αραιού και πιο σύντομου σχήματος και από αυτά θα αφαιρούνται τα δεδομένα της δεύτερης περιόδου χορήγησης, ώστε τελικά η σύγκριση να γίνει με βάση δεδομένα που προκύπτουν από πανομοιότυπα σχήματα όσον αφορά τους χρόνους δειγματοληψίας.

Η εξέταση της επίδρασης των επεμβάσεων θα γίνεται με τη βοήθεια του προγράμματος WinNonlin, στο οποίο θα εισάγονται τα εκάστοτε σύνολα δεδομένων. Έτσι θα υπολογίζονται οι βασικές φαρμακοκινητικές παράμετροι που προβλέπονται από τους υγειονομικούς οργανισμούς, δηλαδή η C_{max} , το AUC_t και το AUC_{inf} και επιπλέον ο T_{max} , η λ_z και ο αριθμός των σημείων που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της λ_z . Για τις κύριες φαρμακοκινητικές παραμέτρους θα εξάγονται οι τιμές τους και οι λογάριθμοι αυτών για τα σκευάσματα R και T, οι μέσες τιμές τους, η διαφορά τους, οι γεωμετρικοί μέσοι, ο λόγος τους, το ανώτερο και το κατώτερο όριο του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης, η υπολειπόμενη διασπορά και η ισχύς. Η μελέτη της επίδρασης των τροποποιήσεων θα γίνει χρησιμοποιώντας την υπολειπόμενη διασπορά και την ισχύ, ώστε να αξιολογηθούν τα αποτελέσματα των αλλαγών αυτών και να μπορέσουν να εξαχθούν αντίστοιχα συμπεράσματα.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως έχει αναφερθεί, ο σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας είναι να διερευνηθεί η δυνατότητα ευελιξίας στη σχεδίαση της μελέτης βιοϊσοδυναμίας, όσον αφορά την πυκνότητα και τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας καθώς και τον κλινικό σχεδιασμό της. Για να επιτευχθεί αυτό, χρησιμοποιούνται τα δεδομένα συγκέντρωσης - χρόνου της μελέτης βιοϊσοδυναμίας για τη δραστική ουσία δονεπεζίλη και τροποποιούνται ανάλογα, αφαιρώντας κατάλληλα ζεύγη τιμών.

Οι ομάδες των δεδομένων που προκύπτουν επεξεργάζονται με το πρόγραμμα WinNonlin και υπολογίζονται οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που προβλέπουν οι υγειονομικοί οργανισμοί για την περιγραφή της έκτασης και του ρυθμού απορρόφησης, δηλαδή οι C_{max} , AUC_t και AUC_{inf} , καθώς και οι T_{max} , λ_z και ο αριθμός των σημείων που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της λ_z .

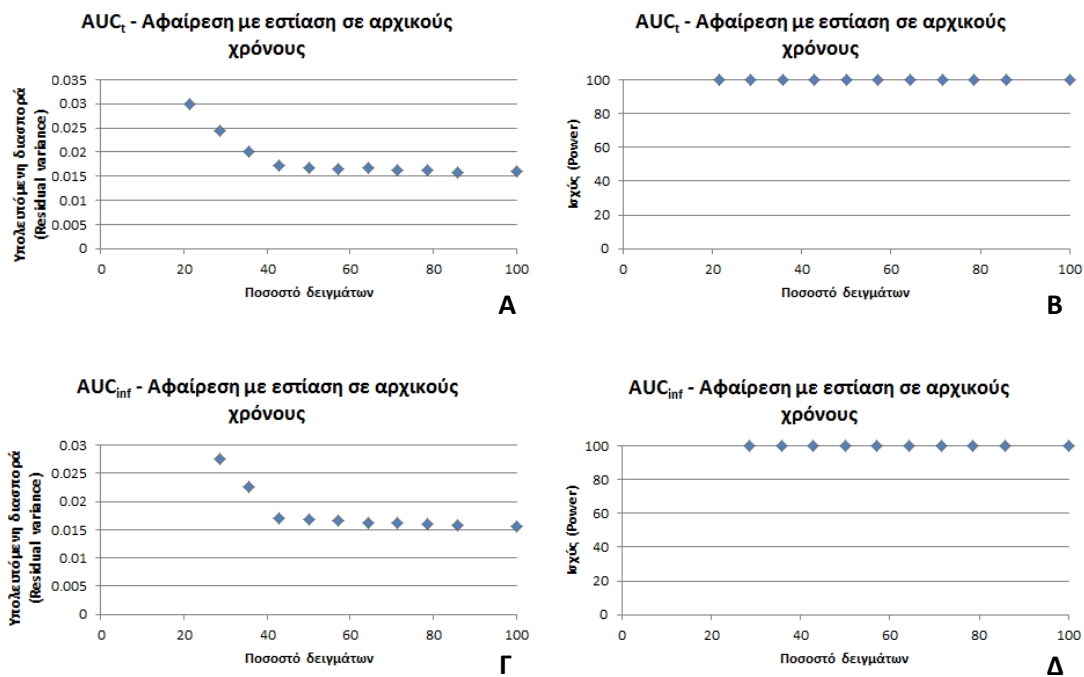
Χρήσιμα μέτρα για την αξιολόγηση της εκάστοτε επέμβασης είναι η υπολειπόμενη διασπορά ή μέσο τετράγωνο σφάλματος και η ισχύς της δοκιμασίας, τα οποία υπολογίζονται για τις κύριες φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Η αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς διευρύνει το 90% διάστημα εμπιστοσύνης, σύμφωνα με τη Σχέση 12, άρα είναι δυσκολότερο το τελευταίο να εμπεριέχεται στα όρια βιοϊσοδυναμίας. Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη ισχύς μειώνει την πιθανότητα αποδοχής της βιοϊσοδυναμίας, όταν πραγματικά ισχύει (απόρριψη της H_0).

Στη συνέχεια κατασκευάζονται γραφήματα για την αποτύπωση της επίδρασης της επέμβασης στα παραπάνω στατιστικά μέτρα, πιο συγκεκριμένα γραφήματα τα οποία αναπαριστούν τη μεταβολή στην τιμή αυτών σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που αναλύονται. Κάθε γράφημα αντιστοιχεί σε μία από τις παραμέτρους C_{max} , AUC_t και AUC_{inf} και σε ένα είδος επέμβασης. Τα είδη των επεμβάσεων ορίζονται στην κατασκευή λιγότερο πυκνού σχήματος δειγματοληψίας σε αρχικούς, σε μεσαίους ή σε τελικούς χρόνους, πιο σύντομου σχήματος δειγματοληψίας, πιο σύντομου και αραιού σε αρχικούς χρόνους σχήματος και τέλος πιο σύντομου και αραιού ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους σχήματος. Επίσης κατασκευάζονται τα αντίστοιχα γραφήματα για τον παράλληλο σχεδιασμό (Παράρτημα) και συγκριτικά γραφήματα του διασταυρωτού και του παράλληλου σχεδιασμού (Πίνακας 1), τα οποία θα αναλυθούν στη συνέχεια.

1. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας

α. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε αρχικούς χρόνους

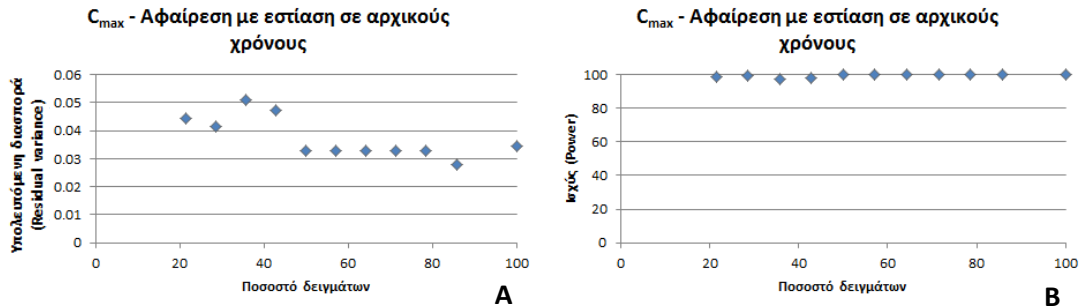
Τα ακόλουθα γραφήματα περιγράφουν πιο αραιά δειγματοληπτικά σχήματα τα οποία προκύπτουν από αφαίρεση ζευγών δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου, που αντιστοιχούν στους πρώτους χρόνους μετά τη χορήγηση των σκευασμάτων R και T, σύμφωνα με τη μεθοδολογία που έχει αναφερθεί.



Σχήμα 10. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (Α,Γ) και την ισχύ (Β,Δ) για τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC_t (Α,Β) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.

Παρατηρείται στα Σχήματα 10.Α και 10.Γ ότι η υπολειπόμενη διασπορά των δύο παραμέτρων AUC_t και AUC_{inf} παραμένει σχεδόν αμετάβλητη καθώς μειώνονται οι χρόνοι δειγματοληψίας στην αρχή του σχήματος έως ότου απομείνουν 43% ή έξι δείγματα, συμπεριλαμβανομένου του δείγματος πριν τη χορήγηση των σκευασμάτων. Από εκείνο το σημείο και ύστερα, κάθε νέα αφαίρεση κάποιου ζεύγους δεδομένων προκαλεί συνεχή αύξηση της τιμής της υπολειπόμενης διασποράς.

Από την άλλη πλευρά, όπως παρουσιάζεται στα Σχήματα 10.B και 10.Δ, η αφαίρεση χρόνων δειγματοληψίας στην αρχή του σχήματος δε φαίνεται να επηρεάζει την τιμή της ισχύος για τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} , καθώς αυτή παραμένει σταθερή, περίπου 100%.



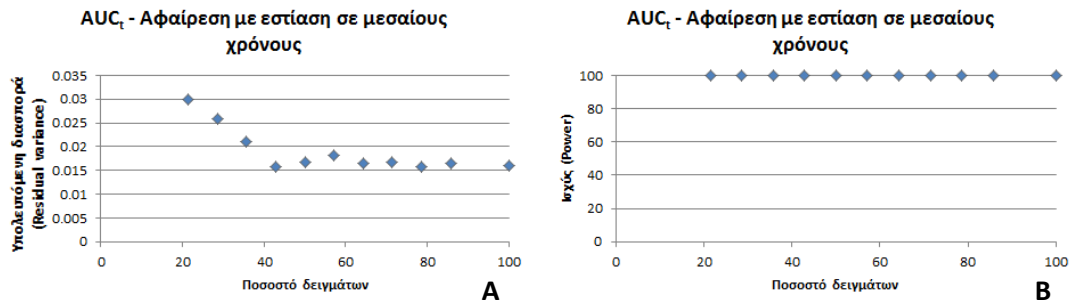
Σχήμα 11. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για τη φαρμακοκινητική παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.

Όσον αφορά την παράμετρο C_{max} , η επίδραση της αφαίρεσης αρχικών χρόνων δειγματοληψίας στην τιμή της υπολειπόμενης διασποράς (Σχήμα 11.A) δεν παρουσιάζει το ομοιόμορφο μοτίβο που εμφανίζεται στην περίπτωση των παραμέτρων AUC_t και AUC_{inf} (Σχήματα 10.A και 10.Γ). Αρχικά φαίνεται να παραμένει σταθερή έως την αφαίρεση επτά ζευγών δεδομένων (50%), ενώ στη συνέχεια παρουσιάζεται αύξηση της τιμής της.

Παρατηρώντας την επίδραση στην ισχύ, προκύπτει ότι η τιμή της παραμένει σταθερή, περίπου 100%, έως και τη διατήρηση του 50% των χρόνων δειγματοληψίας, ενώ ακολούθως σε μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται κάποιες πολύ μικρές αποκλίσεις από την παραπάνω τιμή.

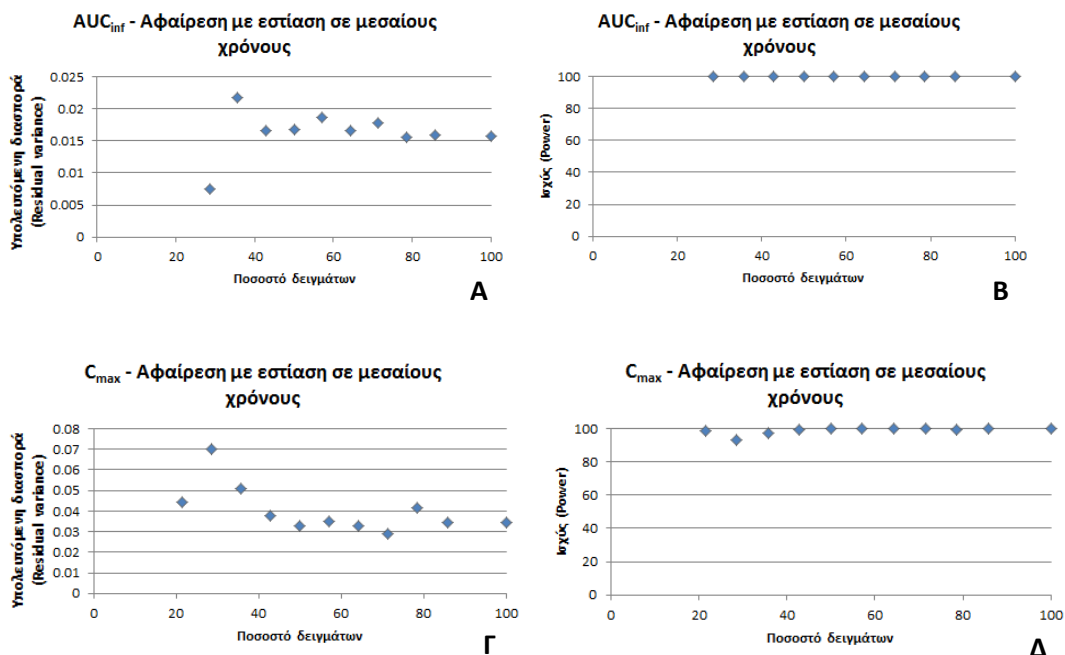
β. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε μεσαίους χρόνους

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα γραφήματα που περιγράφουν πιο αραιά δειγματοληπτικά σχήματα με έμφαση σε ενδιάμεσους χρόνους του δειγματοληπτικού σχήματος.



Σχήμα 12. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t, σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στο Σχήμα 12.A παρατηρείται ότι η υπολειπόμενη διασπορά του AUC_t παραμένει σχεδόν αμετάβλητη καθώς μειώνονται οι χρόνοι δειγματοληψίας με έμφαση σε ενδιάμεσους χρόνους του σχήματος έως ότου απομείνουν 43% ή έξι δείγματα. Ακολούθως, κάθε νέα αφαίρεση ζεύγους τιμών προκαλεί συνεχή αύξηση της τιμής της υπολειπόμενης διασποράς. Αντιθέτως, η ίδια επέμβαση δεν επηρεάζει την τιμή της ισχύος, καθώς παραμένει σταθερή, περίπου 100% (Σχήμα 12.B).



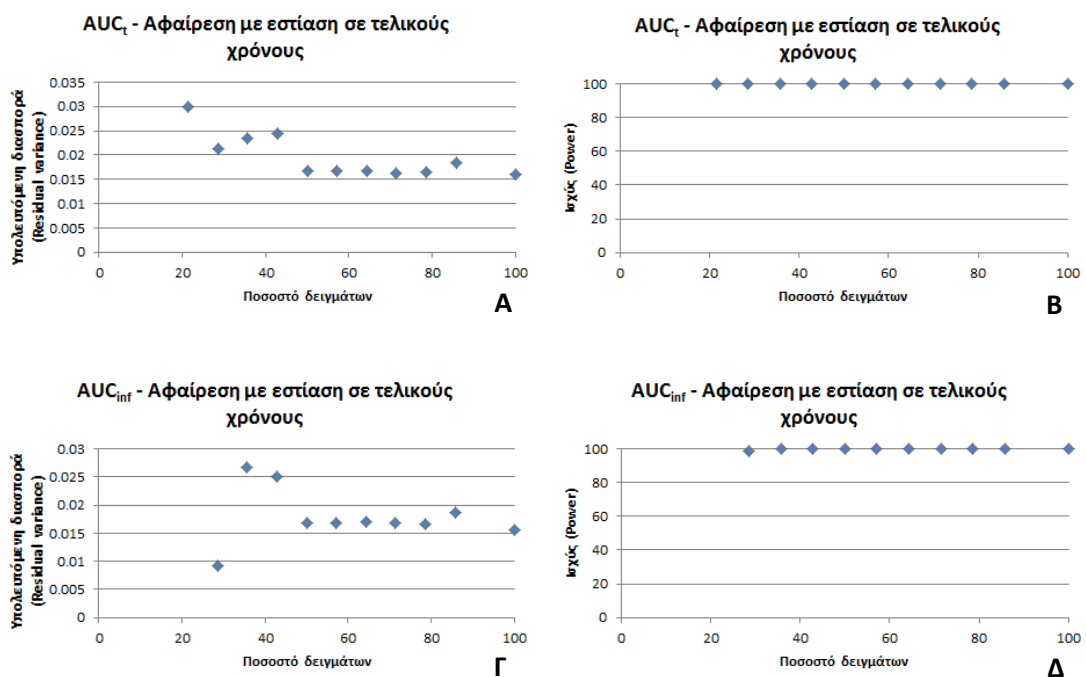
Σχήμα 13. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις παραμέτρους AUC_{inf} (A,B) και C_{max} (Γ,Δ) σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στα Σχήματα 13.A και 13.Γ παρατηρείται η εμφάνιση μεγαλύτερων τιμών της υπολειπόμενης διασποράς των AUC_{inf} και C_{max} όταν απομένουν πέντε σημεία (ποσοστό 36%) ή λιγότερα, όχι όμως με ομοιόμορφο τρόπο, ενώ σε μία περίπτωση εμφανίζεται μικρότερη τιμή.

Όσον αφορά την ισχύ για τη C_{max} , αυτή μειώνεται ελαφρά από το ίδιο ποσοστό σημείων (36%) και έπειτα (Σχήμα 13.Δ), ενώ για την παράμετρο AUC_{inf} η τιμή της παραμένει σταθερή, περίπου 100%, έως και την αφαίρεση δέκα σημείων (Σχήμα 13.B).

γ. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε τελικούς χρόνους

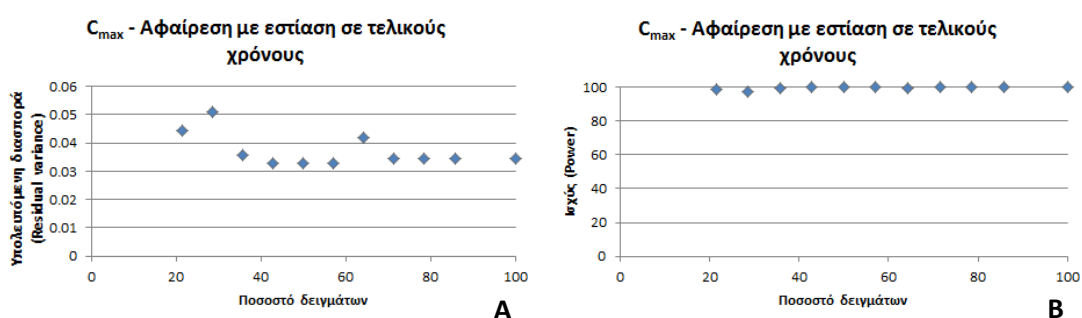
Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται τα γραφήματα που περιγράφουν πιο αραιά δειγματοληπτικά σχήματα με έμφαση στους τελικούς χρόνους του δειγματοληπτικού σχήματος.



Σχήμα 14. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (Α,Γ) και την ισχύ (Β,Δ) για τις παραμέτρους AUC_t (Α,Β) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Από τα Σχήματα 14.A και 14.Γ συμπεραίνεται ότι η υπολειπόμενη διασπορά των παραμέτρων AUC_c και AUC_{inf} παραμένει σχεδόν αμετάβλητη έως ότου απομείνουν 50% ή επτά δείγματα, ενώ στη συνέχεια εμφανίζονται αυξημένες τιμές της. Εξαιρέση με μειωμένη τιμή παρατηρείται για την παράμετρο AUC_{inf} στο 29% των σημείων.

Από την άλλη πλευρά, στα Σχήματα 14.B και 14.Δ φαίνεται ότι η αφαίρεση χρόνων δειγματοληψίας στο τέλος του σχήματος δεν επηρεάζει την τιμή της ισχύος για τις παραμέτρους αυτές και παραμένει σταθερή, περίπου 100%.



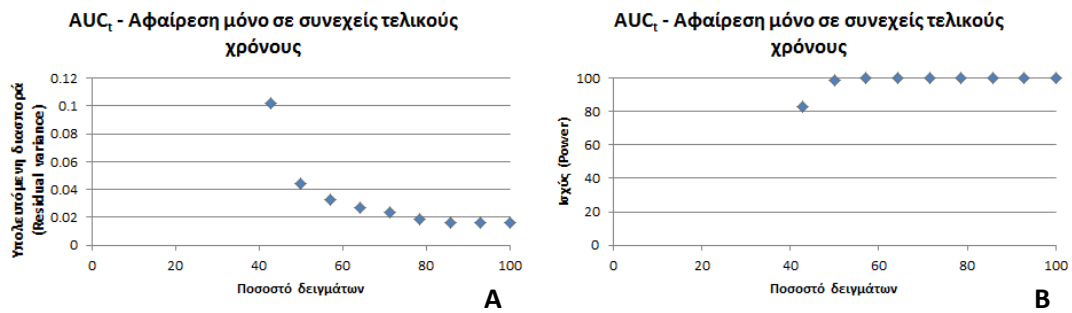
Σχήμα 15. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την παράμετρο C_{max} , σημαντική αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς εμφανίζεται σε ποσοστό δειγμάτων 29% ή μικρότερο, ενώ εμφανίζεται μία σχετική αύξηση σποραδικά σε ποσοστό 64% των δειγμάτων (Σχήμα 15.A).

Αντιθέτως στο Σχήμα 15.B δεν παρατηρείται κάποια σημαντική επίδραση της συγκεκριμένης επέμβασης στην ισχύ, αφού εμφανίζεται σταθερή, σε τιμή περίπου 100%, μέχρι και την αφαίρεση έντεκα δειγμάτων.

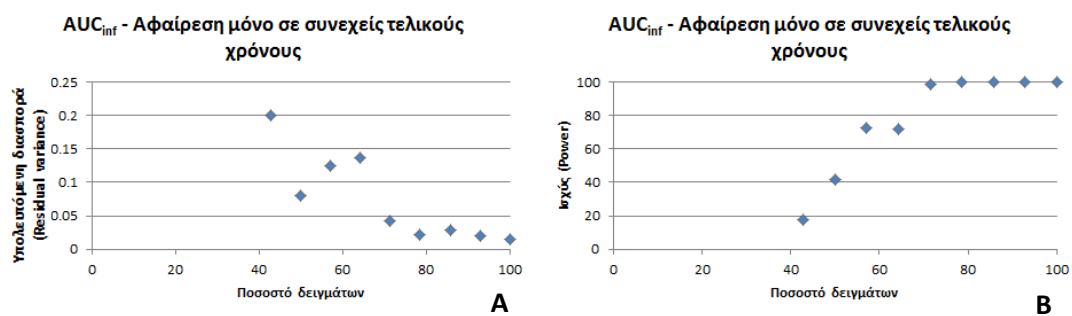
2. Διάρκεια σχήματος δειγματοληψίας

Τα γραφήματα που ακολουθούν περιγράφουν συντομότερα δειγματοληπτικά σχήματα, τα οποία προκύπτουν από αφαίρεση ζευγών δεδομένων συγκέντρωσης - χρόνου από το τέλος προς την αρχή του σχήματος, όπως έχει περιγραφεί στη μεθοδολογία της έρευνας.



Σχήμα 16. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_i σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

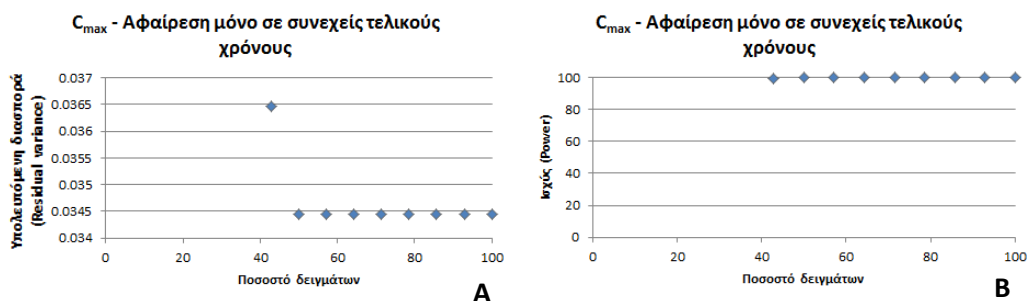
Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 16.A για την παράμετρο AUC_i , η συντομότερη διάρκεια του δειγματοληπτικού σχήματος προκαλεί ένα μοτίβο σχετικά με την επιρροή της στην υπολειπόμενη διασπορά. Αυτό περιλαμβάνει αρχικά μια ήπια αύξηση της τιμής της για ποσοστό δεδομένων 71%, δηλαδή για σχήμα διάρκειας 24 ωρών, η οποία αυξάνεται με συνεχώς μεγαλύτερο ρυθμό όσο συντομότερο γίνεται το σχήμα. Η αντίστοιχη ισχύς όμως παραμένει σταθερή έως και το ποσοστό δειγμάτων 50% και επηρεάζεται μόνο για μικρότερα σχήματα, διάρκειας 4 ωρών (Σχήμα 16.B).



Σχήμα 17. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την παράμετρο AUC_{inf} , η υπολειπόμενη διασπορά παραμένει σταθερή μέχρι και τη διατήρηση του 71% των χρόνων δειγματοληψίας που αντιστοιχεί σε σχήμα

διάρκειας 24 ωρών και αυξάνεται στη συνέχεια (Σχήμα 17.A). Αντίστοιχα παραμένει σταθερή η ισχύς, περίπου 100%, μέχρι το ίδιο ποσοστό των χρόνων δειγματοληψίας και ακολούθως εμφανίζει σημαντικές μειώσεις σχεδόν σε κάθε νέο βήμα αφαίρεσης ζεύγους δεδομένων (Σχήμα 17.B).



Σχήμα 18. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

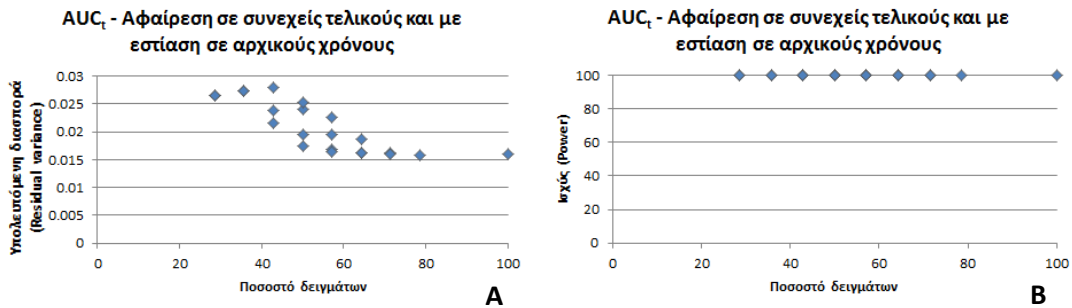
Τέλος, σχετικά με την επίδραση της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην παράμετρο C_{max} , από το Σχήμα 18.A συμπεραίνεται ότι η υπολειπόμενη διασπορά παραμένει σταθερή, εκτός από μία πολύ μικρή αύξηση για το σχήμα διάρκειας 4 ωρών. Όσον αφορά την ισχύ, αυτή παραμένει σταθερή μέχρι και για σχήμα με έξι χρόνους δειγματοληψίας, δηλαδή διάρκειας 4 ωρών (Σχήμα 18.B).

3. Πυκνότητα και διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας

Μετά την παρουσίαση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από πιο σύντομα ή πιο αραιά σχήματα δειγματοληψίας, ακολουθούν οι περιπτώσεις που συνδυάζουν τις δύο αυτές επεμβάσεις. Λόγω της μεθοδολογίας, σε κάθε ποσοστό δειγμάτων δεν αντιστοιχεί μόνο ένα σύνολο δεδομένων, καθώς μπορεί να προκύπτει από την αφαίρεση διαφορετικών συνδυασμών των χρόνων δειγματοληψίας. Έτσι, σε αντίθεση με τα έως τώρα γραφήματα, στα επόμενα αντιστοιχούν περισσότερα από ένα σημεία σε κάποια ποσοστά δειγμάτων.

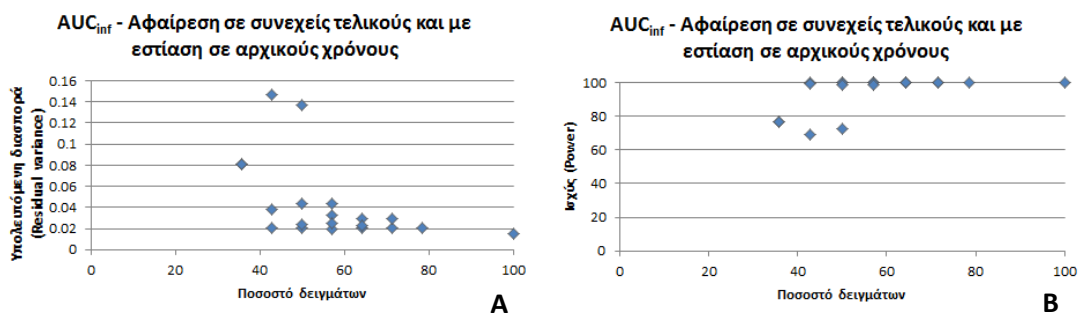
α. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό σε αρχικούς χρόνους σχήμα δειγματοληψίας

Η πρώτη περίπτωση αφορά πιο σύντομα σχήματα, τα οποία είναι ταυτόχρονα και πιο αραιά με αφαίρεση ζευγών δεδομένων, που αντιστοιχούν κυρίως στους αρχικούς χρόνους δειγματοληψίας μετά τη χορήγηση των σκευασμάτων.



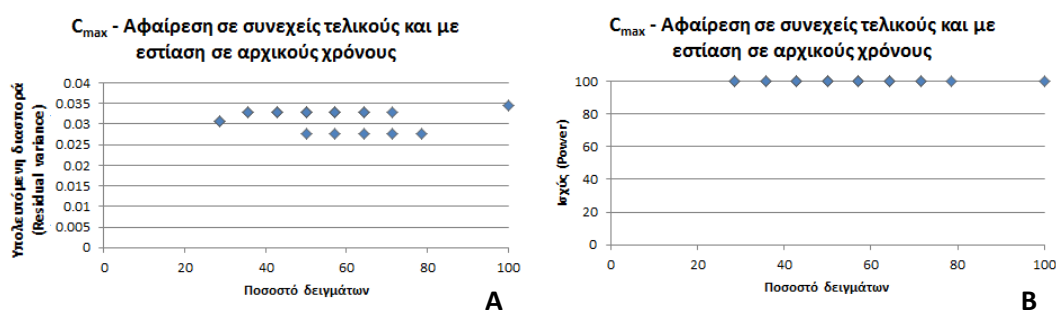
Σχήμα 19. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Παρατηρείται στο Σχήμα 19.A ότι η υπολειπόμενη διασπορά της παραμέτρου AUC_t εμφανίζει κάποιες αυξημένες τιμές σε ποσοστό 64% των δειγμάτων, με σταδιακή αύξηση για μικρότερα ποσοστά, ενώ για ποσοστό 43% σε όλες τις περιπτώσεις πλέον οι τιμές της είναι αυξημένες. Για τα σχήματα ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας, μεγαλύτερες τιμές εμφανίζονται κυρίως για τα πιο σύντομα σε σχέση με τα πιο αραιά. Από την άλλη πλευρά, η τιμή της ισχύος παραμένει σταθερά περίπου στο 100% και δεν επηρεάζεται από τη συγκεκριμένη επέμβαση (Σχήμα 19.B).



Σχήμα 20. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την επίδραση της συνδυαστικής επέμβασης στην παράμετρο AUC_{inf} , παρατηρείται μία μικρή αύξηση στην υπολειπόμενη διασπορά για ποσοστό 71% των δειγμάτων ή μικρότερο, ενώ από την αφαίρεση 50% των ζευγών δεδομένων και έπειτα εμφανίζονται αρκετά μεγαλύτερες τιμές του μέτρου αυτού, ιδιαίτερα για τα συντομότερα σχήματα σε σχέση με τα πιο αραιά ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας (Σχήμα 20.A). Ομοίως, εμφανίζονται αρκετά χαμηλές τιμές ισχύος για ποσοστό 50% ή μικρότερο για τα συντομότερα σχήματα (Σχήμα 20.B).

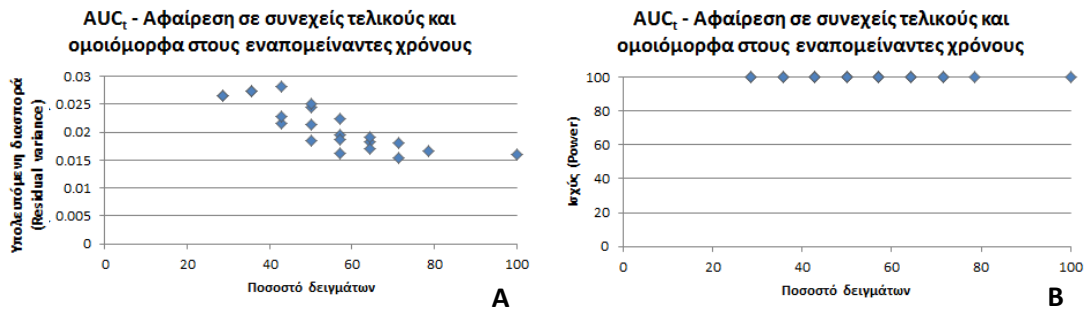


Σχήμα 21. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 21.A, δεν παρουσιάζεται σημαντική τροποποίηση ή κάποια τάση στην τιμή της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο C_{max} , αλλά τα σημεία στο γράφημα μοιάζουν να σχηματίζουν δύο παράλληλες ευθείες με δύο διαφορετικές τιμές για το συγκεκριμένο μέτρο. Προκύπτει ότι για το ίδιο ποσοστό δειγμάτων η μεγαλύτερη τιμή αντιστοιχεί σε σχήμα λιγότερο σύντομο, αλλά πιο αραιό στους αρχικούς χρόνους. Αντιθέτως, στο Σχήμα 21.B φαίνεται σταθερή η τιμή της ισχύος και άρα ανεπηρέαστη από την επέμβαση.

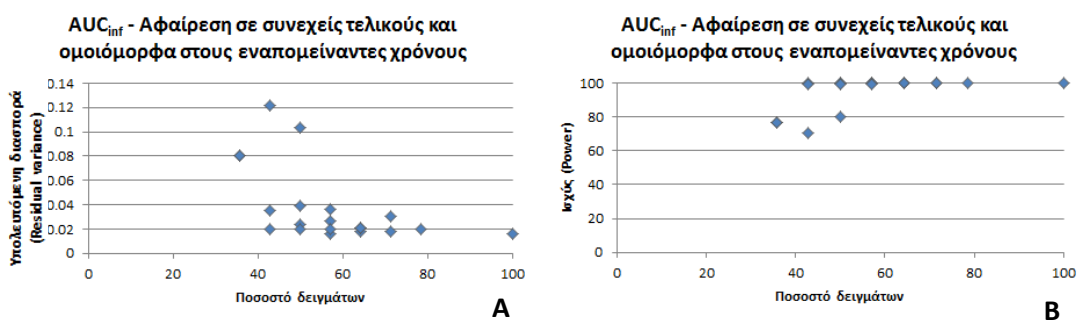
β. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό στους εναπομείναντες χρόνους σχήμα δειγματοληψίας

Στη δεύτερη περίπτωση διερεύνησης της επίδρασης της πυκνότητας συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος, μελετώνται πιο σύντομα σχήματα και ταυτόχρονα λιγότερο πυκνά με ομοιόμορφη όμως αφαίρεση δειγμάτων από τους εναπομείναντες χρόνους δειγματοληψίας.



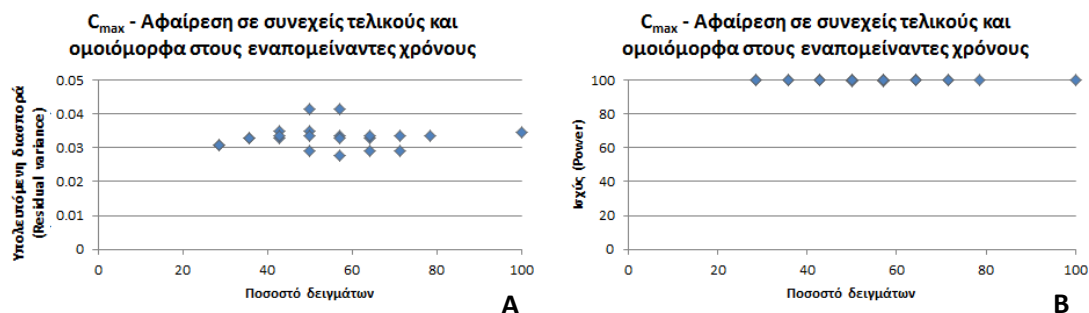
Σχήμα 22. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στο Σχήμα 22.A παρατηρείται η σταδιακή αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς της παραμέτρου AUC_t για κάποιες περιπτώσεις από το ποσοστό 71% των δειγμάτων ή μικρότερο, ενώ για ποσοστό 50% σε όλες τις περιπτώσεις η τιμή του μέτρου είναι αυξημένη. Όσον αφορά τα σχήματα ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας, μεγαλύτερες τιμές εμφανίζονται κυρίως για τα πιο σύντομα σε σχέση με τα πιο αραιά. Σχετικά με την τιμή της ισχύος όπως φαίνεται στο Σχήμα 22.B, αυτή δεν επηρεάζεται από τη συγκεκριμένη επέμβαση και παραμένει σταθερή, περίπου 100%.



Σχήμα 23. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Σχετικά με την επίδραση στην παράμετρο AUC_{inf} , στο Σχήμα 23.A παρατηρούνται σημαντικά αυξημένες τιμές της υπολειπόμενης διασποράς από την αφαίρεση 50% των δειγμάτων και έπειτα, κυρίως για τα πιο σύντομα σχήματα σε σχέση με τα πιο αραιά ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας. Αντίστοιχα στο Σχήμα 23.B εμφανίζονται αρκετά χαμηλές τιμές ισχύος για ποσοστό 50% ή μικρότερο για τα συντομότερα σχήματα.

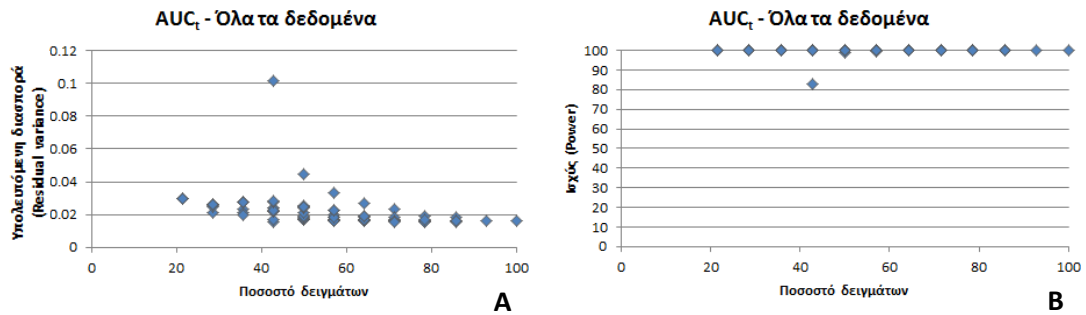


Σχήμα 24. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στο Σχήμα 24.A δεν παρατηρείται κάποια σημαντική τροποποίηση στην τιμή της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο C_{max} . Επιπλέον, εξετάζοντας τις αλλαγές στην τιμή για το ίδιο ποσοστό δειγμάτων δε συμπεραίνεται κάποια τάση ανάλογα με τους αφαιρούμενους χρόνους δειγματοληψίας. Ομοίως η συγκεκριμένη επέμβαση δε φαίνεται να επηρεάζει την τιμή της ισχύος στο Σχήμα 24.B.

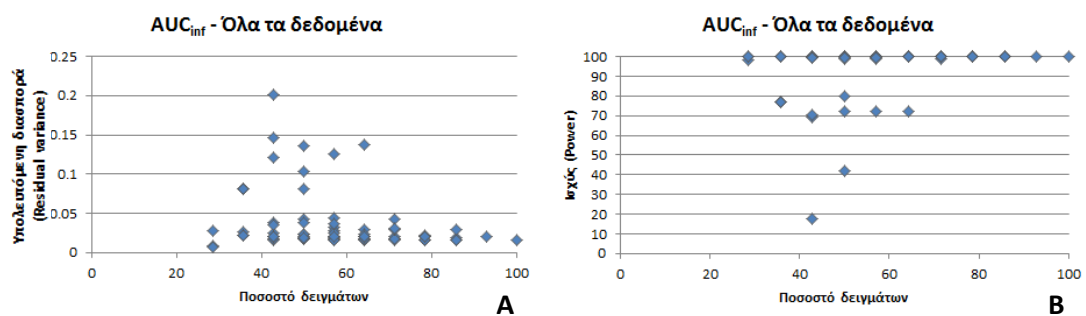
4. Συγκεντρωτική παρουσίαση των επεμβάσεων που αφορούν το σχήμα δειγματοληψίας

Στη συνέχεια παραθέτονται γραφήματα που περιλαμβάνουν τα αποτελέσματα των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας συγκεντρωτικά. Εμπεριέχουν δηλαδή όλα τα προηγούμενα αποτελέσματα για κάθε φαρμακοκινητική παράμετρο ξεχωριστά.



Σχήμα 25. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

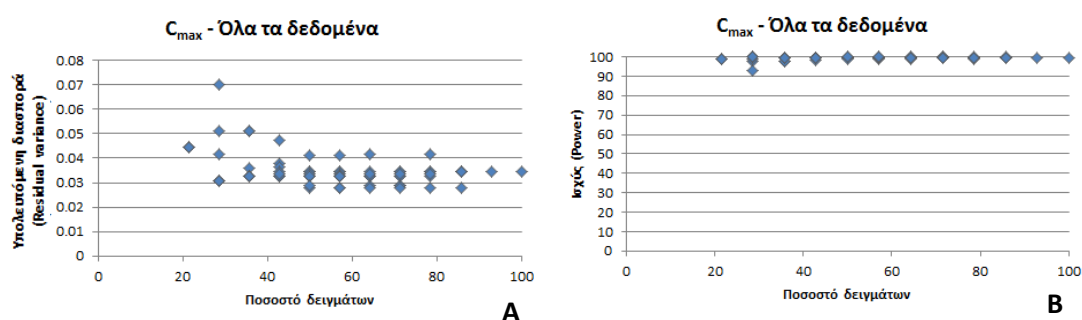
Στο Σχήμα 25.A παρατηρείται γενικά μία μικρή σταδιακή αύξηση της τιμής της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο AUC_t όσο μικρότερο είναι το ποσοστό των δειγμάτων, ενώ στο Σχήμα 25.B φαίνεται γενικά σταθερότητα της ισχύος στην τιμή 100%. Εξαιρεση και για τα δύο μέτρα από κοινού αποτελεί η επέμβαση στη διάρκεια του σχήματος (Σχήμα 16.A και 16.B). Όταν αφαιρούνται οι τελευταίοι επτά με οκτώ χρόνοι δειγματοληψίας και απομένουν 43% των χρόνων εμφανίζεται αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς και μείωση της ισχύος.



Σχήμα 26. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την παράμετρο AUC_{inf} , η πλειονότητα των σημείων εμφανίζει τιμές υπολειπόμενης διασποράς μικρότερες από 0.05 (Σχήμα 26.A), ενώ για ποσοστό δειγμάτων

64% ή μικρότερο παρατηρούνται και πολλαπλάσιες τιμές, οι οποίες αντιστοιχούν μόνο σε περιπτώσεις συντομότερων σχημάτων δειγματοληψίας, είτε γίνεται ταυτόχρονη επέμβαση στην πυκνότητα (Σχήματα 20.A και 23.A) είτε όχι (Σχήματα 17.A). Αντίστοιχα η ισχύς στις περισσότερες περιπτώσεις έχει τιμή περίπου 100%, με την εμφάνιση σημαντικά μικρότερων τιμών στις περιπτώσεις πιο σύντομων σχημάτων (Σχήματα 17.B, 20.B και 23.B). Παρατηρείται ότι μεγαλύτερη επίδραση στα δύο στατιστικά μέτρα που μελετώνται εμφανίζεται όταν αφαιρούνται χρόνοι δειγματοληψίας μόνο από το τέλος του σχήματος, όπως φάνηκε παραπάνω στο Σχήμα 17.

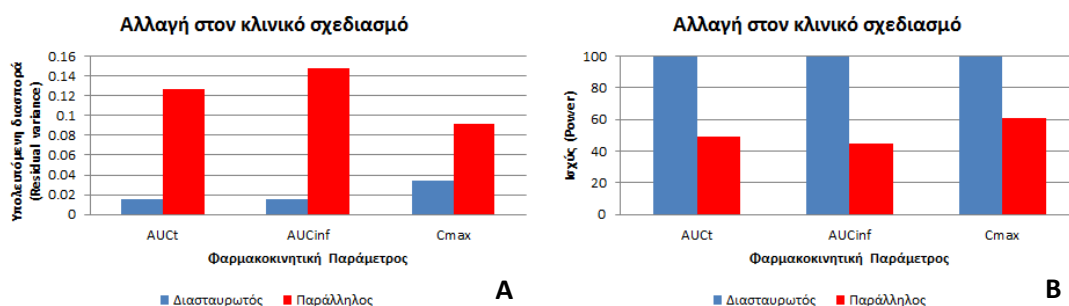


Σχήμα 27. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Σχετικά με την επίδραση των επεμβάσεων στην C_{max} , η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνει όταν απομένουν μόνο το 36% των ζευγών δεδομένων (Σχήμα 27.A), ενώ αυτές οι περιπτώσεις αφορούν σχήματα που προκύπτουν από την επέμβαση στην πυκνότητα και μόνο (Σχήματα 11.A, 13.A και 15.A). Αντιθέτως, στο Σχήμα 27.B δεν παρουσιάζεται κάποια σημαντική επίδραση των επεμβάσεων στην ισχύ για την παράμετρο C_{max} .

5. Κλινικός σχεδιασμός της μελέτης

Μετά τις επεμβάσεις στην πυκνότητα και τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας, ακολουθεί η επέμβαση στον κλινικό σχεδιασμό της μελέτης βιοϊσοδυναμίας. Διερευνάται δηλαδή η επίδραση στα στατιστικά μέτρα της εφαρμογής του παράλληλου σχεδιασμού σε σχέση με τον τυπικό διασταυρωτό σχεδιασμό, ο οποίος είναι αυτός που εφαρμόστηκε εξ αρχής στη μελέτη βιοϊσοδυναμίας του Donepezil/Verisfield.



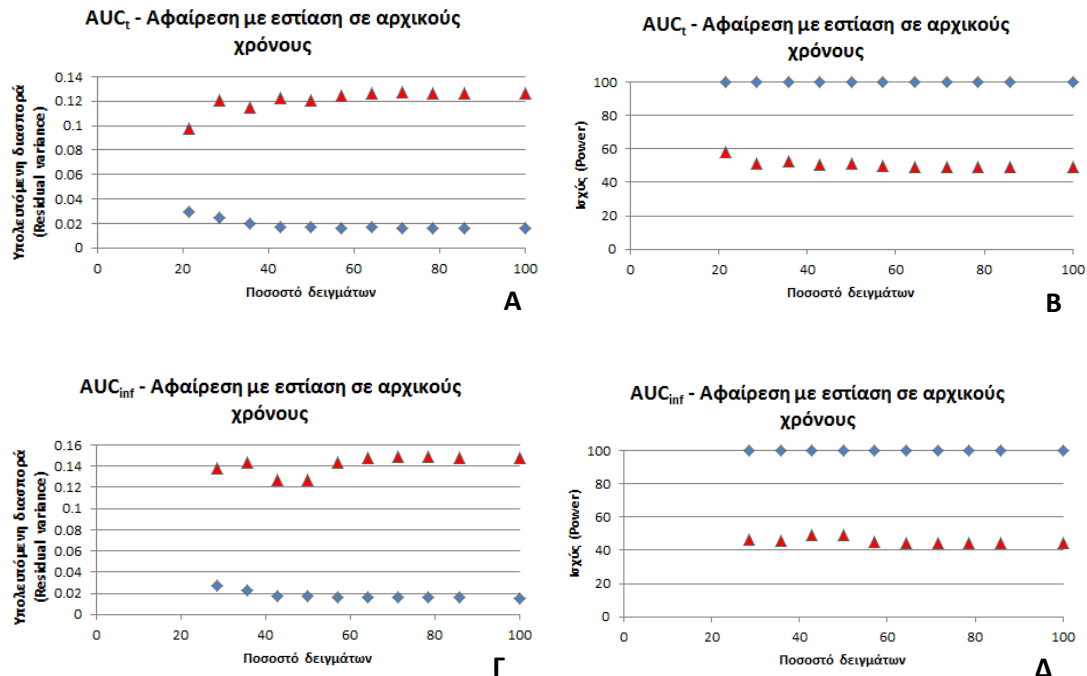
Σχήμα 28. Γραφήματα επίδρασης της επέμβασης στον κλινικό σχεδιασμό στην υπολειπόμενη διασπορά (Α) και την ισχύ (Β) για τις κύριες φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC_t, AUC_{inf} και C_{max}.

Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 28, η εφαρμογή του παράλληλου σχεδιασμού για τον ίδιο αριθμό εθελοντών προκαλεί σημαντική αύξηση, τρεις με επτά φορές, στην υπολειπόμενη διασπορά και των τριών βασικών φαρμακοκινητικών παραμέτρων, ενώ όσον αφορά την ισχύ εμφανίζεται σημαντική μείωση της τιμής της από το 100% περίπου στο μισό, επίσης και για τις τρεις παραμέτρους. Μεγαλύτερη επίδραση παρατηρείται στην παράμετρο AUC_{inf} και μικρότερη στην C_{max}.

Στη συνέχεια διερευνάται η επέμβαση στον κλινικό σχεδιασμό συνδυαστικά με όλες τις προαναφερθείσες επεμβάσεις στο σχήμα δειγματοληψίας και στα γραφήματα παρουσιάζονται συγκριτικά τα αποτελέσματα τόσο του διασταυρωτού σχεδιασμού (μπλε σημεία), που έχουν ήδη παρουσιαστεί, όσο και του παράλληλου (κόκκινα σημεία), τα οποία και θα περιγραφούν. Στο Παράρτημα εμπεριέχονται, με την αντίστοιχη σειρά, τα γραφήματα που παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των επεμβάσεων στην πυκνότητα και τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας μεμονωμένα για τον παράλληλο σχεδιασμό (κόκκινα σημεία).

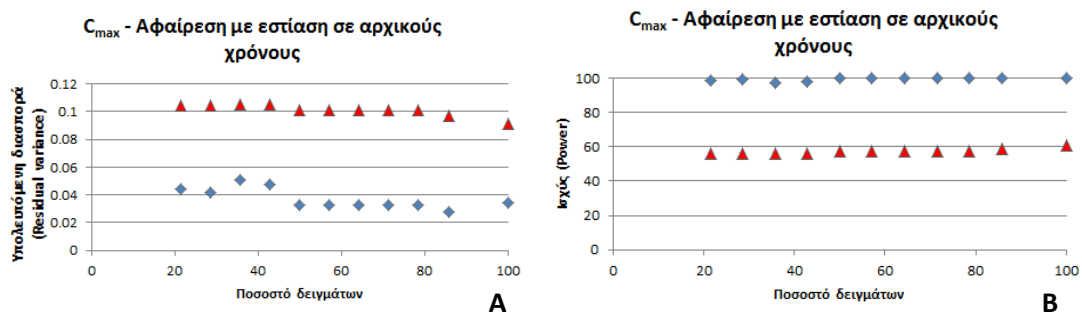
6. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας και κλινικός σχεδιασμός

α. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε αρχικούς χρόνους



Σχήμα 29. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (Α,Γ) και την ισχύ (Β,Δ) για τις παραμέτρους AUC_t (Α,Β) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων. Σε αυτό το σχήμα και τα επόμενα, τα μπλε σημεία αντιστοιχούν στο διασταυρωτό σχεδιασμό και τα κόκκινα στον παράλληλο.

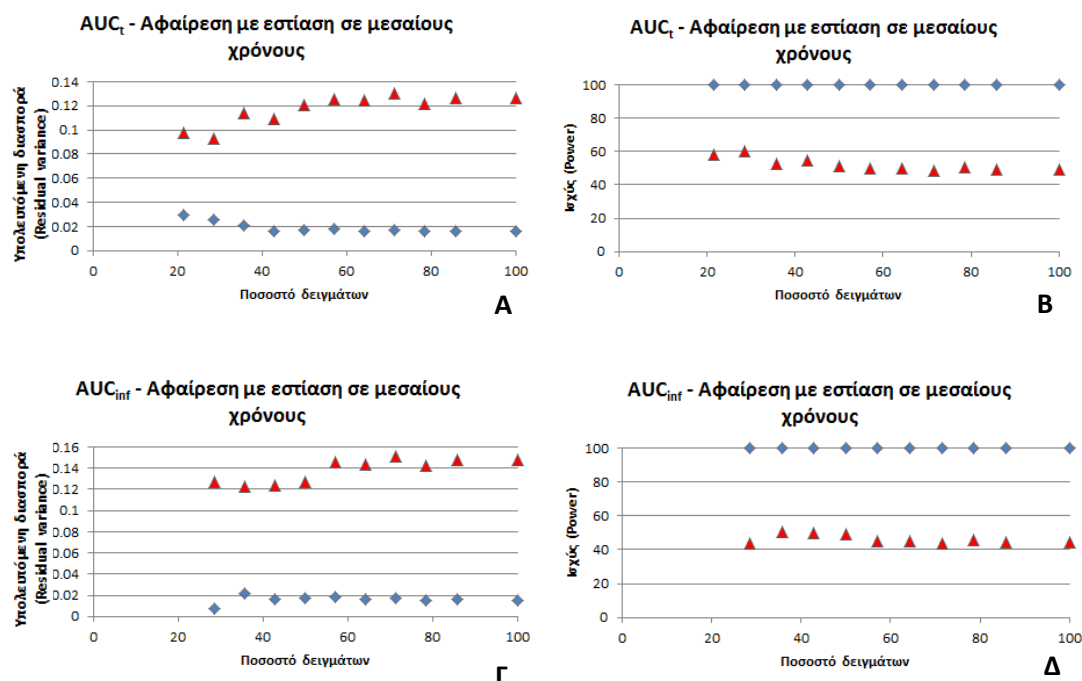
Στα Σχήματα 29.Α και 29.Γ παρατηρείται για τον παράλληλο σχεδιασμό μία μικρή τάση μείωσης της υπολειπόμενης διασποράς των AUC_t και AUC_{inf} όσο μειώνονται οι χρόνοι δειγματοληψίας. Εμφανίζεται δηλαδή αντίθετη επίδραση σε σχέση με το διασταυρωτό σχεδιασμό. Σχετικά με την ισχύ (Σχήματα 29.Β και 29.Δ), αυτή εμφανίζει σταθερότητα, ίσως με μία ασθενή τάση αύξησης της τιμής της. Όπως παρατηρήθηκε στο Σχήμα 28 (παράγραφος Γ.5), η υπολειπόμενη διασπορά είναι αυξημένη στην περίπτωση του παράλληλου σχεδιασμού, ενώ η ισχύς μειωμένη. Στη συνέχεια, δε θα γίνεται λόγος για αυτή τη σύγκριση διασταυρωτού και παράλληλου σχεδιασμού, εφόσον δεν παρατηρηθεί κάτι διαφορετικό.



Σχήμα 30. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

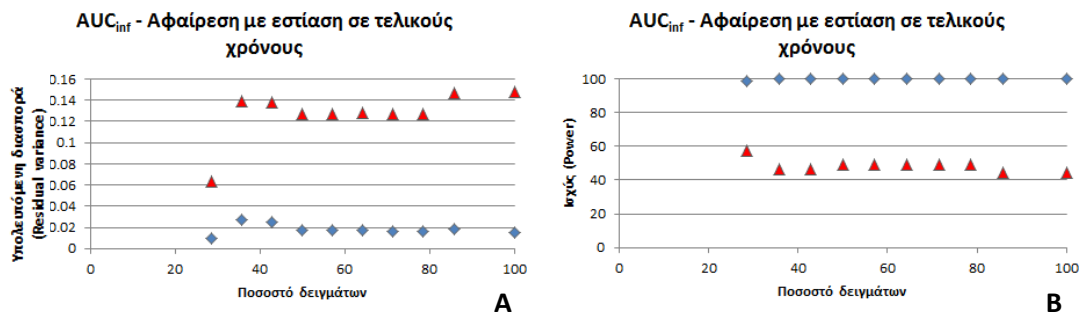
Σε αντίθεση με τις παραπάνω παραμέτρους, η υπολειπόμενη διασπορά της C_{max} στο Σχήμα 30.A εμφανίζει μία μικρή αλλά σταδιακή αύξηση με την αφαίρεση περισσότερων χρόνων δειγματοληψίας η οποία ξεκινά από την αφαίρεση τριών μόλις σημείων. Αντίστοιχα η ισχύς εμφανίζει μία πολύ μικρότερη σταδιακή μείωση της τιμής της (Σχήμα 30.B).

β. Λιγότερο πυκνό σχήμα δειγματοληψίας σε μεσαίους χρόνους



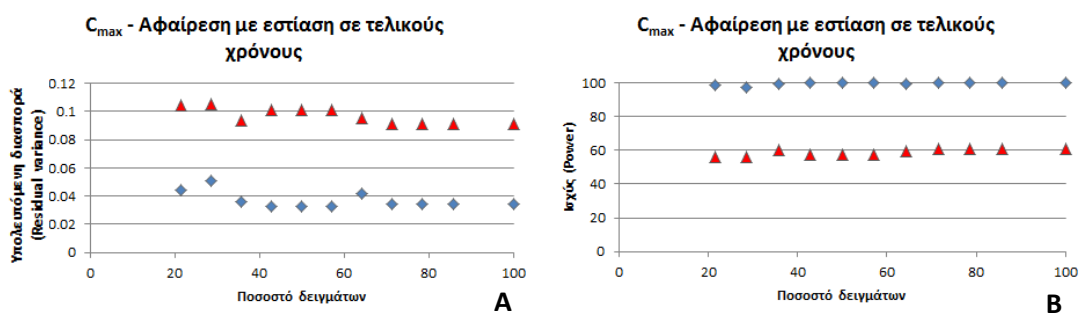
Σχήμα 31. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε μεσαίους χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A,Γ) και την ισχύ (B,Δ) για τις παραμέτρους AUC_t (A,B) και AUC_{inf} (Γ,Δ), σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

μεγαλύτερη επίδραση μετά την αφαίρεση αρκετών ζευγών δεδομένων, ενώ επιδρά στην ισχύ προκαλώντας μία ασθενή αύξηση (Σχήμα 33).



Σχήμα 34. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

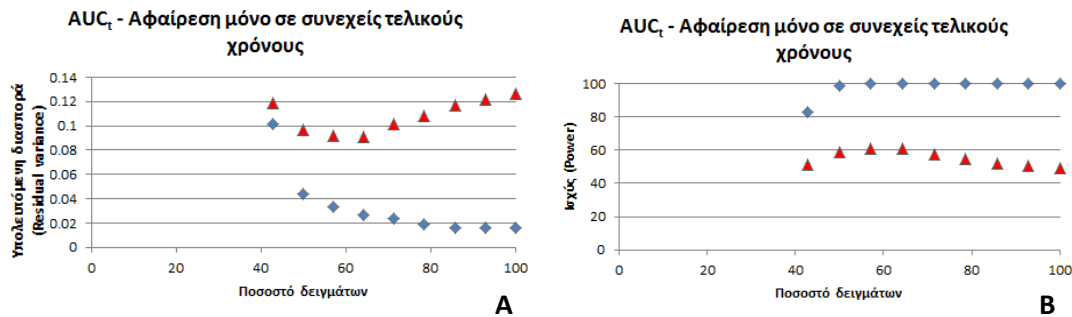
Όσον αφορά την παράμετρο AUC_{inf} , εμφανίζεται μία μείωση της τιμής της υπολειπόμενης διασποράς (Σχήμα 34.A). Παρατηρείται στα μικρότερα ποσοστά δειγμάτων μία μη κανονικότητα στην πορεία της μείωσης, η οποία είναι όμοια με την πορεία της τιμής στα ίδια ποσοστά για το διασταυρωτό σχεδιασμό. Το παραπάνω πιθανώς οφείλεται στον μικρό αριθμό των χρόνων δειγματοληψίας και τη μεγαλύτερη επίδραση των τελικώς επιλεγμένων χρόνων στα αποτελέσματα. Από την άλλη πλευρά στην τιμή της ισχύος παρατηρείται μία ελαφρά αύξηση (Σχήμα 34.B)



Σχήμα 35. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε τελικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

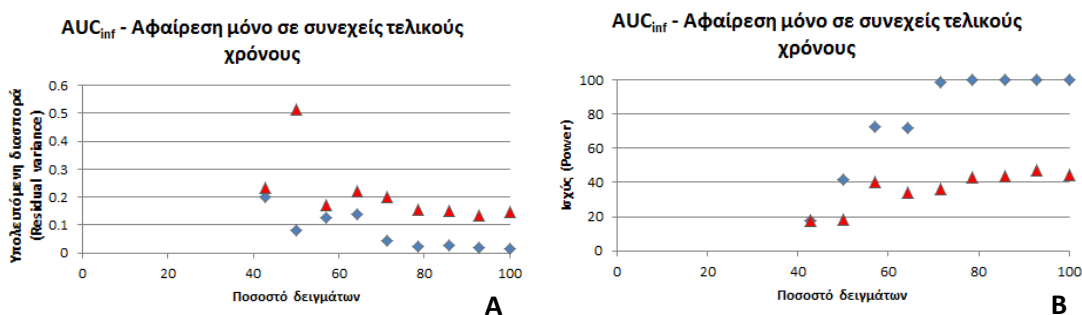
Αντίστοιχα η συγκεκριμένη επέμβαση, προκαλεί μία μικρή αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο C_{max} από το ποσοστό 57% και έπειτα, ενώ η επίδραση στην ισχύ είναι μία ασθενής μείωση της τιμής της (Σχήμα 35).

7. Διάρκεια σχήματος δειγματοληψίας και κλινικός σχεδιασμός



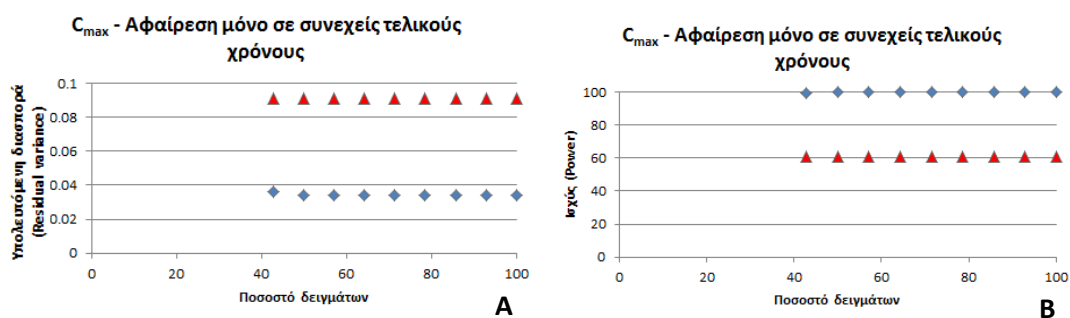
Σχήμα 36. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Η επίδραση της συντομότερης διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας ταυτόχρονα με τον παράλληλο σχεδιασμό, εμφανίζει μία ιδιαιτερότητα που δεν έχει παρατηρηθεί προηγουμένως. Αυτή έγκειται στην παρουσία δύο φάσεων στα στατιστικά μέτρα που μελετώνται για το AUC_t , με σημείο καμπής τα ποσοστά 64-57%. Συγκεκριμένα, η υπολειπόμενη διασπορά αρχικά μειώνεται και στη συνέχεια ανακάμπτει (Σχήμα 36.A), ενώ η ισχύς ακολουθεί αντίστροφη πορεία (Σχήμα 36.B).



Σχήμα 37. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την επίδραση της συγκεκριμένης επέμβασης στην παράμετρο AUC_{inf} , η υπολειπόμενη διασπορά σταδιακά αυξάνεται με την μείωση των χρόνων δειγματοληψίας, ενώ η ισχύς μειώνεται (Σχήμα 37), ακολουθώντας πορεία όμοια με το διασταυρωτό σχεδιασμό.



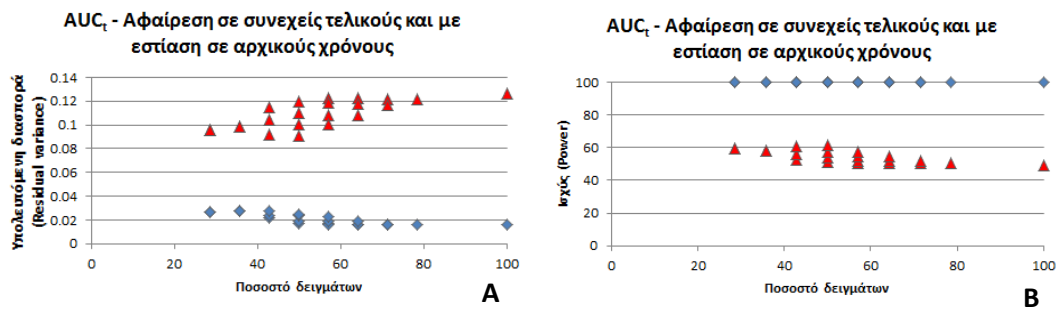
Σχήμα 38. Γραφήματα επίδρασης της διάρκειας του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} , σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Τέλος, στα γραφήματα για την παράμετρο C_{max} , παρατηρείται ότι δεν προκαλείται κάποια αξιολογη μεταβολή στις τιμές της υπολειπόμενης διασποράς και της ισχύος (Σχήμα 38) με την εφαρμογή συντομότερων σχημάτων δειγματοληψίας, όπως συμβαίνει αντίστοιχα και στο διασταυρωτό σχεδιασμό.

8. Πυκνότητα σχήματος δειγματοληψίας, διάρκεια και κλινικός σχεδιασμός

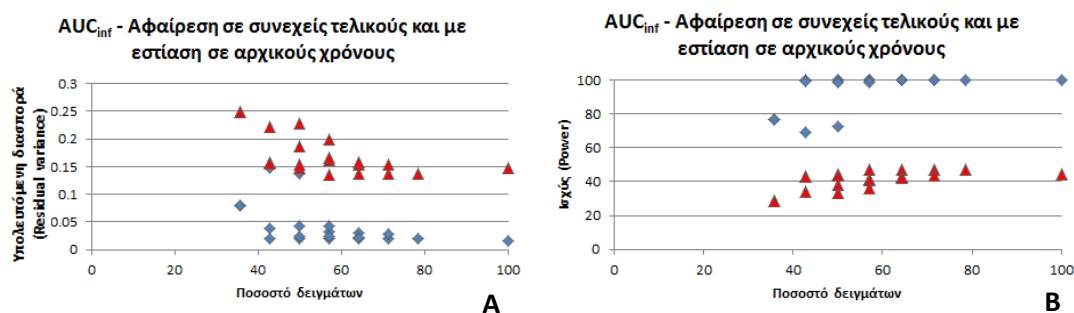
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των τριών μελετώμενων επεμβάσεων ταυτόχρονα. Δηλαδή η επίδραση που έχει στις παραμέτρους ένα συντομότερο και πιο αραιό σχήμα δειγματοληψίας, με ταυτόχρονη εφαρμογή παράλληλου σχεδιασμού.

α. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό σε αρχικούς χρόνους σχήμα δειγματοληψίας



Σχήμα 39. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

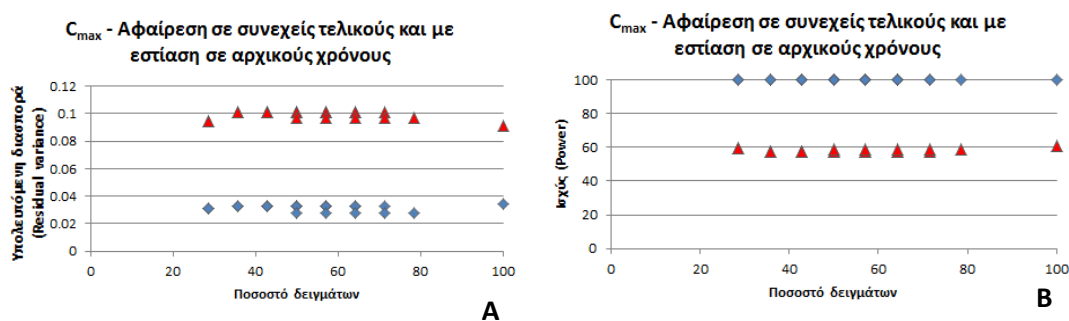
Παρατηρείται στο Σχήμα 39.A ότι η υπολειπόμενη διασπορά της παραμέτρου AUC_t εμφανίζει κάποιες μειωμένες τιμές σε ποσοστό 64% των δειγμάτων, με σταδιακή μείωση για μικρότερα ποσοστά σε όλες τις περιπτώσεις. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων προκύπτει ότι για τα σχήματα ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας, μικρότερες τιμές εμφανίζονται κυρίως για τα πιο σύντομα σε σχέση με τα πιο αραιά. Από την άλλη πλευρά, η τιμή της ισχύος ακολουθεί αντίθετη πορεία εμφανίζοντας σταδιακή αύξηση, με μεγαλύτερες τιμές αντίστοιχα για τα πιο σύντομα σχήματα (Σχήμα 39.B).



Σχήμα 40. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την επίδραση της συνδυαστικής επέμβασης στην παράμετρο AUC_{inf}, παρατηρείται αρχικά μία μικρή αύξηση στην υπολειπόμενη διασπορά για ποσοστό 71% των δειγμάτων, ενώ σε μικρότερα ποσοστά σε όλες τις περιπτώσεις εμφανίζονται μεγαλύτερες

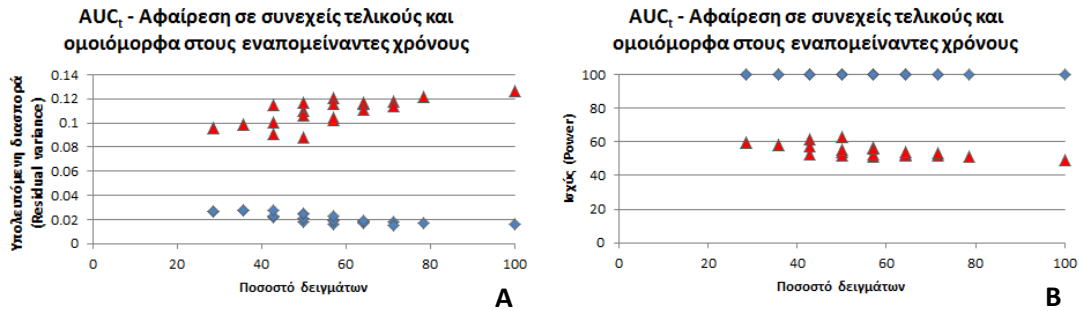
τιμές του μέτρου αυτού. Αυτό παρατηρείται ιδιαίτερα για τα συντομότερα σχήματα σε σχέση με τα πιο αραιά ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας (Σχήμα 40.A). Όπως και με την παράμετρο AUC_t , η τιμή της ισχύος ακολουθεί αντίθετη πορεία εμφανίζοντας αυτή τη φορά σταδιακή μείωση, με μικρότερες τιμές αντίστοιχα για τα πιο σύντομα σχήματα (Σχήμα 40.B).



Σχήμα 41. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

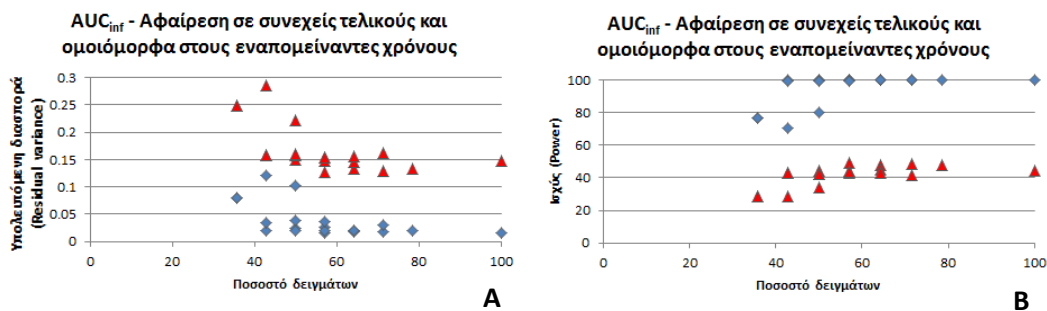
Όπως παρατηρείται στο Σχήμα 41.A, τα σημεία στο γράφημα της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο C_{max} , μοιάζουν να σχηματίζουν δύο παράλληλες ευθείες με δύο διαφορετικές τιμές. Για το ίδιο ποσοστό δειγμάτων η μικρότερη τιμή αντιστοιχεί σε σχήμα πιο σύντομο και πυκνό, όπως συμβαίνει και για το διασταυρωτό σχεδιασμό. Αυτό αναμένεται και από τα αποτελέσματα των δύο επεμβάσεων μεμονωμένα, καθώς προηγουμένως παρατηρήθηκε ότι το συντομότερο σχήμα στον παράλληλο σχεδιασμό δεν έχει κάποια επίδραση στην υπολειπόμενη διασπορά της C_{max} (Σχήμα 38.A) και το πιο αραιό σχήμα σε αρχικούς χρόνους προκαλεί αύξησή της (Σχήμα 30.A). Η τιμή της ισχύος αντίστοιχα εμφανίζεται ελάχιστα αυξημένη για τα πιο σύντομα και πυκνά σχήματα (Σχήμα 41.B).

β. Πιο σύντομο και λιγότερο πυκνό στους εναπομείναντες χρόνους σχήμα δειγματοληψίας



Σχήμα 42. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

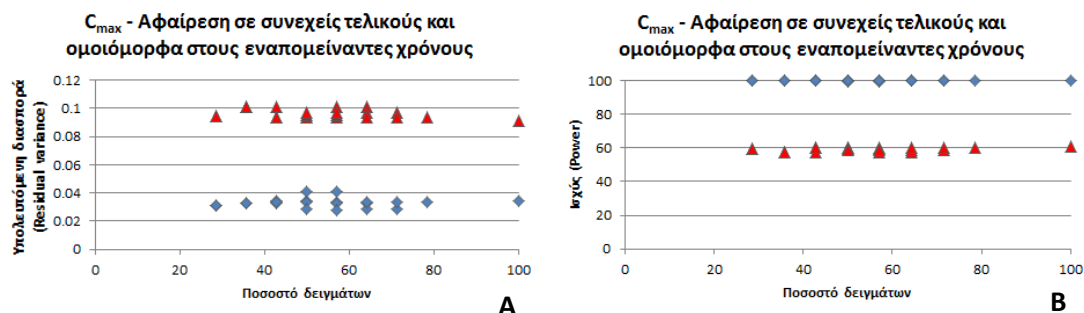
Στο Σχήμα 42.A παρατηρείται αρχικά σταδιακή μείωση της τιμής της υπολειπόμενης διασποράς του AUC_t για κάποιες περιπτώσεις από το ποσοστό 71% των δειγμάτων, ενώ στη συνέχεια σε όλες τις περιπτώσεις. Όσον αφορά τα σχήματα ίδιου αριθμού χρόνων δειγματοληψίας, μικρότερες τιμές εμφανίζονται κυρίως για τα πιο σύντομα σε σχέση με τα πιο αραιά. Σχετικά με την τιμή της ισχύος όπως φαίνεται στο Σχήμα 42.B, αυτή ακολουθεί αντίστροφη πορεία παρουσιάζοντας σταδιακή αύξηση με μεγαλύτερες τιμές για τα πιο σύντομα σχήματα.



Σχήμα 43. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την επίδραση στην παράμετρο AUC_{inf}, στο Σχήμα 43.A παρατηρούνται σημαντικά αυξημένες τιμές της υπολειπόμενης διασποράς από την αφαίρεση 50% των δειγμάτων και έπειτα, κυρίως για τα πιο σύντομα σχήματα, σε συμφωνία με το

διασταυρωτό σχεδιασμό. Αντίστοιχα στο Σχήμα 43.B εμφανίζονται αρκετά χαμηλότερες τιμές ισχύος για ποσοστό 50% ή μικρότερο για τα συντομότερα σχήματα.

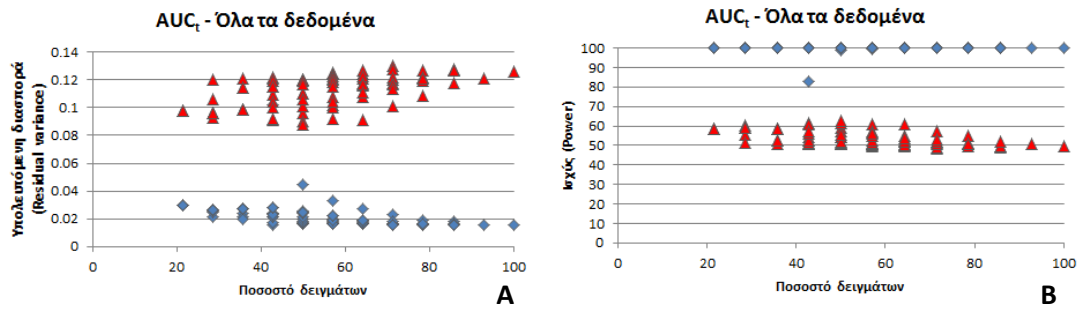


Σχήμα 44. Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας σε όλους τους χρόνους συνδυαστικά με τη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στο Σχήμα 44.A δεν παρατηρείται κάποια σημαντική τροποποίηση στην τιμή της υπολειπόμενης διασποράς για την παράμετρο C_{max} . Εξετάζοντας τις αλλαγές στην τιμή για το ίδιο ποσοστό δειγμάτων δε συμπεραίνεται κάποια τάση ανάλογα με τους αφαιρούμενους χρόνους δειγματοληψίας. Ομοίως στο Σχήμα 44.B η συγκεκριμένη επέμβαση δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την τιμή της ισχύος ή να προκαλεί κάποια διαφοροποίηση ανάλογα με τα αφαιρούμενα ζεύγη δεδομένων.

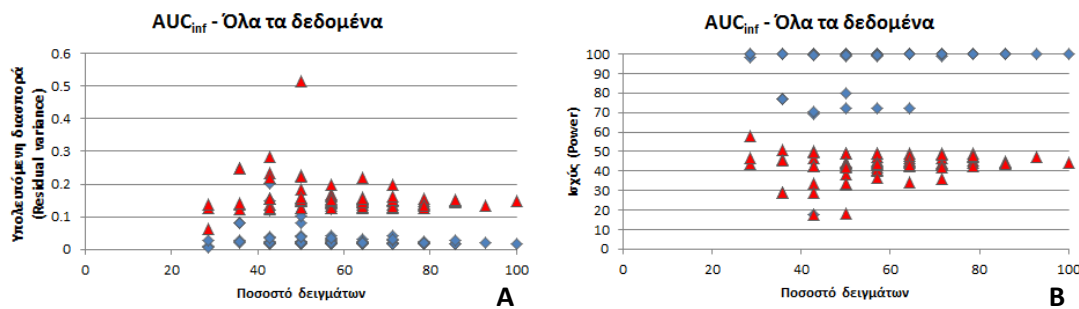
9. Συγκεντρωτική παρουσίαση όλων των επεμβάσεων

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται γραφήματα που περιλαμβάνουν τα αποτελέσματα των επεμβάσεων στο σχήμα δειγματοληψίας συγκεντρωτικά για το διασταυρωτό σχεδιασμό (μπλε σημεία) και τον παράλληλο (κόκκινα σημεία), για τον οποίο και θα περιγραφούν. Εμπεριέχουν δηλαδή όλα τα προηγούμενα αποτελέσματα για κάθε φαρμακοκινητική παράμετρο ξεχωριστά.



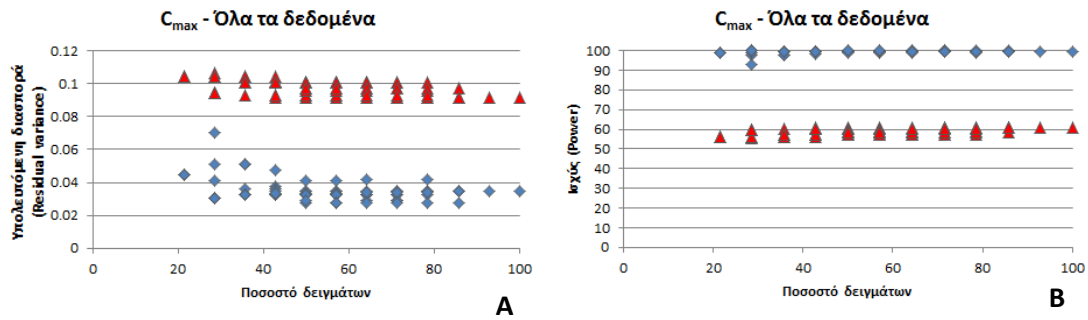
Σχήμα 45. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_t σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Σχετικά με την παράμετρο AUC_t , με τη μείωση των χρόνων δειγματοληψίας στον παράλληλο σχεδιασμό παρατηρείται η εμφάνιση μειωμένων τιμών της υπολειπόμενης διασποράς (Σχήμα 45.A). Οι πιο χαμηλές τιμές αφορούν τις ακραίες περιπτώσεις όλων των επεμβάσεων, κατά κύριο λόγο όμως των συντομότερων σχημάτων δειγματοληψίας. Αντίστοιχα στις ίδιες περιπτώσεις, η τιμή της ισχύος εμφανίζει μία ασθενή αύξηση (Σχήμα 45.B).



Σχήμα 46. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο AUC_{inf} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Όσον αφορά την παράμετρο AUC_{inf} στον παράλληλο σχεδιασμό, η υπολειπόμενη διασπορά της αποκλίνει για περισσότερα σημεία προς μεγάλες τιμές, ενώ αυτές οι αποκλίσεις είναι και μεγαλύτερες (Σχήμα 46.A). Οι μεγαλύτερες τιμές αντιστοιχούν σε συντομότερα σχήματα, ενώ οι μικρότερες κυρίως σε πιο αραιά σχήματα. Από την άλλη πλευρά η ισχύς επηρεάζεται σε γενικές γραμμές αντίστροφα, με μικρότερες τιμές για τα συντομότερα σχήματα και μεγαλύτερες για τα πιο αραιά (Σχήμα 46.B).



Σχήμα 47. Συγκεντρωτικά γραφήματα της επίδρασης των τριών επεμβάσεων στην υπολειπόμενη διασπορά (A) και την ισχύ (B) για την παράμετρο C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων.

Στο Σχήμα 47.A παρατηρείται για τον παράλληλο σχεδιασμό μία ασθενής αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς της C_{max} με τις μεγαλύτερες τιμές να αντιστοιχούν σε πιο αραιά σχήματα με αφαίρεση πολλών χρόνων δειγματοληψίας και κυρίως σε αρχικούς χρόνους. Αντιθέτως, η τιμή της ισχύος εμφανίζει ήπια μείωση, με τις χαμηλότερες τιμές να αντιστοιχούν στα προαναφερθέντα σχήματα δειγματοληψίας (Σχήμα 47.B). Παρατηρείται ότι η επίδραση στη C_{max} είναι μικρότερη σχετικά με τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} .

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η κατάλληλη σχεδίαση μίας κλινικής μελέτης βιοϊσοδυναμίας, είναι βασικό και κρίσιμο στάδιο της, καθώς εξασφαλίζει αξιόπιστα αποτελέσματα, μικρότερη έκθεση των εθελοντών στο φάρμακο, μικρότερες απαιτήσεις όσον αφορά τον αριθμό των εθελοντών και τη συνεργασία τους και συγκρατεί το κόστος. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί η δυνατότητα ευελιξίας όσον αφορά το σχήμα δειγματοληψίας και τον κλινικό σχεδιασμό των μελετών βιοϊσοδυναμίας. Μελετήθηκε λοιπόν η επίδραση του κλινικού σχεδιασμού, της πυκνότητας και της διάρκειας του δειγματοληπτικού σχήματος μεμονωμένα και συνδυαστικά στις βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC_t , AUC_{inf} και C_{max} , που προτείνονται από τους κανονιστικούς οργανισμούς.

Σχετικά με την *πυκνότητα του σχήματος*, παρατηρήθηκε ότι λιγότερο πυκνά σχήματα προκαλούν αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς για τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} , για ποσοστό 43% ή μικρότερο των χρόνων δειγματοληψίας. Από την άλλη πλευρά η ισχύς είναι ανεπηρέαστη. Οι παρατηρήσεις αυτές είναι κοινές ανεξαρτήτως αν δίνεται έμφαση σε αρχικούς, μεσαίους ή τελικούς χρόνους του σχήματος. Όσον αφορά την παράμετρο C_{max} , η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται και στις τρεις περιπτώσεις πιο αραιών σχημάτων δειγματοληψίας. Οι αυξημένες τιμές εμφανίζονται σε σχέση με τους αφαιρούμενους χρόνους κατά σειρά πρώτα για τους αρχικούς, έπειτα για τους ενδιάμεσους και τέλος για τους τελικούς χρόνους. Αυτό είναι αναμενόμενο καθώς η C_{max} παρατηρείται σε αρχικούς χρόνους, άρα ένα αραιό σε αρχικούς χρόνους σχήμα την επηρεάζει περισσότερο. Η ισχύς παραμένει ανεπηρέαστη από την πυκνότητα του σχήματος, εκτός από την εμφάνιση πολύ μικρών μειώσεων σποραδικά.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της *διάρκειας του σχήματος* δειγματοληψίας. Η υπολειπόμενη διασπορά του AUC_t παρουσιάζει σταδιακή αύξηση για διάρκεια 24 ωρών ή μικρότερη. Αντιθέτως για την παράμετρο AUC_{inf} παρουσιάζονται απότομα σημαντικές αυξήσεις στην τιμή της. Αντίστοιχα η ισχύς για το AUC_t μειώνεται για ποσοστό 43% (διάρκεια 4 ωρών), ενώ για την παράμετρο AUC_{inf} μειώνεται σημαντικά για λιγότερο σύντομα σχήματα. Το AUC_{inf} επηρεάζεται περισσότερο καθώς στον υπολογισμό της χρησιμοποιείται η κλίση του τελευταίου ευθύγραμμου τμήματος του γραφήματος C-t, άρα καθορίζεται από τους τελικούς χρόνους δειγματοληψίας. Αντιθέτως η διάρκεια του σχήματος δεν εμφανίζει κάποια σημαντική επίδραση στην παράμετρο C_{max} .

Όσον αφορά τη συνδυαστική επέμβαση στη *διάρκεια* και την *πυκνότητα* του δειγματοληπτικού σχήματος, η υπολειπόμενη διασπορά για τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} παρουσιάζει σταδιακή αύξηση, με εμφάνιση μεγαλύτερων τιμών για τα πιο σύντομα σχήματα και για το AUC_{inf} , το οποίο επηρεάζεται περισσότερο. Αντίστοιχα η ισχύς του AUC_{inf} μειώνεται για αυτές τις περιπτώσεις, ενώ του AUC_t όχι. Οι παρατηρήσεις αυτές δεν επηρεάζονται από την εστίαση του πιο αραιού σχήματος σε αρχικούς ή στους εναπομείναντες, μετά την αφαίρεση των τελικών, χρόνους δειγματοληψίας. Σχετικά με την C_{max} , αυτή επηρεάζεται ασθενώς μόνο από την πυκνότητα σε αρχικούς χρόνους.

Ακολούθως μελετήθηκε η επίδραση εφαρμογής του *παράλληλου σχεδιασμού* σε σχέση με το διασταυρωτό και διαπιστώνεται ότι προκαλεί μεγάλη αύξηση στην υπολειπόμενη διασπορά και των τριών παραμέτρων, ενώ η ισχύς μειώνεται περίπου στο 50%. Περισσότερο επηρεάζεται η παράμετρος AUC_{inf} και λιγότερο η C_{max} . Όταν εφαρμόζεται *παράλληλος σχεδιασμός* σε συνδυασμό με *αραιότερα* σχήματα δειγματοληψίας, ασχέτως αν δίνεται έμφαση στην αρχή, τη μέση ή το τέλος του σχήματος, η υπολειπόμενη διασπορά των AUC_t και AUC_{inf} μειώνεται ασθενώς, ενώ η ισχύς εμφανίζει μικρή τάση αύξησης. Η επίδραση αυτή της πυκνότητας στην υπολειπόμενη διασπορά στην περίπτωση του παράλληλου σχεδιασμού φαίνεται αντίθετη σε σχέση με το διασταυρωτό σχεδιασμό, στον οποίο η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται. Το παραπάνω φαινόμενο πιθανώς οφείλεται στην μικρότερη απόσταση των δεδομένων μετά την αφαίρεση κάποιων χρόνων δειγματοληψίας και στην μεγαλύτερη ευαισθησία του παράλληλου σχεδιασμού να ανιχνεύει τέτοιες μεταβολές. Σχετικά με την C_{max} , η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται και η ισχύς μειώνεται, με γρηγορότερη επίδραση της χαμηλής πυκνότητας κατά σειρά σε αρχικούς, ενδιάμεσους και τελικούς χρόνους, όπως συμβαίνει και στο διασταυρωτό σχεδιασμό, καθώς η C_{max} παρατηρείται στην αρχή του σχήματος.

Στην περίπτωση συνδυασμού *συντομότερου* σχήματος δειγματοληψίας και *παράλληλου σχεδιασμού*, αρχικά παρουσιάζεται μείωση της υπολειπόμενης διασποράς του AUC_t και στην συνέχεια η τιμή της αυξάνεται. Η ιδιαιτερότητα αυτή οφείλεται όπως αναφέρθηκε προηγουμένως στην ευαισθησία του παράλληλου σχεδιασμού να ανιχνεύει μεταβολές στην απόκλιση των δεδομένων. Η αντίστοιχη ισχύς εμφανίζει αντίστροφη πορεία. Η επέμβαση στην παράμετρο AUC_{inf} προκαλεί αύξηση της υπολειπόμενης διασποράς και μείωση της ισχύος, ενώ η C_{max} δεν επηρεάζεται, όπως ακριβώς και στο διασταυρωτό σχεδιασμό.

Στην τελευταία περίπτωση, κατά την οποία γίνεται επέμβαση συγχρόνως στον κλινικό σχεδιασμό, την πυκνότητα και τη διάρκεια του σχήματος, τα συμπεράσματα είναι κοινά ασχέτως του σημείου που γίνεται αραιότερο το σχήμα δειγματοληψίας. Συγκεκριμένα για την παράμετρο AUC_t η υπολειπόμενη διασπορά μειώνεται, με μικρότερες τιμές για συντομότερα σχήματα και αντίστροφα για την ισχύ. Όσον αφορά το AUC_{inf} η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται, με μεγαλύτερες τιμές για τα συντομότερα σχήματα, ενώ η ισχύς εμφανίζει αντίθετη πορεία, όπως και στο διασταυρωτό σχεδιασμό. Τέλος, η C_{max} δεν εμφανίζει επιρροή ή τάση στην υπολειπόμενη διασπορά και την ισχύ. Η μόνη παρατήρηση είναι ότι στην περίπτωση που δίνεται έμφαση στην πυκνότητα σε αρχικούς χρόνους, τα πιο αραιά σχήματα δίνουν μεγαλύτερες τιμές υπολειπόμενης διασποράς, όπως και στο διασταυρωτό σχεδιασμό.

Από τη συγκριτική παρατήρηση των αποτελεσμάτων για την παράμετρο AUC_t , προκύπτει ότι μεγαλύτερη επίδραση έχει η συντομότερη διάρκεια του σχήματος δειγματοληψίας. Σε διασταυρωτό σχεδιασμό η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται, ενώ στον παράλληλο μειώνεται. Όσον αφορά την παράμετρο AUC_{inf} , η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται και για τους δύο κλινικούς σχεδιασμούς, ιδιαίτερα για τα συντομότερα σχήματα. Ιδιαιτερότητα αποτελεί στον παράλληλο σχεδιασμό η εμφάνιση κάποιων μειωμένων τιμών που αντιστοιχούν σε πιο αραιά σχήματα δειγματοληψίας. Από την άλλη πλευρά μεγαλύτερη επίδραση στη C_{max} εμφανίζει η επέμβαση στην πυκνότητα και κυρίως σε αρχικούς χρόνους. Η υπολειπόμενη διασπορά αυξάνεται, ενώ η ισχύς στον παράλληλο σχεδιασμό μειώνεται.

Πρόσφατα μελετήθηκε η επίδραση του σχήματος δειγματοληψίας στα αποτελέσματα των μελετών βιοϊσοδυναμίας διενεργώντας *in silico* και *in vivo* μελέτες (Kano et al., 2017). Ως κριτήριο βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιήθηκε το 90% διάστημα εμπιστοσύνης των παραμέτρων AUC_t και C_{max} και τα όρια βιοϊσοδυναμίας 80 έως 125%. Το συμπέρασμα της συγκεκριμένης μελέτης ήταν ότι ο αριθμός των χρόνων δειγματοληψίας δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα με την προϋπόθεση ότι ο T_{max} εμπεριέχεται σε αυτούς τους χρόνους. Συγκεκριμένα αποδείχθηκε ότι επηρεάζεται η C_{max} και μειώνεται η αντίστοιχη στατιστική ισχύς, ενώ δεν επηρεάζεται το AUC_t . Όμως τα σχήματα δειγματοληψίας που μελετήθηκαν είχαν διάρκεια 8 ή 10 ώρες, για την *in vivo* και τις *in silico* μελέτες βιοϊσοδυναμίας αντίστοιχα και οι χρόνοι που αφαιρούνταν ανήκαν στο εύρος 10 λεπτά έως 3 ώρες. Παρατηρείται λοιπόν ότι η διάρκεια των σχημάτων δειγματοληψίας ήταν ιδιαίτερα σύντομη

και ουσιαστικά διερευνήθηκε η επίδραση της πυκνότητας του σχήματος σε αρχικούς χρόνους.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με τη συγκεκριμένη μελέτη όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σε αρχικούς χρόνους του σχήματος δειγματοληψίας στην παράμετρο C_{max} . Αντιθέτως η παραπάνω μελέτη δεν ανίχνευσε κάποια επίδραση της συγκεκριμένης επέμβασης στην παράμετρο AUC_t . Τα πιο αραιά σχήματα από αυτά που μελετήθηκαν περιλαμβάνουν τους χρόνους: 0,1,2,3,4,5,6,7,8 ή 0,1,2,3,4,5,6,8,10 ώρες. Από την άλλη πλευρά στην παρούσα εργασία το σχήμα που εμφανίζει πρώτο επίδραση στο AUC_t είναι εκείνο με χρόνους: 0,2,6,12,48,144 ώρες. Συνεπώς η μη ανίχνευση διαφορών στην παράμετρο AUC_t στην προαναφερθείσα μελέτη οφείλεται στο γεγονός ότι δεν μελετήθηκαν αντίστοιχης πυκνότητας αραιά σχήματα. Όσον αφορά την ανάγκη να συμπεριλαμβάνεται ο T_{max} στους χρόνους δειγματοληψίας, αυτό δεν μπόρεσε να διερευνηθεί στην παρούσα εργασία καθώς παρατηρείται ευρεία διασπορά της παραμέτρου αυτής στα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν.

Συνοψίζοντας, σε όλες τις περιπτώσεις ο διασταυρωτός σχεδιασμός υπερέρχει του παράλληλου από την άποψη ότι δίνει σημαντικά μειωμένη υπολειπόμενη διασπορά και αυξημένη στατιστική ισχύ για τις τρεις κύριες φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Η παράμετρος C_{max} επηρεάζεται περισσότερο όταν μειώνεται το πλήθος των αρχικών χρόνων δειγματοληψίας, καθώς σε αυτούς τους χρόνους παρατηρείται ο T_{max} , ενώ δεν επηρεάζεται από τη διάρκεια του σχήματος. Όσον αφορά τις παραμέτρους AUC_t και AUC_{inf} , αυτές επηρεάζονται τόσο από την πυκνότητα, όσο και από τη διάρκεια του σχήματος, σε μεγαλύτερο βαθμό όμως από τη δεύτερη επέμβαση. Επιπροσθέτως, από τις δύο μεγαλύτερη ευαισθησία στις επεμβάσεις εμφανίζει το AUC_{inf} , πιθανώς επειδή στον υπολογισμό του χρησιμοποιείται η κλίση του τελευταίου ευθύγραμμου τμήματος του γραφήματος C-t. Τελικά συμπεραίνεται η δυνατότητα σχημάτων με αρκετά λιγότερους χρόνους δειγματοληψίας από το εφαρμοζόμενο στη μελέτη βιοϊσοδυναμίας που χρησιμοποιήθηκε, καθώς οι πρώτες σημαντικές επιδράσεις παρατηρούνται σε ποσοστό εναπομεινάντων χρόνων 64% για τα AUC_t και AUC_{inf} , και σε μικρότερο του 50% για τη C_{max} .

Η διενέργεια περισσότερων ερευνών στον τομέα της σχεδίασης των μελετών βιοϊσοδυναμίας θα προσφέρει τη δυνατότητα αξιόπιστων και ασφαλών αποτελεσμάτων, με σεβασμό των ηθικών επιβολών και συγκράτηση του κόστους. Επιπλέον πιθανώς θα οδηγήσει στη διατύπωση κατευθυντήριων οδηγιών προσαρμοσμένων στις ιδιότητες της εκάστοτε δραστικής ουσίας (π.χ. T_{max} , $t_{1/2}$).

E. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anderson S, Hauck W. 1990. Consideration of individual bioequivalence. *J Pharmacokinet Biopharm*, 18(3), 259-73
- Basson RP, Cerimele BJ, DeSante KA, Howey DC. 1996. T_{max} : an unconfounded metric for rate of absorption in single-dose bioequivalence studies. *Pharm Res*, 13(2), 324-8
- Blume H, Midha K. 1993. Bio-International '92, Conference on bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *J Pharm Sci*, 82(11), 1186-9
- Boddy AW, Snikeris FC, Kringle RO, Wei GC, Oppermann JA, Midha KK. 1995. An approach for widening the bioequivalence acceptance limits in the case of highly variable drugs. *Pharm Res*, 12(12) 1865-8
- Bois FY, Tozer TN, Hauck WW, Chen ML, Patnaik R, Williams RL. 1994. Bioequivalence: performance of several measures of extent of absorption. *Pharm Res*, 11(5), 715-22
- Bois FY, Tozer TN, Hauck WW, Chen ML, Patnaik R, Williams RL. 1994. Bioequivalence: performance of several measures of rate of absorption. *Pharm Res*, 11(7), 966-74
- Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2001. *Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence*. Food and Drug Administration (FDA). Διαθέσιμο από: <https://www.fda.gov/media/70958/download> [9 Νοεμβρίου 2019]
- Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2003. *Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations*. Food and Drug Administration (FDA). Διαθέσιμο από: <https://www.ipqpubs.com/wp-content/uploads/2014/04/BABEOld.pdf> [9 Νοεμβρίου 2019]
- Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2014. *Bioavailability and Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs - General Considerations, Draft Guidance*. Food and Drug Administration (FDA). Διαθέσιμο από: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioavailability-and-bioequivalence-studies-submitted-ndas-or-ind-s-general-considerations> [9 Νοεμβρίου 2019]
- Chen ML. 1992. An alternative approach for assessment of rate of absorption in bioequivalence studies. *Pharm Res*, 9(11), 1380-5
- Chen ML, Lesko JL. 2001. Individual bioequivalence revisited. *Clinical Pharmacokinetics*, 40(10), 701-6
- Chen ML, Lesko L, Williams RL. 2001. Measures of exposure versus measures of rate and extent of absorption. *Clin Pharmacokinet*, 40(8), 565-72
- Chen ML, Patnaik R, Hauck WW, Schuirmann DJ, Hyslop T, Williams R. 2000. An individual bioequivalence criterion: regulatory consideration. *Stat Med*, 19(20), 2821-42
- Chereson R. 1996. Chapter 8: 'Bioavailability, bioequivalence and drug selection' in Makoid MC, Vuchetich PJ, Banakar UV (eds) *Basic Pharmacokinetics*. Διαθέσιμο από: <http://http://klinikfarmakoloji.com/files/PKINBOOK.PDF> [2 Αυγούστου 2019]
- Code of Federal Regulations. Title 21 Food and Drugs, Part 320 *Bioavailability and Bioequivalence Requirements*. Διαθέσιμο από: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2009-title21-vol5/pdf/CFR-2009-title21-vol5-sec320-1.pdf> [10 Νοεμβρίου 2019]

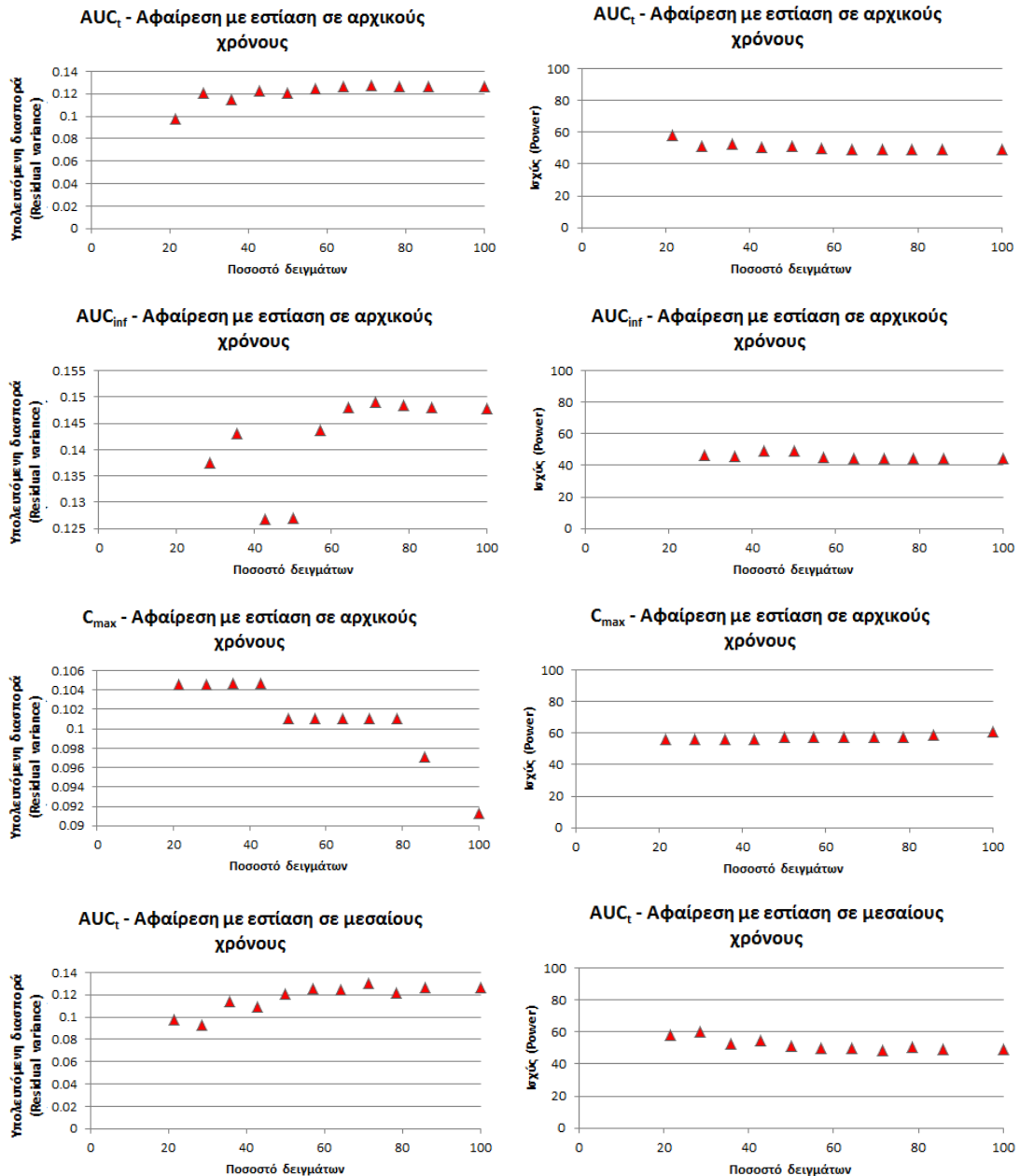
- Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP), 2010. *Guideline on the Investigation of Bioequivalence*. European Medicines Agency (EMA). Διαθέσιμο από: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf [9 Νοεμβρίου 2019]
- Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP), 2014. *Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms*. European Medicines Agency (EMA). Διαθέσιμο από: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmacokinetic-clinical-evaluation-modified-release-dosage-forms_en.pdf [10 Νοεμβρίου 2019]
- Douglas VC, Aminoff MG. 2019. 'Dementia' in Papadakis MA, McPhee SJ, Rabow MW, (eds), *Current Medical Diagnosis & Treatment*, 58th edn, pp. 2521-31. McGraw-Hill Education
- Duquesnoy C, Lacey LF, Keene ON, Bye A. 1998. Evaluation of different partial AUCs as indirect measures of rate of drug absorption in comparative pharmacokinetic studies. *Eur J Pharm Sci*, 6(4), 259-64
- Endrenyi L, Fritsch S, Yan W. 1991. C_{max}/AUC is a clearer measure than C_{max} for absorption rates in investigations of bioequivalence. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*, 29(10), 394-9
- Endrenyi L, Tothfalusi L. 2012. Metrics for the Evaluation of Bioequivalence of Modified-Release Formulations. *AAPS J*, 14(4), 813-9
- El-Tahtawy A, Jackson A, Ludden T. 1994. Comparison of single and multiple dose pharmacokinetics using clinical bioequivalence data and monte carlo simulations. *Pharm Res*, 11(9), 1330-6
- El-Tahtawy A, Jackson A, Ludden T. 1995. Evaluation of bioequivalence of highly variable drugs using monte carlo simulations. Part I: estimation of rate of absorption for single and multiple dose trials using C_{max}. *Pharm Res*, 12(11), 1634-41
- European Parliament and Council Directive 2004/27/EC amending Directive 2001/83/EC on *the Community code relating to medicinal products for human use*, 31 March 2004, Official Journal of the EU L36, p. 34 Διαθέσιμο από: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2004_27/dir_2004_27_en.pdf [10 Νοεμβρίου 2019]
- Haidar SH, Davit B, Chen ML, Conner D, Lee L, Li QH, Lionberger R, Makhlof F, Patel D, Schuirmann DJ, Yu LX. 2008. Bioequivalence approaches for highly variable drugs and drug products. *Pharm Res*, 25(1), 237-41
- Haidar SH, Makhlof F, Schuirmann DJ, Hyslop T, Davit B, Conner T and Yu LX. 2008. Evaluation of a Scaling Approach for the Bioequivalence of Highly Variable Drugs. *AAPS J*, 10(3), 450-4
- Harper MG, Johnston BC, Landefeld SC. 2019. 'Dementia' in Papadakis MA, McPhee SJ, Rabow MW, (eds), *Current Medical Diagnosis & Treatment*, 58th edn, pp. 145-52. McGraw-Hill Education
- Hauck WW, Anderson S. 1992. Types of bioequivalence and related statistical considerations. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*, 30(5), 181-7
- Jackson A. 1987. Prediction of steady-state bioequivalence relationships using single dose data I-linear kinetics. *Biopharm Drug Dispos*, 8(5), 483-96

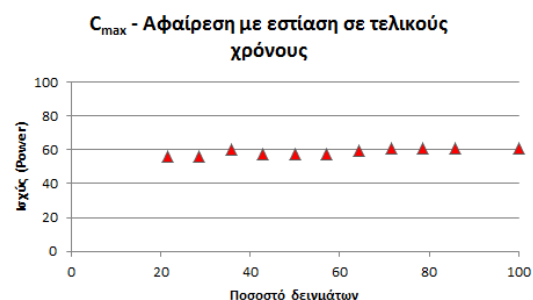
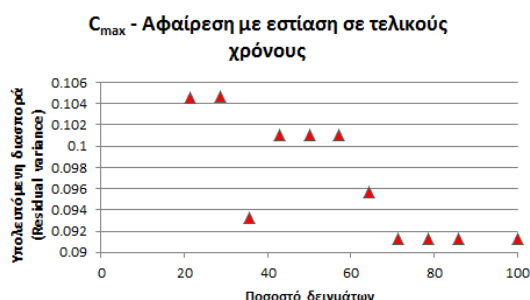
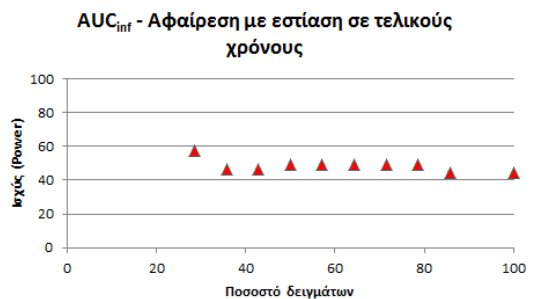
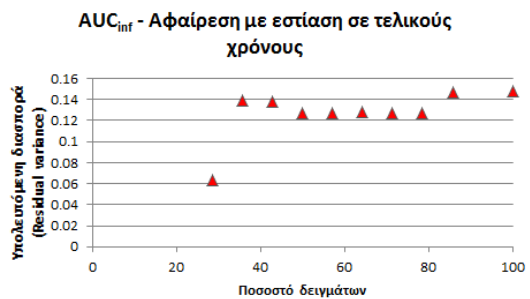
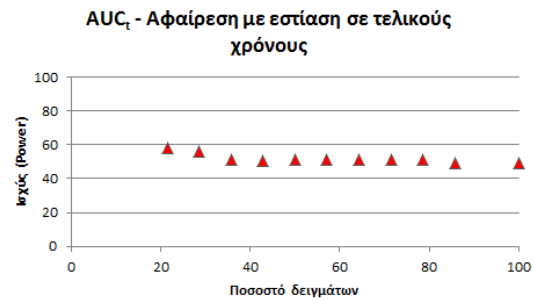
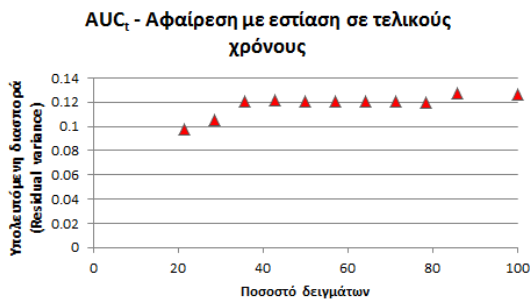
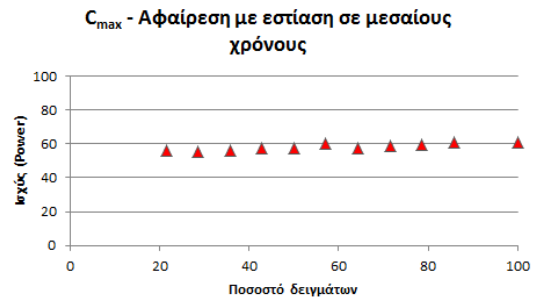
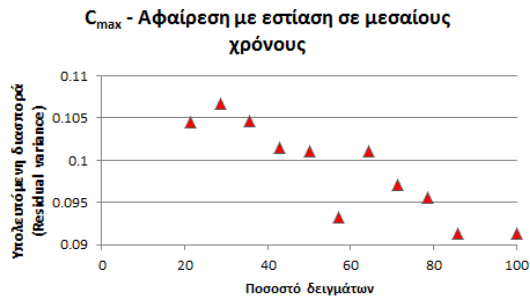
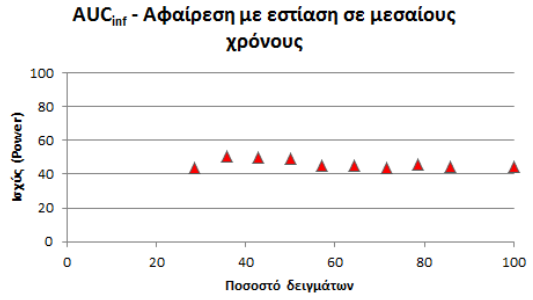
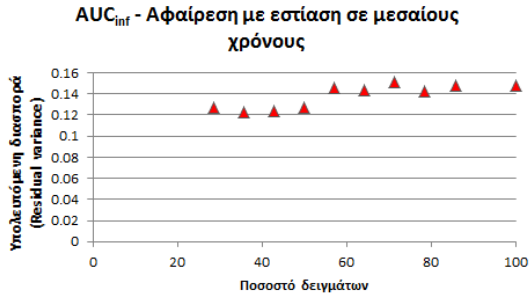
- Kano EK, Chiann C, Fukuda K, Porta V. 2017. Effect of Different Sampling Schedules on Results of Bioavailability and Bioequivalence Studies: Evaluation by Means of Monte Carlo Simulations. *Drug Res (Stuttg)*, 67(8), 451-7
- Karalis V, Symillides M, Macheras P. 2011. On the leveling-off properties of the new bioequivalence limits for highly variable drugs of the EMA guideline. *Eur J Pharm Sci*, 44(4), 497-505
- Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, (eds), 2016, *Harrison's Manual of Medicine*, 19th edn, pp. 968-74. McGraw-Hill Education
- Kharidia J, Jackson AJ, Ouderkirk LA. 1999. Use of truncated areas to measure extent of drug absorption in bioequivalence studies: effects of drug absorption rate and elimination rate variability on this metric. *Pharm Res*, , 16(1), 130-4
- Kondra PM, Endrenyi L, Tothfalusi L. 2011. The need for additional metrics to assess therapeutic equivalence of some multiphasic modified-release products. *Clinical Therapeutics*, 33(9), 1214-9
- Lacey LF, Keene ON, Duquesnoy C, Bye A. 1994. Evaluation of different indirect measures of rate of drug absorption in comparative pharmacokinetic studies. *J Pharm Sci*, 83(2), 212-5
- McGilveray I, Midha K, Skelly J, Dighe S, Doluisio J, French I, Karim A, Burford R. 1990. Consensus report from "Bio-International '89": issues in the evaluation of bioavailability data. *J Pharm Sci*, 79(10), 945-6
- Midha KK, McKay G. 2009. Bioequivalence; Its History, Practice, and Future. *AAPS J*, 11(4), 664-70
- Midha KK, Rawson MJ & Hubbard JW. 1999. Prescribability and switchability of highly variable drugs and drug products. *J. Controlled Release*, 62(1-2), 33-40
- Midha KK, Rawson MJ & Hubbard JW. 2005. The bioequivalence of highly variable drugs and drug products. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 43(10), 485-98
- Niazi SK, Alam SM, Ahmad SI. 1997. Partial-area method in bioequivalence assessment: naproxen. *Biopharm Drug Dispos*, 18(2), 103-16
- Ohnishi A, Mihara M, Kamakura H, Tomono Y, Hasegawa J, Yamazaki K, Morishita N, Tanaka T. 1993. Comparison of the pharmacokinetics of E2020, a new compound for Alzheimer's disease, in healthy young and elderly subjects. *J Clin Pharmacol*, 33(11), 1086-91
- Pocock S. 1978. Size of cancer clinical trials and stopping rules. *Br. J. Cancer*, 38(6), 757-66
- Reppas C, Lacey LF, Keene ON, Macheras P, Bye A. 1995. Evaluation of different metrics as indirect measures of rate of drug absorption from extended release dosage forms at steady state. *Pharm Res*, 12(1), 103-7
- Rostami-Hodjekan A, Jackson PR, Tucker GT. 1994. Sensitivity of indirect metrics for assessing "rate" in bioequivalence studies-moving the "goalposts" or changing the "game". *J Pharm Sci*, 83(11), 1554-7
- Schall R, Luus HG. 1993. On population and individual bioequivalence. *Stat. Med*, 12(12), 1109-24
- Schuirmann DJ. 1987. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinetic Biopharm*, 15(6), 657-80
- Shah V, Yacobi A, Barr W, Benet L, Breimer D, Dobrinska M, Endrenyi L, Fairweather W, Gillespie W, Gonzalez M, Hooper J, Jackson A, Lesko L, Midha K, Noonan P, Patnaik R,

- Williams R. 1996. Evaluation of orally administered highly variable drugs and drug formulations. *Pharm. Res*, 13(11), 1590-4
- Shih W. 2006. Group sequential, sample size re-estimation and two-stage adaptive designs in clinical trials: a comparison. *Stat. Med*, 25(6), 933-41
- Tothfalusi L, Endrenyi L. 1995. Without extrapolation, C_{max}/AUC is an effective metric in investigations of bioequivalence. *Pharm Res*, 12(6), 937-42
- Tothfalusi L, Endrenyi L, Arieta AG. 2009. Evaluation of bioequivalence for highly variable drugs with scaled average bioequivalence. *Clin Pharmacokinet*, 48(11), 725-43
- Tozer TN, Bois FY, Hauck WW, Chen ML and Williams RL. 1996. Absorption Rate vs. Exposure: Which is more useful for bioequivalence testing? *Pharm Res*, 13(3), 453-6
- Van Peer A. 2010. Variability and impact on design of bioequivalence studies. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 106(3), 146-53
- Vincze I, Endrenyi L, Tothfalusi L. 2019. Bioequivalence metrics for absorption rates: linearity, specificity, sensitivity. *Acta Pharm Hung*, 89(1), 17-21
- Νιώπας Ι. 1997. *Κλινική Φαρμακοκινητική (Μέρος Α')*. Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη
- Πολίτης Α, Κατιρτζόγλου Ε, Μούγιας Α. *Κατευθυντήριες Οδηγίες Ελλήνων Εμπειρογνομώνων για τη φαρμακευτική αντιμετώπιση των Ανοιών*. Κεντρικό Συμβούλιο Υγείας. Διαθέσιμο από: <https://www.moh.gov.gr/articles/kentriko-symboylio-ygeias-ndash-kesy/kateythynthries-odhgies> [25 Φεβρουαρίου 2020]

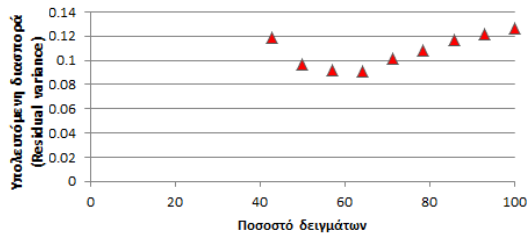
ΣΤ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Γραφήματα επίδρασης της πυκνότητας του σχήματος δειγματοληψίας, της διάρκειας και του συνδυασμού τους με σύγχρονη εφαρμογή παράλληλου σχεδιασμού στην υπολειπόμενη διασπορά και την ισχύ για τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους AUC_t , AUC_{inf} και C_{max} σε σχέση με το ποσοστό των ζευγών δεδομένων που χρησιμοποιούνται.

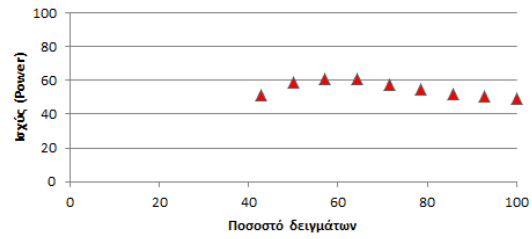




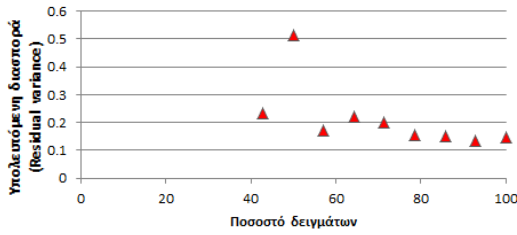
AUC_t - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



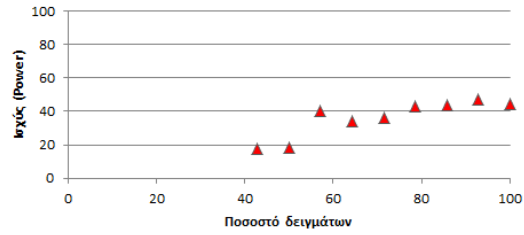
AUC_t - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



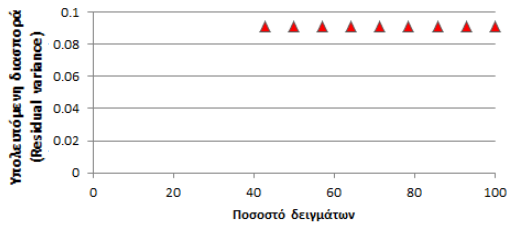
AUC_{inf} - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



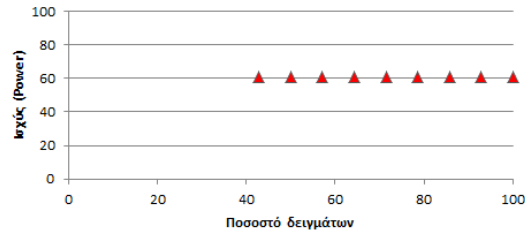
AUC_{inf} - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



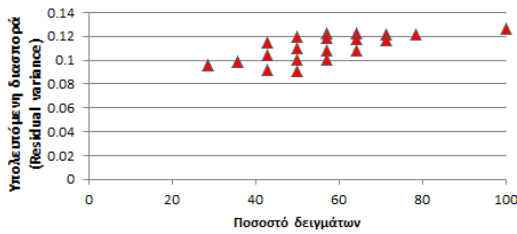
C_{max} - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



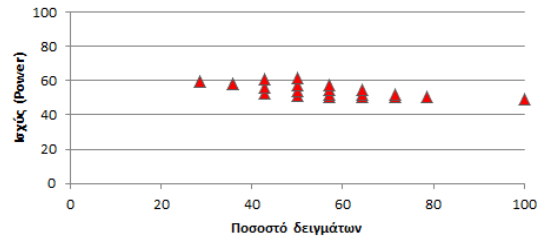
C_{max} - Αφαίρεση μόνο σε συνεχείς τελικούς χρόνους



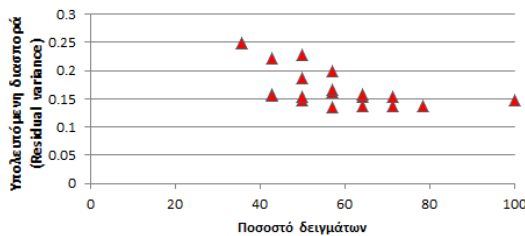
AUC_t - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



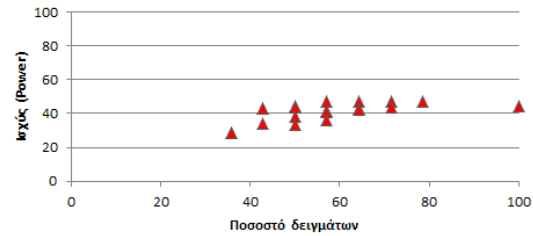
AUC_t - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



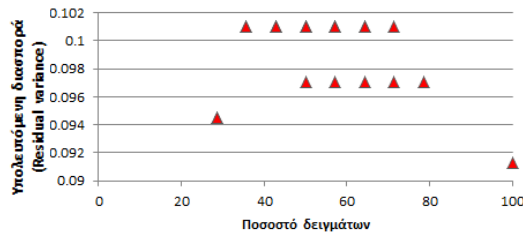
AUC_{inf} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



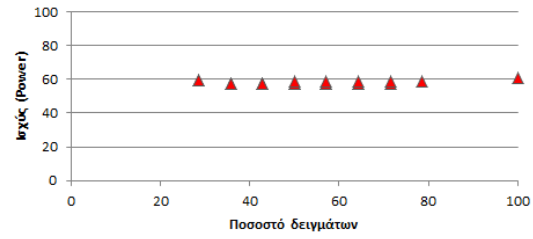
AUC_{inf} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



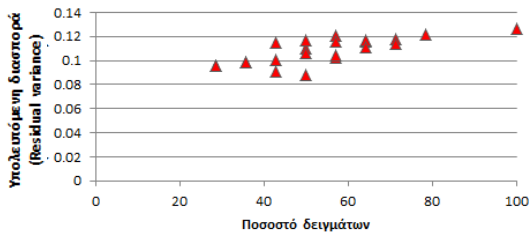
C_{max} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



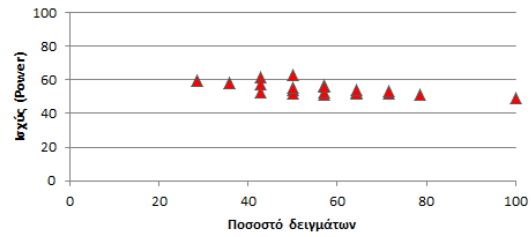
C_{max} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και με εστίαση σε αρχικούς χρόνους



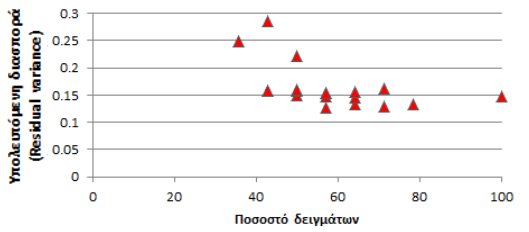
AUC_t - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



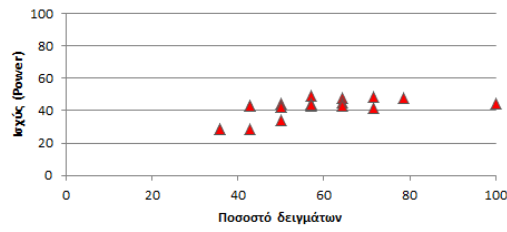
AUC_t - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



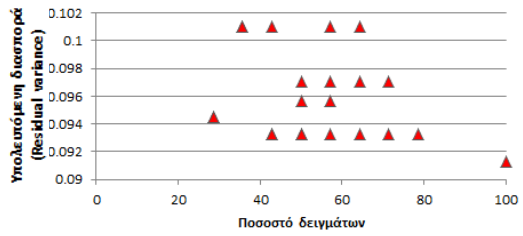
AUC_{inf} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



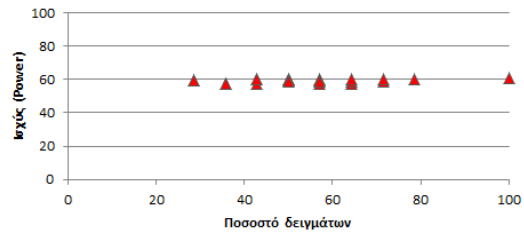
AUC_{inf} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



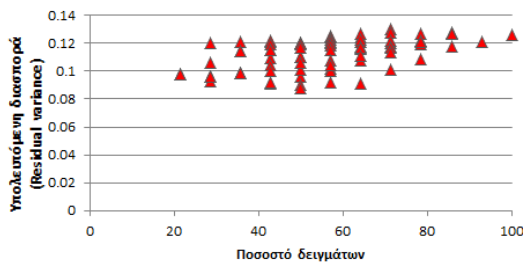
C_{max} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



C_{max} - Αφαίρεση σε συνεχείς τελικούς και ομοιόμορφα στους εναπομείναντες χρόνους



AUC_t - Όλα τα δεδομένα



AUC_t - Όλα τα δεδομένα

