

BİYOEŞDEĞERLİK ÇALIŞMALARINDA İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

STATISTICAL METHODS IN BIOEQUIVALENCE STUDIES

İLKNUR GÜNDÜZ

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
İSTATİSTİK Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2005

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **İSTATİSTİK ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

:.....
Prof. Dr. Ömer ESENSOY

Üye

:.....
Yrd. Doç. Dr. Mehtap AKÇİL TEMEL

Üye (Danışman)

:.....
Öğr. Gör. Dr. Durdu SERTKAYA

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

...../...../.....

Prof.Dr. Ahmet R. ÖZDURAL
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

BİYOEŞDEĞERLİK ÇALIŞMALARINDA İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

İlknur GÜNDÜZ

ÖZ

Dünyada gerçekleşen her olayda olduğu gibi ilaç geliştirme çalışmalarında da istatistiksel hesaplamalar, araştırmacıların tezlerini ispatlamak amacıyla yaptıkları çalışmanın ana öğelerinden biridir. Deney düzeninden son karar verme aşamasına kadar araştırmanın her adımında istatistik yer almaktadır. Bu çalışmada, biyoeşdeğerlik kuramı hakkında bilgi vermek, biyoeşdeğerlikte istatistiksel yöntemleri incelemek ve belirlenen önem düzeyinde formüllerin bireyler içi varyanslarının farkı ve birey formül etkileşimi varyansı anlamlı olduğunda biyoeşdeğerlik çözümlemesinde kullanılacak yöntemleri vermek amaçlanmıştır.

Çalışmanın ikinci bölümünde, biyoeşdeğerliğe ilişkin temel kavramlar, biyoeşdeğerliğin genel yapısı, deney düzeni, deney, laboratuvar aşamaları, istatistiksel çözümleme ve bu çözümlemede kullanılan ölçütün genel yapısı ve kullanılan farmakinetik parametreler verilmiştir.

Üçüncü bölümde, ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri, bu yöntemlerde kullanılabilecek deney düzenleri, hesaplama yöntemleri, biyoeşdeğerlik ölçütü, varyans sabiti ve biyoeşdeğerlik limitlerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesi üzerinde durulmuştur. Ayrıca kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin birbirleriyle karşılaştırılmalarından elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Son bölümde, gerçek bir veri kümesi kullanılarak çalışmada incelenen yöntemlerin uygulaması yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyoeşdeğerlik, ortalama biyoeşdeğerlik, kitle biyoeşdeğerlik, bireysel biyoeşdeğerlik.

Danışman: Öğr. Gör. Dr. Durdu SERTKAYA, Hacettepe Üniversitesi, İstatistik Bölümü, Risk Analizi Anabilim Dalı

STATISTICAL METHODS USED IN BIOEQUIVALENCE STUDIES

İlknur GÜNDÜZ

ABSTRACT

As all the things happen in world, also in the drug developing researches statistical calculations are the main parts of study to prove the thesis of the researches. In every steps of study, from experimental design step to decision and conclusion step, statistical analysis is used. The aim of this study is to give information about bioequivalence theory, to clarify bioequivalence methods and to determine which method should be used when difference in within subject variances or subject by formulation interaction variance is significant at defined significance level.

In the second part of this study, main definitions about bioequivalence, general structure of bioequivalence, experimental design, experiment, laboratory steps, statistical analysis, and criteria and pharmacokinetic parameters used in this analysis are given.

In the third part, average, population and individual bioequivalence methods, experimental designs, calculation methods, bioequivalence criteria, variance constant and bioequivalence limits used in these methods are explained. Results from comparison among average, population and individual bioequivalence methods are given.

Finally, the application of the methods, explained in the study is performed using the original data.

Keywords: Bioequivalence, average bioequivalence, population bioequivalence, individual bioequivalence.

Advisor: Instructor Dr. Durdu SERTKAYA, Hacettepe University, Department of Statistics, Division of Risk Analysis

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında değerli katkı ve eleştirileriyle bana yol gösteren danışmanım Sayın Öğr. Gör. Dr. Durdu Sertkaya'ya, gerekli çalışma ortamını hazırlayan ve çalışmam süresince yardımını esirgemeyen Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Süleyman Günay'a, değerli önerileriyle çalışmama yön veren Sayın Prof. Dr. Ömer Esensoy'a, biyoeşdeğerlik konusundaki geniş bilgi birikimini benimle paylaşan Sayın Onursal Sağlam'a, değerli katkılarıyla çalışmamın anlatım dilinin düzeltilmesinde yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehtap Akçil Temel'e ve Sayın Doç. Dr. Cem Kadılar'a, çalışmam boyunca manevi desteklerini esirgemeyen hocalarıma, amirlerime, çalışma arkadaşlarıma ve her zaman bana destek olan AİLEM'e ve Hasan Özdemir'e içtenlikle teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Biyoeşdeğerlik	4
2.1.1. İlaç Değişebilirliği	4
2.1.1.1. İlaçların Birbirinin Yerine Kullanılabilmesi	5
2.1.1.2. İlaçların Nöbetleşe Kullanılabilmesi	5
2.2. Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Aşamaları	5
2.2.1. Deney Düzeni	5
2.2.2. Deney	7
2.2.3. Laboratuvar	7
2.2.4. İstatistiksel Çözümleme	7
2.2.4.1. Biyoeşdeğerlik Ölçütünün Genel Yapısı	9
2.2.4.2. İlaç Araştırmalarında Kullanılan Farmakinetik Parametreler ...	10
3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	14
3.1. Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi	14
3.1.1. Deney Düzeni	14
3.1.2. US FDA'nın Ortalama Biyoeşdeğerlik Ölçütü	14
3.2. Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemi	16
3.2.1. US FDA'nın Kitle Biyoeşdeğerlik Ölçütü	16
3.2.2. Toplam Varyans Sabitinin Saptanması	17
3.2.3. Kitle Biyoeşdeğerlik Limitinin Saptanması	18
3.2.4. Deney Düzeni ve Güven Aralığı Yöntemi	19
3.2.5. Üst Limit Yöntemi	23
3.3. Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi	24
3.3.1. US FDA'nın Bireysel Biyoeşdeğerlik Ölçütü	27
3.3.2. Toplam Varyans Sabitinin Saptanması	29
3.3.3. Bireysel Biyoeşdeğerlik Limitinin Saptanması	30
3.3.4. Deney Düzeni ve Güven Aralığı Yöntemi	30
3.3.5. 3H Yöntemi	36
3.3.6. Genelleştirilmiş P-değeri Yöntemi	39
3.4. Kitle ve Bireysel Biyoeşdeğerlikte Kullanılan Diğer Deney Düzenleri	42
3.4.1. Üç Tekrarlı Deney Tasarımı	44
3.4.2. İki Tekrarlı Deney Tasarımı	42
3.5. Ortalama ve Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması	47

3.6.	Ortalama ve Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması	48
3.7.	Kitle ve Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması	51
4.	UYGULAMA	52
4.1.	Deney Tasarımı.....	52
4.1.1.	Bireylerin Çalışmaya Alınma Ölçütleri.....	52
4.1.2.	Rasgele İlaç Alım Çizelgesi	52
4.1.3.	Kan Alım Zamanları	54
4.2.	Ön Hazırlık Dönemi.....	54
4.3.	Deney.....	54
4.4.	Laboratuvar	55
4.5.	İstatistiksel Çözümleme	55
4.5.1.	Betimleyici İstatistikler	55
4.5.2.	Normal Dağılım Varsayımının ve Artıkların İncelenmesi.....	56
4.5.3.	Farmakinetik Parametrelerin İncelenmesi.....	57
4.5.4.	Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları.....	64
4.5.5.	Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları	66
4.5.6.	Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları.....	69
4.6.	Uygulama Sonuçları.....	71
5.	SONUÇ VE TARTIŞMA	73
	KAYNAKLAR.....	76
	ÖZGEÇMİŞ	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	: Ortalama biyoeşdeğerlik ölçütü (average bioequivalence criterion)
ABL	: Ortalama biyoeşdeğerlik limiti (average bioequivalence limit)
AUC	: Eğri altında kalan alan (area under curve)
C_i	: i. zamandaki emilim oranı yada i. zamandaki yoğunluk (concentration in i. period)
C_{maks}	: En büyük yoğunluk değeri (maximum concentration)
CV	: Değişim katsayısı (coefficient of variance)
US FDA	: Amerika Birleşik Devleti Gıda ve İlaç Kurumu (United States Food and Drug Administration)
GTF	: Genelleştirilmiş test fonksiyonu (generalized test function)
IBC	: Bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (individual bioequivalence criterion)
IBL	: Bireysel biyoeşdeğerlik limiti (individual bioequivalence limit)
IDR	: Bireysel fark oranı (individual difference ratio)
NP	: Sıkıntı parametreleri (nuisance parameters)
OTA	: Amerika Birleşik Devleti Kongresi Teknoloji Destek Odası (Office of Technology Assesment of the Congress of the United States)
PBC	: Kitle biyoeşdeğerlik ölçütü (population bioequivalence criterion)
PBL	: Kitle biyoeşdeğerlik limiti (population bioequivalence limit)
PDR	: Kitle fark oranı (population difference ratio)
R	: Referans ilaç (reference drug)

R^2	: λ parametresinin tahmininde kullanılan değişkenlerin, λ parametresini açıklama oranı
RE	: Artık etkileri (carryover effects-residual effects)
T	: Test ilaç (test drug)
t_{maks}	: En büyük yoğunluğa ulaşılan zaman (maximum concentration time)
$t_{1/2}$	: İlacın yarı ömrü (half life)
λ	: Yoğunluk (ln dönüşüm uygulanmış) – zaman eğrisinin eğimi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Test ve referans ilaçların ortalama grafiği.....	56
---	----

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzeni	19
Çizelge 3.2. Tasarım A, iki seri, üç tekrarlı (2x3) ikili deney düzeni.....	44
Çizelge 3.3. Tasarım B, üç seri, üç tekrarlı (3x3) ekstra-referans deney düzeni ..	44
Çizelge 3.4. Tasarım C, iki seri, üç tekrarlı (2x3) ekstra-referans deney düzeni...	45
Çizelge 3.5. Ortalama ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin karşılaştırılması.	48
Çizelge 4.1. Rasgele ilaç alım çizelgesi	53
Çizelge 4.2. Kan alım zamanları.....	54
Çizelge 4.3. Örneklemin betimleyici istatistikleri	55
Çizelge 4.4. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri.....	57
Çizelge 4.5. Farmakinetik parametreler çizelgesi	58
Çizelge 4.6. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-1	61
Çizelge 4.7. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-2.....	62
Çizelge 4.8. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-3.....	63
Çizelge 4.9. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1	64
Çizelge 4.10. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2.....	64
Çizelge 4.11. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3.....	65
Çizelge 4.12. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1	66
Çizelge 4.13. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2	66
Çizelge 4.14. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3	67
Çizelge 4.15. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-4	68
Çizelge 4.16. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1	69
Çizelge 4.17. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2.....	70
Çizelge 4.18. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3.....	70
Çizelge 4.19. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-4.....	71

1. GİRİŞ

İlaç geliştirme araştırmalarında istatistiksel hesaplamalar çalışmanın ana öğelerinden biridir. Deney düzeninden son karar verme aşamasına kadar araştırmanın her adımında istatistik yer almaktadır.

Araştırmacılar herhangi bir hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere çeşitli maddelerden oluşan formüller geliştirirler. Bu formüllerin hepsinde belli bir madde ön plandadır. Bu madde “etken madde” olarak adlandırılır. Gerçekte tedavi edici madde, etken madde yada onun karaciğerden geçerken çeşitli reaksiyonlara uğrayarak oluşan metabolitidir. Diğer maddeler etken maddenin emilimi, kanda kalış süresi gibi olayların istendiği gibi gerçekleşmesi için kullanılan yardımcı maddelerdir. Aynı etken madde ile farklı formüller geliştirilebilir. Ancak öncelikli üretim hakkı yirmi yıl boyunca ilk geliştirilen, yeterliliği ispatlanmış ilacın patentine sahip firmaya aittir (Avrupa ve Amerika’da) ve daha sonra bu ilaç aynı etken maddeyi içeren formüllere referans olacaktır. Yirmi yıllık süre dolduktan sonra aynı etken madde ile yeni formüller geliştirilebilir. Ancak tüm ilaç yeterlilik deneylerini tekrarlamak yerine test aşamasındaki formülün referans kabul edilen formüle eşdeğer olduğu ispatlanırsa, test ilaç referans ilacın yerine reçetelere yazılabilir ve kullanılabilir. İki ilacın eşdeğerliğinin ispatı ülkelerin yayınladıkları biyoeşdeğerlik rehberlerinde belirlenen ölçütlere bağlı kalınarak yapılır.

Biyoeşdeğerlik araştırmalarının başlangıcı 1960’lı yıllara dayanmaktadır. 1970 yılında US FDA (United States Food and Drug Administration – Amerika Birleşik Devleti Gıda ve İlaç Kurumu) biyoeşdeğerlilik konusunun belirli standartlara oturtulması için harekete geçmiştir. 1971 yılında OTA (Office of Technology Assesment of the Congress of the United States- Amerika Birleşik Devleti Kongresi Teknoloji Destek Odası), ilaçların kimyasal ve tedavi edici niteliklerinin eşdeğerliğin tartışılması için İlaç Biyoeşdeğerlik Çalışmaları Paneli düzenlemiştir. US FDA, bu panel sonucu OTA’nın yayınladığı raporda yer alan tavsiyeleri esas kabul ederek 1977 yılı Temmuz ayında “21 CFR Part 320” koduyla bir biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik yönetmeliği yayınlamıştır (Metzler ve Huang, 1983).

1971 yılında US FDA’nın isteğiyle Amerikan İstatistik Kurumu da (American Statistical Association) biyoeşdeğerlik çalışmalarının istatistiksel çerçevesini

belirlemek amacıyla benzer bir biyoyararlanım komitesi toplamıştır. Metzler (1974) bu komitenin çalışmalarını özetlemiş, istatistiksel açıdan biyoyararlanım ve biyoeşdeğerlik konularının çoğuna açıklık getirmiştir. Biyoeşdeğerliğin sağlanmasında kullanılan istatistiksel yöntemlerin önemi 1980'lerde artış göstermiştir. Bu yıllarda meydana gelen en önemli gelişmeler, biyoeşdeğerlik testlerinin gücünün belirlenmesi (Anderson ve Hauck, 1983; Schuirmann, 1981), güven aralığı yöntemi (Metzler, 1974; Westlake, 1972; 1976; 1979) ve Bayes yöntemi (Rodda ve Davis, 1980; Mandallaz ve Mau, 1981) olarak özetlenebilir.

1984 yılında US FDA, ilk ilacın kopyası olarak üretilen diğer ilaçlara da ruhsat verme yetkisine kavuşmuş ancak bu durum beraberinde bir çok problemi de getirmiştir. Özellikle geliştirilebilecek yeni istatistiksel yöntemlerin hangi ölçütler baz alınarak değerlendirileceği ve geçerli olup olmayacağı önem kazanmıştır. Farklı istatistiksel yöntemlerin incelenmesi ve karşılaştırılabilmesi amacıyla 1988 yılı Ocak ayında bir rapor yayınlanmıştır. Yayınlanan bu rapordaki istatistiksel konular;

1. Gruplar arası düzen,
2. Birey içi değişim için farklı deney düzenleri,
3. Biyoeşdeğerlik karar ölçütleri için istatistiksel yöntemler,
4. Ürünler arası varyans,
5. Artık değerlerin tespiti ve değerlendirilmesidir.

Bu başlıklar için bir çok istatistiksel yöntem geliştirilmiştir. Gruplar arası düzen ve varyansın hesaplanması için Chow ve Shao (1988, 1989) bir çok istatistiksel testler önermişlerdir. Koşullu rasgele etki modelinde, birey içi varyansın homojen olmadığı varsayımı, birey içi varyans hesaplama yöntemi ve değişim katsayısının (coefficient of variance) bireylerde aynı kaldığı varsayımı Chow ve Tse (1990a) tarafından öne sürülmüştür. Chow ve Shao (1990) güven aralığı yöntemi için farklı bir yol önermişlerdir. Artıkların analizinde ise Chow ve Tse (1990b), Liu ve Weng (1991) olabilirlik aralık tahmini yöntemini kullanarak olası artık değerlerin tespiti konusunda da çalışmışlardır. Chow ve Shao (1991) lognormallik varsayımı altında karar verme kuralları üzerinde de çalışmışlardır.

Anderson ve Hauck (1990) bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi ve kuramı üzerine yoğun çalışmalar yürütmüş ve bu çalışmalar US FDA (1997) rehberinde yer almıştır.

Yüzyılın sonlarına doğru dünya ilaç pazarında kopya ilaçların rolü fazlasıyla artmıştır. Bu yüzden biyoeşdeğerlik konusuna verilen önem de aynı derecede artmıştır. 1992'den sonra biyoeşdeğerliğin diğer konuları da tartışmaya açılmıştır. Hauck ve Anderson (1992), Chow ve Liu (1995a) ilaç değiştirilebilirliği ve reçetelenebilirliği üzerine çalışmışlardır. Biyoeşdeğerliğin sağlanmasında da farklı yöntemler öne sürülmüştür. Örneğin, Chow ve Liu (1992; 1995b), kitle biyoeşdeğerlik, Hauck ve Anderson (1992) bireysel biyoeşdeğerlik üzerine çalışmışlardır. Aynı zamanda çoğu araştırmacı da kitle biyoeşdeğerlik ve bireysel biyoeşdeğerlik konularını birlikte incelemişlerdir. Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde US FDA'nın önerdiği yöntemlerden biri de, Hyolop v.d. (2000) tarafından geliştirilen 3H yöntemidir. Bu yöntem, Howe'un (1974) bulduğu doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi ölçütünün üst limitinin $\% (1 - \alpha)$ olacak şekilde geliştirilmesiyle elde edilmiştir. Qsiroz v.d. (2002), bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi için Burdick ve Graybill'in (1992) önerdiği değiştirilmiş geniş örneklem yöntemini genelleştirerek başka bir yöntem geliştirmişlerdir. McNally v.d. (2003) ise Tsui ve Weerahandi (1989) tarafından önerilen genelleştirilmiş test fonksiyonu yöntemini (sıkıntı parametreleri (nuisance parameters) de hesaba katılarak) kullanarak genelleştirilmiş P-değeri yöntemini geliştirmişlerdir.

Ülkemizde ise T.C. Sağlık Bakanlığı (1994), yayınladığı yönetmelik ile Farmasötik müstahzarların biyoyararlanım ve biyoeşdeğerliğinin değerlendirilmesini düzenlemiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyoeşdeğerlik

Yeni bir etken madde ile ilaç üretildiğinde ilacın yeterliliği ispatlanıp patenti alındıktan yirmi yıl sonra aynı etken madde ile yeni ilaçlar geliştirilebilmekte ve bu ilaçların reçetelere yazılabilmeleri ve kullanılabilmeleri için üretilen ilk ilaca eşdeğer olduklarının ispatlanması gerekmektedir.

Hastaların aynı etken maddeyi içeren ilaçları birbirlerinin yerine kullanabilmeleri için bu ilaçların benzer kimyasal ve tedavi edici nitelikleri göstermeleri gerekmektedir. Bu yüzden, ilk üretilen ilaç ve onun kopyalarının tedavi edici niteliklerinin eşdeğerliliğinin etkin ve güvenilir olup olmadığının belirlenmesinde biyoeşdeğerlik çalışmalarından yararlanılmaktadır.

Araştırmacı ilacın hastalar üzerinde tedavi edici belirli etkiler yaptığını varsayabilmekte, ancak bu her hastada aynı tedavi edici etkilerin elde edilebileceği anlamına gelmemektedir. Araştırmacı yeni bir hastayla çalışmaya başladığında hastanın farklı formüldeki ilaçlara nasıl tepkiler verebileceğine ait tam bir bilgiye sahip değildir. Araştırmacının bilgi elde edebilmesinin en uygun yolu, ilk ilaç ve kopya ilaca ait bazı farmakinetik ölçümlerin marjinal dağılımlarını karşılaştırmasıdır.

Aynı ilacın iki formülü yada iki ilacın (ilk ilaç ve onun başka firmalarca üretilen kopyalarından biri) emilimlerinin oranı ve yayılımı benzer olduğunda iki ilacın aynı tedavi etkisini yarattığı yada tedavi derecelerinin eşdeğer olduğu varsayılmaktadır.

Eğer marjinal dağılımlar normal dağılıma yakınsıyorsa, biyoeşdeğerlik, ortalama ve bireyler arası varyans gibi kitle parametreleri ile ispatlanmaktadır. Eğer marjinal dağılımlar normale yakınsamıyorlarsa logaritmik dönüşüm yapılarak verilerin normal dağılıma yakınsaması sağlanmaktadır (Chow ve Liu, 2000).

2.1.1. İlaç Değişebilirliği

Aynı ilacın iki formülasyonu yada eşdeğer olduğu iddia edilen iki ilacın aynı tedavi edici nitelikleri sağlayacağı varsayılıyorsa ve etki, güvenilirlik terimleri kapsamında bu iki ilacın eşdeğer oldukları söylenebiliyorsa birbirlerinin yerine kullanılabilirler. İlaç değişiminin istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığının ispatı için ilk ilaç ve

kopyanın aynı birey üzerinde denenmesi ve değişimin anlamlı olup olmadığının belirlenmesi gereklidir. Aynı zamanda hasta bireyler üzerinde ilacın farklı tedavi edici etkileri yaratabileceği göz önüne alınırsa denemenin homojenliğinin sağlanabilmesi için çalışmanın sağlıklı bireyler üzerinde de yapılması gerekmektedir.

Eşdeğerliği araştırılan iki ilaç birbirinin yerine ve nöbetleşe kullanılabiliyorsa ilaç değişebilirliği sağlanıyor demektir (Chow ve Liu,1998).

2.1.1.1. İlaçların Birbirinin Yerine Kullanılabilmesi

İlaçların birbirinin yerine kullanılabilmesi, ilaca yeni başlayacak hastanın ilk ilacı yada onun kopyalarından birini reçetesine yazdırabilmesi ve kullanabilmesi (ilacın reçetelenebilirliği) anlamına gelmektedir (Chow ve Liu,1998).

2.1.1.2. İlaçların Nöbetleşe Kullanılabilmesi

İlaçların nöbetleşe kullanılabilmesi ise ilk ilacı uzun süredir kullanan bir hastanın kanındaki etken madde yoğunluğunda değişim olmadan kopya ilacı kullanabilmesi anlamına gelmektedir (Chow ve Liu,1998).

2.2. Biyoeşdeğerlik Çalışmalarının Aşamaları

2.2.1. Deney Düzeni

Bireylerin kendi doğaları (genleri, kiloları, boyları, bazal metabolizma hızları v.b.) ve dış etmenler (yeme içme alışkanlıkları, sosyal aktiviteler v.b.) sonucu alınan ilaç bireylerde birbirinden çok daha farklı etkiler yaratabilmektedir. Bu bireyler arası varyans ve birey içi varyans biyoeşdeğerlik değerlendirmelerinde önemli yer tutmaktadır. Bireyler arası varyansı en aza indirebilmek için US FDA'nın önerisi çaprazlama deney düzeninin kullanılması gerekmektedir.

Çaprazlama deney düzeninin kullanılmasının sağladığı avantajlar aşağıdaki gibidir:

- Her bireyin hareketi belirlidir,
- Biyoeşdeğerlik değerlendirmelerinde birey içi varyansa odaklanılabilmektedir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında deney düzeni hazırlanırken daha önce yapılan benzer çalışmalarından yararlanılmalıdır. Ölçümlerin plazma, serum yada idrar üzerinde mi yapılacağı belirlenmelidir. Kanda değerlerin rahat saptanabildiği durumlarda testler, hasta ilacı içmeden önce ve içtikten sonra belirlenen aralıklarla toplanan kan örneklerinden elde edilen, plazma veya serum üzerinden yapılmaktadır. Ölçümlerin çok küçük ve yetersiz olduğu durumlarda ise ilaç içmeden önce ve ilaç içtikten sonra belirlenen aralıklarla toplanan idrar içinde etken madde miktarının tespiti ile testler yapılır. US FDA'ya göre kandan faydalanılarak yapılan deneylerde genelde bireyler arası değişim genelde az olduğundan yirmi dört kişilik bir örneklem yeterli olmaktadır. Ancak idrardan faydalanılarak yapılan deneylerde bireyler arası değişim çok fazla olduğundan örneklem büyük (en az 90) ve maliyet yüksek olmaktadır. Aslında ilaç araştırmalarında örneklemdeki bir bireylik artış bile maliyete önemli ölçüde yansımaktadır.

Önceden yapılmış çalışmalardan faydalanarak istenilen duyarlılığa uygun örneklem genişliği saptanmaktadır. Daha önce yapılan benzer biyoeşdeğerlik çalışmalarından elde edilen bireyler arası varyans ve birey içi varyans değerleri incelenmeli ve buna göre örneklem genişliği belirlenmelidir. Örneğin, US FDA'nın önerisi kan ile yapılan deneylerde eğer bireyler arası değişim katsayısı kırk birim ve üstünde değilse, yirmi dört kişilik örneklem yeterli olacağı yönündedir.

Bireylerin test ve referans ilacı hangi sırayla içeceklerini gösteren rasgele ilaç alım çizelgesi hazırlanmaktadır. Tüm bireyler birbirlerinden bağımsız olarak ya önce test sonra referans ilacı yada önce referans sonra test ilacı içerler.

Bu aşamada ayrıca ilacın alınacağı andaki koşullar (aç karnına yada tok karnına, içilecek su miktarı v.b.), ilacı aldıktan sonraki koşullar (yemek yeme zamanları, kan alım zamanları, hastanın sağlık kontrolünde yapılacaklar (tansiyon ölçümü, kan değerlerinin kontrolü v.b.) ve zamanları, ilacın vücuttan atılma zamanı, iki ilacın alımı arasında geçecek süre v.b.) ve toplanan kanların veya idrarın saklanma koşulları belirlenmektedir (US FDA, 2003).

Ölçümlerde homojenliği sağlamak için çoğu ülke, araştırmaya katılacak bireylerin taşınması gereken nitelikleri, o ülkeye ait biyoeşdeğerlik çalışmaları ile ilgili

yönetmeliklerinde belirtmektedir. Ülkemizde belirlenen ölçütler, örneğin, bireylerin sağlıklı olmaları, erkek olmaları, 18-45 yaş aralığında olmaları, 21-24 vücut kitle indeksi aralığında olmaları v.b. biçimdedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 1994).

2.2.2. Deney

İstenilen özellikleri taşıyan gönüllüler arasından, önceden saptanan sayıda birey içeren örneklem rasgele belirlenmekte ve bu örneklemde yer alan bireyler deney hazırlığı için davet edilmektedirler. Bireyler ön muayeneden sonra rasgele ilaç alım çizelgesine göre test ve referans ilaçları kan alım zamanları çizelgesinde belirtilen aralıklarla içmektedir. Bireylerin test ve referans ilacı içmeleri, kanlarının veya idrarlarının toplanması, belirlenen ısı derecelerinde saklanması ve hastaların son muayenesinin gerçekleştirilmesiyle bu aşama tamamlanmaktadır. Kurulan deney düzeninin tam anlamıyla sağlanıp sağlanamadığı bir kalite kontrol yöntemi ile denetlenmelidir (US FDA, 2003).

2.2.3. Laboratuvar

Etken madde ve varsa metabolitinin, belirlenen ölçüm sıvısı (plazma, serum yada idrar) içindeki miktarının tayini için önce gerekli kimyasal yöntem geliştirilmekte ve bu yöntemin kesinliğini göstermek için beş deneme, doğruluğunu ve istikrarlı olduğunu (öngörülen süre geçse de yöntemin doğru sonuçlar verdiğini) göstermek için ise bir deneme yapılarak yöntemin yeterli olduğu ispatlanabilmektedir. Bu denemelerden ilk beşinde her beklenen yedi yoğunluk düzeyi için birer standart kontrol örneği ve beklenen beş yoğunluk düzeyi için altışar kalite kontrol örneği hazırlanmaktadır. Son denemede ise yalnızca beklenen beş yoğunluk düzeyi için üçer kalite kontrol örneği hazırlanmaktadır. Analiz sonucu ilk beş denemede elde edilen yedişer standart kontrol değerleri için basit regresyon denklemleri hesaplanır. Bu beş basit regresyon denklemi anlamlı bulunursa ve tüm denemelerden elde edilen kalite kontrol değerleri beklenen değerlerinin $\pm\%15$ sınırında (en düşük yoğunluk düzeyi için $\pm\%20$) yer alıyor ise yöntem yeterli olmaktadır (US FDA, 2003).

2.2.4. İstatistiksel Çözümleme

Biyoyararlanım, ilaçtan emilim gerçekleştikten sonra kan v.b. ölçüm yapılan alanda izlenebilen etken madde oranı ve alanı olarak belirtilmektedir.

Biyoeşdeğerlik, test ve referans ilaç için aynı deney düzeninde birer deneme yapıldığında birbirinin tedavi alternatifi olan bu ilaçların emilim gerçekleştikten sonra ölçüm sıvısında izlenebilen oranları ve alanları arasındaki farkın önemsiz olmasıyla sağlanabilmektedir.

Biyoeşdeğerlik, test ve referans ilacın biyoyararlanımlarının karşılaştırılmasıdır. Biyoeşdeğerlik çalışmaları, bir ölçüt, bu ölçüt için belirlenen güvenilirlik limitleri ve önceden belirlenmiş biyoeşdeğerlik limitlerinden faydalanılarak gerçekleştirilir (US FDA, 2001).

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında denemelerden elde edilen farmakinetik değerlerle (C_{maks} (en büyük yoğunluk değeri) ve AUC (eğri altında kalan alan)) oluşturulan istatistiksel modellerden yararlanılır. Bu model karışık etkili yada iki aşamalı doğrusal model olabilmektedir ve

$$Y_{jk} = \mu_{\tau j} + \varepsilon_{\tau jk} \quad (2.1)$$

biçiminde verilmektedir. Burada:

Y_{jk} : k. tekrarda, j. bireyin, τ . ilaca karşılık gelen değeri ($\tau : T, R$)

$\mu_{\tau j}$: j. bireyin τ . ilaca karşılık gelen ortalaması

$\varepsilon_{\tau jk}$: k. . tekrarda j. bireyin, τ . ilaca karşılık gelen hata değeri olmaktadır.

Ayrıca Eş. 2.1.'de belirtilen model için:

$$E(\varepsilon_{\tau jk}) = 0, \quad \text{Cov}(\varepsilon_{\tau jk}, \varepsilon_{\tau' j' k'}) = \sigma_{W\tau}^2 \delta_{\tau\tau'} \delta_{jj'} \delta_{kk'}$$

ve

$$E(\mu_{\tau j}) = \mu_{\tau}, \quad \text{Cov}(\mu_{\tau j}, \mu_{\tau' j'}) = \sigma_{B\tau\tau'} \delta_{jj'}$$

eşitlikleri sağlanır. Burada :

ρ : μ_{Tj} ve μ_{Rj} arasındaki korelasyon,

$\sigma_{B\tau}^2$: τ . ilacın bireyler arası varyansı ($\tau : T, R$),

$$\tau = \tau' \Rightarrow \sigma_{B\tau\tau'} = \sigma_{B\tau}^2 \quad \text{yada} \quad \tau \neq \tau' \Rightarrow \rho\sigma_{B\tau}\sigma_{B\tau'}$$

ve

$$j = j' \Rightarrow \delta_{jj'} = 1 \quad \text{yada} \quad j \neq j' \Rightarrow \delta_{jj'} = 0 \quad \text{olmaktadır.}$$

Birey için ölçümlerde elde edilen değerlerin birbirlerinden bağımsız oldukları ve ortalamalarının $\mu_{\tau j}(\tau : T, R)$, varyanslarının ise $\sigma_{W\tau}^2$ (birey içi varyans-with in subject variation) olduğu varsayılmaktadır.

Test ve referans için toplam varyans ($\sigma_{T\tau}^2$);

$$\sigma_{TT}^2 = \sigma_{WT}^2 + \sigma_{BT}^2 \quad (2.2)$$

$$\sigma_{RR}^2 = \sigma_{WR}^2 + \sigma_{BR}^2 \quad (2.3)$$

$$\sigma_{TR}^2 = \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \quad (2.4)$$

olarak ifade edilmektedir. Burada,

$\sigma_{W\tau}^2$: birey içi varyans (within subject variance – intrasubject variation)

$\sigma_{B\tau}^2$: bireyler arası varyans (between subject variance - intersubject variation)

$\sigma_{T\tau}^2$: Toplam varyans (total variance)

olmaktadır. Bireylerin test ve referans ilaç ortalamaları arasındaki farkın varyansı ise;

$$V(\mu_{Tj} - \mu_{Rj}) = (\sigma_{BT} - \sigma_{BR})^2 + 2(1 - \rho)\sigma_{BT}\sigma_{BR} = \sigma^2 \quad (2.5)$$

olarak ifade edilmektedir (US FDA, 1999b).

2.2.4.1. Biyoeşdeğerlik Ölçütünün Genel Yapısı

Biyoeşdeğerliğin sağlanması için kitle parametrelerinin fonksiyonunun (θ), belirlenen biyoeşdeğerlik limit değerinden (θ) büyük olmaması gerekmektedir. Bu yapının yokluk ve seçenek hipotezlerle gösterimi;

$H_0 : \Theta \geq \theta$ (Biyoeşdeğerlik yoktur)

$H_s : \Theta < \theta$ (Biyoeşdeğerlik vardır)

biçimindedir. Yokluk ve seçenek hipotezler için önerilen güvenilirlik düzeyi %95'dir ($\alpha = 0,05$).

Yokluk hipotezinin reddedilip seçenek hipotezin kabulü biyoeşdeğerliğin sağlanması anlamına gelmektedir. Aksi gerçekleşirse test ve referans ilacın biyoeşdeğer olmadıkları sonucuna ulaşılır.

Kitle parametrelerinin fonksiyonu (θ) ve biyoeşdeğerlik limit değeri (θ) kullanılan biyoeşdeğerlik yöntemine (ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri) göre değişmektedir (US FDA, 1999b).

2.2.4.2. İlaç Araştırmalarında Kullanılan Farmakinetik Parametreler

Biyoeşdeğerlilik, iki ilacın ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluğu - zaman eğrilerinden elde edilen farmakinetik değerler karşılaştırılarak incelenmektedir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılabilecek birçok farmakinetik parametre vardır. Bunlar birincil ve ikincil parametreler olarak iki grupta toplanır. Birincil parametreler karar verme aşamasında kullanılırken ikincil parametreler çalışmanın genel seyri hakkında fikir edinmek için kullanılabilmektedir.

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında **AUC** ve **C_{maks}** birincil parametreler olarak değerlendirilmektedir ve biyoeşdeğerliğin karar aşamasında bu parametreler göz önüne alınmaktadır. Diğer parametreler ise ikincil parametreler olarak değerlendirilmektedir (US FDA, 2000).

C_i : i. zamandaki emilim oranı yada i. zamandaki yoğunluk olarak tanımlanmaktadır ve

$$C_i = \frac{k_a F D_0}{V(k_a - k_e)} (e^{-k_e i} - e^{-k_a i}) \quad (2.6)$$

olarak ifade edilmektedir. Burada;

k_a : Emilim oran sabiti,

k_e : Arınma oran sabiti,

D_0 : Verilen madde dozu,

V : Hacim,

F : Emilen madde oranı olmaktadır.

t_{maks} : En büyük yoğunluğa ulaşılan zaman olarak tanımlanmaktadır ve

$$t_{maks} = \frac{2.303}{k_a - k_e} \log \left(\frac{k_a}{k_e} \right) \quad (2.7)$$

olarak ifade edilmektedir.

C_{maks} : En büyük yoğunluk değeri olarak tanımlanmaktadır ve

$$C_{maks} = \frac{k_a F D_0}{V(k_a - k_e)} (e^{k_e t_{maks}} - e^{k_a t_{maks}}) \quad (2.8)$$

olarak ifade edilmektedir (Gibaldi ve Perrier, 1982).

AUC : Ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluk – zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir. AUC farklı zaman aralıkları göz önüne alınarak aşağıdaki biçimde değerlendirilmektedir.

AUC_{0-t_k} : 0. ölçüm zamanından k. ölçüm zamanına kadar toplanan ölçüm sıvıları içinde belirlenen madde yoğunluk - zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir ve

$$AUC_{0-t_k} = \sum_{i=2}^k \left(\frac{C_{i-1} + C_i}{2} \right) (t_i - t_{i-1}) \quad (2.9)$$

formülü ile hesaplanmaktadır. Burada;

t_i : i. ölçüm sıvısının toplandığı zaman ($i=0, 1, 2, \dots, k$),

C_i : t_i . zamanda toplanan ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluğu olmaktadır.

Son ölçüm zamanında toplanan ölçüm sıvısından elde edilen yoğunluk değeri sıfırlansa da cihazların ölçemeyeceği kadar düşük yoğunlukların son ölçüm zamanından sonra da kanda var olduğu varsayılmaktadır. Bu varsayım altında son ölçülen yoğunluk değerinin büyüklüğü, son ölçümden sonsuza kadar uzanan zaman diliminde kalan alan değeri üzerinde anlamlı bir etki yaratmaktadır. Bu alan değerinin de hesaplara katılması daha sağlıklı sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Martinez ve Jackson, 1991).

$AUC_{0-\infty}$: 0. ölçüm zamanından sonsuza kadar geçen zamanda ölçüm sıvıları içindeki madde yoğunluk - zaman eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir ve

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t_k} + \frac{C_k}{\lambda} \quad (2.10)$$

formülü ile hesaplanmaktadır. Burada;

C_k : t_k . zamanda toplanan ölçüm sıvısı içinde belirlenen madde yoğunluğu (k : son ölçüm sıvısı alım zamanı),

λ : Yoğunluk (ln dönüşüm uygulanmış) – zaman eğrisinin eğimini ifade etmektedir (Rowland ve Tozer, 1980).

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında $AUC_{0-\infty}$ 'nin birincil parametre olarak değerlendirilmesi için katılımcıların en az %80'inde;

$$\frac{AUC_{0-t_k}}{AUC_{0-\infty}} \geq 0.80$$

koşulunun sağlanması gerekmektedir. Aksi takdirde AUC_{0-t_k} birincil parametre olarak değerlendirilecektir (k : son ölçüm sıvısı alım zamanı) (US FDA, 2000).

$t_{1/2}$: İlacın yarı ömrü olmaktadır ve

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} = \frac{0.693}{\lambda}$$

biçiminde ifade edilmektedir.

CV : Değişim katsayısı (Coefficient of Variance) olmaktadır ve

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} 100 \text{ biçimindedir.}$$

R^2 : λ parametresinin tahmininde kullanılan değişkenlerin λ parametresini açıklama oranını ifade etmektedir (Health Canada, 1992).

3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Elde edilen farmakinetik verilerin çözümlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler üç ana sınıfa ayrılır:

1. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi
2. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi
3. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi

(US FDA, 1999b).

3.1. Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi, test ve referans ilaçların kitle ortalamalarının karşılaştırılması üzerine yoğunlaşmaktadır (US FDA, 2003).

3.1.1. Deney Düzeni

Standart iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeni ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için yeterli olmaktadır. Çünkü her katılımcı her bir ilacı yalnızca bir kere almaktadır. İki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeninde kitle ortalamaları için yeterli ve yansız bir tahmin edici elde edilebilmektedir. US FDA (2003) ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzenini önermektedir.

3.1.2. US FDA'nın Ortalama Biyoeşdeğerlik Ölçütü

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen kitle parametreleri fonksiyonu,

$$\theta = \mu_T - \mu_R \quad (3.1)$$

biçimindedir. Burada,

θ : Kitle parametreleri fonksiyonu

μ_τ : τ . ilacın ortalaması (τ : T, R), olmaktadır.

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen ölçütün genel gösterimi,

$$(\mu_T - \mu_R)^2 \leq \theta_A^2$$

yada

$$-\theta_A \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_A$$

biçimindedir. Burada;

θ_A : Ortalama biyoeşdeğerlik limitidir.

Yokluk ve seçenek hipotezler;

$$H_0 : \theta \geq \theta_A$$

$$H_s : \theta < \theta_A$$

biçiminde verilmektedir. Ortalama biyoeşdeğerlik limiti θ_A için US FDA tarafından önerilen değer;

$$\theta_A = \ln(1.25)$$

olmaktadır (US FDA, 1999b).

Çoğu ülkedeki yönetmeliklerde alternatif ilacın onaylanması için ortalama biyoeşdeğerlik yönteminin sağlanması yeterli görülmektedir. Ancak ortalama biyoeşdeğerlik ölçütleri özellikle ilaçların birbirinin yerine ve birbirinin ardına kullanımının güvenli olup olmayacağı konusunda yetersiz kalabilmektedir.

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi;

- test ve referans ilacın kitle ortalamalarının karşılaştırılması üzerine yoğunlaşmakta,
- farmakinetik parametrelerin dağılımları ve birey içi değişim hesaba katılmamakta ve,
- birey formül etkileşimi göz ardı edilmektedir ki bu konu ilaç değişebilirliğinin sağlanması açısından çok önemlidir (Chen v.d., 2000; Chow ve Liu, 2000).

3.2. Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde ise test ve referans ilaca ait kitle dağılımlarının benzer olması gerekmektedir. Bu yüzden kitle biyoeşdeğerlik yönteminde hem kitle ortalamalarının hem de kitle varyanslarının benzerlikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Başka bir deyişle, kitle biyoeşdeğerlik ilacın reçetelenebilirliği üzerine yoğunlaşmıştır (Anderson ve Hauck, 1990; Sheiner, 1992).

Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde iki çeşit ölçeklendirme vardır. Bunlar referans ölçeklendirme ve sabit ölçeklendirmedir. Referans ölçeklendirmede referans ilacın varyansı baz alınarak ölçeklendirme yapılır. Ölçeklendirmede kullanılan varyansın büyüklüğü biyoeşdeğerlik sınırlarında anlamlı değişikliklere yol açmaktadır. Örneğin referans ölçeklendirme kullanıldığında referans ilacın varyansı çok büyükse biyoeşdeğerlik sınırlarında önemli bir genişleme görülmektedir. Ancak referans ilacın varyansı çok küçükse biyoeşdeğerlik sınırlarında anlamlı bir daralma görülmektedir. Bu gibi durumlarda ise sabit ölçeklendirme yöntemi kullanılmaktadır. US FDA'nın önerisi kitle biyoeşdeğerlik yönteminde karışık ölçekli modelin kullanılmasıdır. Karışık ölçekli modelde referans ilacın varyansı, FDA'nın önerdiği toplam varyans sabitinden büyükse referans, küçükse sabit ölçeklendirme kullanılmaktadır (US FDA, 1999b).

3.2.1. US FDA'nın Kitle Biyoeşdeğerlik Ölçütü

Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi için önerilen karışık ölçekli kitle parametreleri fonksiyonu;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{\max(\sigma_{TR}^2, \sigma_{T0}^2)} \quad (3.2)$$

biçiminde verilmektedir. Burada;

Θ : Kitle parametreleri fonksiyonu

μ_τ : τ . ilacın ortalaması (τ : T, R)

$\sigma_{\tau\tau}^2$: τ . ilacın toplam varyansı

σ_{T0}^2 : Toplam varyans sabiti olmaktadır.

$\sigma_{RR}^2 > \sigma_{T0}^2$ ise referans ölçekli yöntem kullanılmakta ve önerilen ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{\sigma_{TR}^2} \leq \theta_P$$

biçiminde olmaktadır.

$\sigma_{TR}^2 \leq \sigma_{T0}^2$ ise sabit ölçekli yöntem kullanılmakta ve önerilen ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{\sigma_{T0}^2} \leq \theta_P$$

biçiminde olmaktadır. Burada;

θ_P : Kitle biyoeşdeğerlik limiti

olmaktadır. Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde referans ilaca ait varyans değeri ile ölçeklendirme yapıldığında eğer referans ilacın varyansı yeterince büyük ise kitle biyoeşdeğerlik ölçütü küçülür ve kitle biyoeşdeğerlik limitleri büyür (genişler). Ancak referans ilaca ait varyans değeri çok küçükse kitle biyoeşdeğerlik ölçütü büyür ve kitle biyoeşdeğerlik limiti küçülür (daralır). Bu durum istenmediği için sabit ölçeklendirme yöntemi kullanılmaktadır. Referans ilaca ait varyans değeri belirlenen toplam varyans sabitine eşit veya küçük ise sabit ölçeklendirme yöntemi kullanılır (Schall ve Williams, 1996).

3.2.2. Toplam Varyans Sabitinin Saptanması

Kitle fark oranı (Population Difference Ratio - PDR) beklenen T-R değeri ve beklenen R-R' değerlerinin oranı olarak ifade edilmektedir. Kitle Fark Oranı;

$$\frac{E(Y_T - Y_R)^2}{E(Y_R - Y_{R'})^2} = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)}{2\sigma_{TR}^2}$$

$$PDR = \left[\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 + \sigma_{TR}^2)}{2\sigma_{TR}^2} \right]^{1/2} \quad (3.3)$$

biçiminde gösterilmektedir. Burada,

R^I : Referans ilacın aynı birey üzerindeki ikinci denemesinden elde edilen değere karşılık gelmektedir.

Kitle fark oranı kitle biyoeşdeğerlik ölçütü ile ilişkilidir ve bu ilişki

$$PDR = \left(\frac{PBC}{2} + 1 \right)^{1/2}$$

biçiminde verilmektedir. Burada,

PBC : Kitle biyoeşdeğerlik ölçütüdür (Population Bioequivalence Criterion).

PDR'nin alabileceği en yüksek değer 1.25 ve buna göre toplam varyans sabiti için önerilen değer $\sigma_{T0}^2 = 0.04$ olmaktadır (US FDA, 1999b).

3.2.3. Kitle Biyoeşdeğerlik Limitinin Saptanması

Kitle biyoeşdeğerlik limitinin saptanmasında kitle biyoeşdeğerlik ölçütüne yapılan ekler göz önüne alınmaktadır. Bu durumda kitle biyoeşdeğerlik limiti,

$$\theta_P = \frac{ABL^2 + VF}{V} \quad (3.4)$$

biçiminde olmaktadır. Burada,

ABL : Ortalama biyoeşdeğerlik limiti (Average Bioequivalence Limit)
($\theta_A = \ln 1.25$)

VF : Varyans faktörleri ($(\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2)$ farkının limite etkisi - $\varepsilon_p = 0.02$)

V : Varyans terimi ($\sigma_{T0}^2 = 0.04$) olmaktadır.

Bu sabitler Eş. 3.4.'de yerine konulduğunda,

$$\theta_P = \frac{\theta_A^2 + \varepsilon_P}{\sigma_{T0}^2} = \frac{0.049 + 0.02}{0.04} = 1.74$$

değeri elde edilmektedir (US FDA, 1999b).

3.2.4. Deney Düzeni ve Güven Aralığı Yöntemi

US FDA (2001) kitle biyoeşdeğerlik çalışmaları için iki seri, dört tekrarlı (2x4) deney düzenini önermektedir. Bu deney düzeninde örneklem, test ve referans ilacı alış sıraları rasgele belirlenmiş “n” tane katılımcıdan oluşmakta ve her birey deney boyunca aynı ilacı iki kere almaktadır. Kullanılabilecek diğer deney düzenlerinden Alt bölüm 3.4.’de bahsedilmiştir.

Çizelge 3.1. İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzeni

Seri	Period			
	I	II	III	IV
1	T	R	T	R
2	R	T	R	T

Bu deney düzeni için Chincchilli ve Esinhart’ın (1996) önerdiği model;

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.5)$$

biçimindedir. Burada,

i : Seri (i = 1, 2),

j : Birey (j = 1, 2, ..., n),

k : İlaç (k = R, T),

l : Tekrar (l = 1, 2),

Y_{ijkl} : j. katılımcının i. serisinin, k. ilacının, l. tekrarına karşılık gelen farmakinetik değeri,

μ_k : k. ilacın kitle ortalaması,

γ_{ikl} : i. serinin, k. ilacının, l. tekrarının belirli etkisi,

δ_{ijk} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı aldığı anda bireyin rasgele etkisi ve

ε_{ijkl} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı, l. kere aldığı anda ortaya çıkan rasgele hata olmaktadır.

ε_{ijkl} raslantı değişkeninin bağımsız olduğu ve dağılımının ortalaması sıfır, varyansı σ_{Wk}^2 (k: T, R) olan normal dağılım olduğu varsayılmaktadır ($\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma_{Wk}^2)$).

Aynı zamanda rasgele birey etkileri vektörlerinin de (δ'_{ij}) bağımsız olduğu ve normal dağıldığı varsayılmakta ve

$$\delta'_{ij} = (\mu_R + \delta_{ijR}, \mu_T + \delta_{ijT})' \quad (3.6)$$

biçiminde gösterilmektedir. Burada;

$$\delta'_{ij} \sim N_2 \left[\begin{pmatrix} \mu_R \\ \mu_T \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} \sigma_{BR}^2 & \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} \\ \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} & \sigma_{BT}^2 \end{pmatrix} \right]$$

olmaktadır. Modeldeki parametre fazlalığını engellemek için ek kısıtlar sıkıntı parametreleri (NP) olarak düşünülmektedir. Modeldeki hata değerinin küçük olması için sıkıntı parametreleri toplamının 0 olduğu varsayılır ve

$$\sum_{i=1}^2 \sum_{l=1}^2 \gamma_{ikl} = 0$$

biçiminde gösterilir. Sonuç olarak artık etkileri yada taşınma etkisi (carryover effects-residual effects) azaltılmış olur. Böylece doygun bir model oluşturulabilmektedir. Kabul edilebilir hata miktarı yada modelin açıklama oranı gözönüne alınarak bazı sıkıntı parametreleri de tahmin edilebilir. Ancak öncelikle kitle biyoeşdeğerlik ölçütüne ait parametrelerin tahmini üzerine yoğunlaşmaktadır. Gösterimin kolaylığı için her periyotta katılımcı sayıların eşit olduğu varsayılmaktadır. US FDA rehberinde önerilen doğrusallaştırılmış kitle biyoeşdeğerlik ölçütü;

$$\eta = (\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2) - \theta_P \max\{\sigma_{TR}^2, \sigma_{T0}^2\} \quad (3.7)$$

biçimindedir.

Yokluk ve seçenek hipozler ise ;

$$H_0 : \eta \geq 0$$

$$H_s : \eta < 0$$

olmaktadır.

$\sigma_{RR}^2 > \sigma_{T0}^2$ ise referans ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü (η_1) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$\eta_1 = (\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2) - \theta_P \sigma_{TR}^2 < 0 \quad (3.8)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Yokluk ve seçenek hipotezleri ise;

$$H_0 : \eta_1 \geq 0$$

$$H_s : \eta_1 < 0$$

biçiminde olmaktadır.

$\sigma_{RR}^2 \leq \sigma_{T0}^2$ ise sabit ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü (η_2) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$\eta_2 = (\mu_T - \mu_R)^2 + (\sigma_{TT}^2 - \sigma_{TR}^2) - \theta_P \sigma_{T0}^2 < 0 \quad (3.9)$$

biçiminde olmaktadır. Yokluk ve seçenek hipotezleri ise;

$$H_0 : \eta_2 \geq 0$$

$$H_s : \eta_2 < 0$$

biçiminde ifade edilmektedir.

η_i 'nin (i=1, 2) yansız tahmin edicilerine ulaşabilmek için ölçüt, bağımsız ki-kare dağılımına sahip rastlantı değişkenlerinin doğrusal kombinasyonu olacak şekilde

yeniden yazılabilmektedir. Ancak doğrusallaştırılmış ölçütün tahmini deney düzenine dayanmaktadır. İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzeninin kullanıldığı varsayımı altında ölçütü yeniden düzenlemek için;

$$U_{Tij} = \frac{Y_{ijT_1} + Y_{ijT_2}}{2} \quad (3.10)$$

$$U_{Rij} = \frac{Y_{ijR_1} + Y_{ijR_2}}{2} \quad (3.11)$$

$$V_{Tij} = \frac{Y_{ijT_1} + Y_{ijT_2}}{\sqrt{2}} \quad (3.12)$$

$$V_{Rij} = \frac{Y_{ijR_1} + Y_{ijR_2}}{\sqrt{2}} \quad (3.13)$$

$$\delta = (\mu_T - \mu_R) \quad (3.14)$$

biçiminde ifade edilen U_{Tij} , U_{Rij} , V_{Tij} ve V_{Rij} parametrelerinin varyansları sırasıyla MU_T , MU_R , MV_T ve MV_R olsun. Buna göre doğrusallaştırılmış kitle biyoeşdeğerlik ölçütünün tahmin edicisi belirtilen koşullarda Eş. 3.15. ve Eş. 3.16.'da olduğu gibidir.

$(MU_R + 0.5MV_R)^{1/2} > \sigma_{T0}$ ise referans ölçeklendirme kullanılmakta ve ölçüt;

$$\hat{\eta}_1 = \hat{\delta}^2 + MU_T + 0.5MV_T - (1 + \theta_P)(MU_R + 0.5MV_R) \quad (3.15)$$

olmaktadır.

$(MU_R + 0.5MV_R)^{1/2} \leq \sigma_{T0}$ ise referans ölçeklendirme kullanılmakta ve ölçüt;

$$\hat{\eta}_2 = \hat{\delta}^2 + MU_T + 0.5MV_T - (MU_R + 0.5MV_R) - \theta_P \sigma_{T0}^2 \quad (3.16)$$

olmaktadır (US FDA, 1999b).

3.2.5. Üst Limit Yöntemi

Kitle ortalamaları arası fark (δ) parametresi için nokta tahmini ve üst limit;

$$E_0 = \hat{\delta}^2 \quad (3.17)$$

ve

$$H_0 = \left(\left| \hat{\delta} \right| + t_{1-\alpha; n-s} \left(\frac{1}{s^2} \sum_{i=1}^s n_i^{-1} M_1 \right)^{1/2} \right) \quad (3.18)$$

biçimindedir. Doğrusallaştırılmış kitle biyoeşdeğerlik ölçütünün diğer parametrelerinin nokta tahminleri ve üst limitleri sırasıyla;

$$E_1 = MU_T, \quad (3.19)$$

$$H_1 = \frac{(n-s)E_1}{\chi_{n-s; \alpha}^2}, \quad (3.20)$$

$$E_2 = 0.5MV_T, \quad (3.21)$$

$$H_2 = \frac{(n-s)E_2}{\chi_{n-s; \alpha}^2}, \quad (3.22)$$

$$E_{3_{rs}} = -(1 + \theta_P)MU_R, \quad (3.23)$$

$$H_{3_{rs}} = \frac{(n-s)E_{3_{rs}}}{\chi_{n-s; 1-\alpha}^2}, \quad (3.24)$$

$$E_{3_{cs}} = -MU_R, \quad (3.25)$$

$$H_{3_{cs}} = \frac{(n-s)E_{3_{cs}}}{\chi_{n-s; 1-\alpha}^2}, \quad (3.26)$$

$$E_{4_{rs}} = -(1 + \theta_P)0.5MV_R, \quad (3.27)$$

$$H_{4_{rs}} = \frac{(n-s)E_{3_{rs}}}{\chi_{n-s;1-\alpha}^2}, \quad (3.28)$$

$$E_{4_{cs}} = -0.5MV_R, \quad (3.29)$$

$$H_{4_{cs}} = \frac{(n-s)E_{4_{cs}}}{\chi_{n-s;1-\alpha}^2}, \quad (3.30)$$

olmaktadır. Eş. 3.17.'den Eş. 3.30.'a kadar verilen tüm eşitlikler için

$$U_i = (H_i - E_i)^2 \quad (3.31)$$

değerleri hesaplanır. Burda;

$$n = \sum_{i=1}^s n_i$$

s : serilerin sayısı ve

n_i : her serideki birey sayısını ifade etmektedir.

Doğrusallaştırılmış kitle biyoeşdeğerlik ölçütünün üst limitinin tahmini;

$$\hat{H}_{\eta_1} = (E_0 + E_1 + E_2 + E_{3_{rs}} + E_{4_{rs}}) + (U_0 + U_1 + U_2 + U_{3_{rs}} + U_{4_{rs}})^{1/2} \quad (3.32)$$

$$\hat{H}_{\eta_2} = (E_0 + E_1 + E_2 + E_{3_{cs}} + E_{4_{cs}} - \theta_P \sigma_{T0}^2) + (U_0 + U_1 + U_2 + U_{3_{rs}} + U_{4_{rs}})^{1/2} \quad (3.33)$$

biçimindedir (US FDA, 1999b).

3.3. Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi

Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde test ve referans ilacın aynı bireyde birbirine ne kadar yakın sonuçlar verdiği üzerine yoğunlaşmıştır. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi ile yapılan hesaplamalardan elde edilen sonuçlar yalnızca referans ve test ilacın tekrarlanan denemeler sonucu elde edilen farmakinetik değerlerine ait dağılımların benzerliğini değil aynı zamanda iki dağılımın da referans ilaç tarafından belirlenen iyileştirebilirlik sınırlarında yer alıp almadığını da

göstermektedir. Eğer belirli bir bireyde tekrar eden test ve referans ilaca ait denemeler sonucu elde edilen farmakinetik değişkenlerinin dağılımları birbirlerine yakınsa belirlenen güven düzeyinde bu iki ilacın bireysel biyoeşdeğer olduğu söylenebilmektedir. Sonuç olarak bireysel biyoeşdeğerlikte test ve referans ilaçların ortalama ve varyansların benzerliği kadar birey-formül etkileşiminin homojenliği de önemli olmaktadır (US FDA, 2001).

Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi ilaçların değişebilirliği üzerine yoğunlaşmaktadır (Anderson ve Hauck, 1990; Sheiner, 1992).

US FDA tarafından önerilen ve genel olarak kabul edilmiş olan model,

$$Y_{\tau} = \mu_{\tau} + b_{\tau} + e_{\tau} \quad (3.34)$$

biçimindedir. Burada,

Y_{τ} : τ . ilacın farmakinetik karşılığı (τ : T, R)

μ_{τ} : τ . ilacın kitle ortalaması

b_{τ} : τ . ilacın bireyler arası değişimi

e_{τ} : τ . ilacın birey içi değişimi

b_{τ} ve e_{τ} hata terimlerinin beklenen değeri 0 olan bağımsız rastlantı değişkenleri olduğu varsayılmakta ve bu durumda,

$$E(e_{\tau}) = E(b_{\tau}) = 0$$

$$V(Y_{\tau}) = V(b_{\tau}) + \sigma_{W_{\tau}}^2 \quad (3.35)$$

olmaktadır. Burada,

$\sigma_{W_{\tau}}^2$: τ . ilacın birey içi varyansı (τ : T, R)

olmaktadır.

Test ve referans ilaçların birey içi varyans terimleri (b_T ve b_R) arasında ilişkili olabilir ve bu ilişki birey içi varyans terimleri farkı ile ifade edilmekte ve

$$V(b_T - b_R) = \sigma_D^2 \quad (3.36)$$

biçimde olmaktadır. Gerçekte birey içi varyans terimleri farkı ($b_T - b_R$), test ve referans ilaç ortalamalarından sapmanın farkı olmaktadır. Bu yüzden σ_D^2 birey formül etkileşimi varyansı olarak kabul edilmektedir.

Y_{jT} ve Y_{jR} , rastlantı değişkenleri j . birey için test ve referans ilacın biyoyararlanımlarını gösterebilir. Normallik varsayımı altında j . katılımcının $(Y_{jT}, Y_{jR})'$ vektörü için

$$\begin{bmatrix} Y_{jT} \\ Y_{jR} \end{bmatrix} \sim N \left[\begin{bmatrix} \mu_{jT} \\ \mu_{jR} \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma_{WT}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{WR}^2 \end{bmatrix} \right]$$

olmaktadır. Burada;

$$\begin{bmatrix} \mu_{jT} \\ \mu_{jR} \end{bmatrix} \sim N \left[\begin{bmatrix} \mu_T \\ \mu_R \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{bmatrix} \right]$$

biçimdedir ve

$\mu_{j\tau}$: j . bireyin τ . ilaç için beklenen değerini ($\tau : T, R$)

$\sigma_{B\tau}^2$: τ . ilacın bireyler arası varyansını ($\tau : T, R$)

ρ : test ve referans ilacın birey ortalamaları (μ_{jT} ve μ_{jR}) arası ilişki

katsayısını göstermektedir.

Birey formül etkileşimi varyansı bu parametrelere bağlı olarak

$$\sigma_D^2 = V(\mu_{jT} - \mu_{jR}) = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR}$$

$$\sigma_D^2 = (\sigma_{BT} - \sigma_{BR})^2 + 2(1-\rho)\sigma_{BT}\sigma_{BR} \quad (3.37)$$

biçimde yazılabilmektedir (Schall ve Luus, 1993).

3.3.1. US FDA'nın Bireysel Biyoeşdeğerlik Ölçütü

Bireysel biyoeşdeğerliğin ispatında kullanılan üç önemli karakteristik;

$\mu_T - \mu_R$: Kitle ortalamaları arası fark,

$\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$: Birey içi varyanslar arası fark,

σ_D^2 : Birey formül etkileşimi varyansı

olmaktadır.

Genel tanımlamaya göre bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünde, kitle parametreleri fonksiyonun (θ), belirlenen bireysel biyoeşdeğerlik limit değerinden (θ_I) büyük olmaması gerekmektedir. Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde bu ölçüt temel alınmaktadır. Bu ölçütün yokluk ve seçenek hipotezleri;

$$H_0 : \theta \geq \theta_I$$

$$H_s : \theta < \theta_I$$

biçiminde verilmektedir.

Bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün kitle parametreleri fonksiyonu (θ), Y_T ve Y_R ölçümlerinin farkının karesinin beklenen değerinin, Y_R ve $Y_{R'}$ (aynı bireyde referans ilacın iki uygulamasına ait değerler) ölçümlerinin farkının karesinin beklenen değerine oranı olarak söylenebilmektedir.

US FDA tarafında önerilen bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü;

$$\theta = \frac{E[(Y_T - Y_R)^2] - E[(Y_R - Y_{R'})^2]}{\frac{1}{2}E[(Y_R - Y_{R'})^2]} = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{WR}^2} \quad (3.38)$$

biçimde gösterilmektedir. Burada Y_T ve Y_R ölçümlerinin farkının karesinin beklenen değeri;

$$E(Y_T - Y_R)^2 = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + \sigma_{WT}^2 \sigma_{WR}^2 \quad (3.39)$$

biçiminde, Y_R ve $Y_{R'}$ ölçümlerinin farkının karesinin beklenen değeri ise;

$$E(Y_R - Y_{R'})^2 = 2\sigma_{WR}^2 \quad (3.40)$$

biçiminde ifade edilmektedir.

US FDA, bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde karışık ölçekli ölçütün kullanılmasını önermektedir ve bu ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\max\{\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2\}} \quad (3.41)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Burada, US FDA, $\sigma_{W0}^2 = 0.04$ alınmasını önermektedir.

Kitle biyoeşdeğerlik yönteminde olduğu gibi US FDA'nın önerisi bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde de karışık ölçekli modelin kullanılmasıdır. Karışık ölçekli modelde referans ilacın varyansı çok büyükse referans, çok küçükse sabit ölçeklendirme kullanılmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 > \sigma_{W0}^2$ ise referans ölçeklendirme kullanılmakta ve ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{WR}^2} \leq \theta_I \quad (3.42)$$

biçiminde olmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 \leq \sigma_{W0}^2$ ise sabit ölçeklendirme kullanılır ve ölçüt;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\sigma_{W0}^2} \leq \theta_I \quad (3.43)$$

biçiminde olmaktadır. Burada;

θ_I : Bireysel biyoeşdeğerlik limiti

olmaktadır. Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde de kitle biyoeşdeğerlik yönteminde olduğu gibi referans ilaca ait varyans değeri ile ölçeklendirme yapıldığında eğer referans ilacın varyansı yeterince büyük ise bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü küçülür ve bireysel biyoeşdeğerlik limitleri büyür (genişler). Ancak referans ilaca ait varyans değeri çok küçükse bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü büyür ve bireysel biyoeşdeğerlik limiti küçülür (daralır). Bu durum istenmediği için sabit ölçeklendirme yöntemi kullanılmaktadır. Referans ilaca ait varyans değeri belirlenen toplam varyans sabitine eşit veya küçük ise sabit ölçeklendirme yöntemi kullanılır (Schall ve Williams, 1996).

3.3.2. Toplam Varyans Sabitinin Saptanması

Bireysel Fark Oranı (Individual Difference Ratio - IDR) beklenen T-R değeri ve beklenen R-R' değerlerinin oranı olarak ifade edilmektedir ve

$$\frac{E(Y_T - Y_R)^2}{E(Y_R - Y_{R'})^2} = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)}{2\sigma_{WR}^2}$$

$$IDR = \left[\frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)}{2\sigma_{WR}^2} \right]^{1/2} \quad (3.44)$$

biçiminde gösterilmektedir. Bireysel fark oranı bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (Individual Bioequivalence Criteria - IBC) ile ilişkili olmaktadır ve

$$IDR = \left(\frac{IBC}{2} + 1 \right)^{1/2}$$

biçiminde de gösterilebilmektedir. IDR'nin alabileceği en yüksek değer 1.25 ve buna göre toplam varyans sabiti için önerilen değer $\sigma_{W0}^2=0.04$ 'dür (US FDA, 1999b).

3.3.3. Bireysel Biyoeşdeğerlik Limitinin Saptanması

Bireysel biyoeşdeğerlik limitinin saptanmasında bireysel biyoeşdeğerlik ölçütüne yapılan ekler göz önüne alınmaktadır. Bireysel biyoeşdeğerlik limiti;

$$\theta_I = \frac{ABL^2 + VF}{V} \quad (3.45)$$

biçiminde verilmektedir. Burada,

ABL : Ortalama Biyoeşdeğerlik Limiti ($\theta_A = \ln 1.25$)

VF : Varyans faktörleri ($(\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)$ farkının ve birey formül etkileşimi varyansının(σ_D^2) limite etkisinin - $\varepsilon_I = 0.05$ olduğu varsayılmaktadır)

V : Varyans terimi ($\sigma_{W0}^2 = 0.04$)

Bu sabitler Eş. 3.45.'de yerine konulduğunda;

$$\theta_I = \frac{\theta_A^2 + \varepsilon_I}{\sigma_{W0}^2} = \frac{0.049 + 0.05}{0.04} = 2.4948$$

değeri elde edilmektedir (US FDA, 1999b).

3.3.4. Deney Düzeni ve Güven Aralığı Yöntemi

US FDA (2001) bireysel biyoeşdeğerlik çalışmaları için iki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzenini (Çizelge 3.1.) önermektedir. Bu deney düzeninde örneklem, test ve referans ilacı alışı sıraları rasgele belirlenmiş "n" tane katılımcıdan oluşmakta ve her birey deney boyunca aynı ilacı iki kere almaktadır. Kullanılabilecek diğer deney düzenlerinden Alt bölüm 3.4.'de bahsedilmiştir.

Bu deney düzeni için Chincchilli ve Esinhart'ın (1996) önerdiği model;

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.46)$$

biçimindedir. Burada,

i : Seri (i = 1, 2),

j : Birey (j = 1, 2, ..., n),

k : İlaç (k = R, T),

l : Tekrar (l = 1, 2),

Y_{ijkl} : j. katılımcının i. sırasının, k. ilacın, l. tekrarına karşılık gelen farmakinetik değeri,

μ_k : Kitle ortalaması,

γ_{ikl} : i. serinin, k. ilacının, l. tekrarının belirli etkisi,

δ_{ijk} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı aldığı anda bireyin rasgele etkisi ve

ε_{ijkl} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı, l. kere aldığı anda ortaya çıkan rasgele hata olmaktadır.

ε_{ijkl} raslantı değişkeninin bağımsız olduğu ve dağılımının ortalaması 0 varyansı

σ_{Wk}^2 (k: T, R) olan normal dağılım olduğu varsayılmaktadır ($\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma_{Wk}^2)$).

Aynı zamanda rasgele birey etkileri vektörlerinin de (δ'_{ij}) bağımsız olduğu ve normal dağıldığı varsayılmakta ve

$$\delta'_{ij} = (\mu_R + \delta_{ijR}, \mu_T + \delta_{ijT})' \quad (3.47)$$

biçiminde gösterilmektedir. Burada;

$$\delta'_{ij} \sim N_2 \left[\begin{pmatrix} \mu_R \\ \mu_T \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} \sigma_{BR}^2 & \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} \\ \rho \sigma_{BT} \sigma_{BR} & \sigma_{BT}^2 \end{pmatrix} \right]$$

olmaktadır.

Modeldeki parametre fazlalığını engellemek için ek kısıtlar sıkıntı parametreleri olarak düşünülmektedir. Modeldeki hata değerinin küçük olması için sıkıntı parametreleri toplamının sıfır olduğu varsayılır ve

$$\sum_{i=1}^2 \sum_{l=1}^2 \gamma_{ikl} = 0$$

biçiminde gösterilir. Burada,

i : Seri (i = 1, 2),

k : İlaç (k = R, T),

l : Tekrar (l = 1, 2)

olmaktadır.

Sonuç olarak artık etkileri azaltılmış olur. Böylece doygun bir model oluşturulabilmektedir. Kabul edilebilir hata miktarı yada modelin açıklama oranı gözönüne alınarak bazı sıkıntı parametreleri de tahmin edilebilir. Ancak öncelikle bireysel biyoeşdeğerlik ölçütüne ait parametrelerin tahmini üzerine yoğunlaşmaktadır. Gösterimin kolaylığı için her tekrarda katılımcı sayılarının eşit olduğu varsayılmaktadır. US FDA (1999b) rehberinde önerilen doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü;

$$\eta = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \max\{\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2\} \quad (3.48)$$

biçimindedir.

Yokluk ve seçenek hipozler ise ;

$$H_0 : \eta \geq 0$$

$$H_s : \eta < 0$$

olmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 > \sigma_{W0}^2$ ise referans ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (η_1) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$\eta_1 = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \sigma_{WR}^2 < 0 \quad (3.49)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Yokluk ve seçenek hipotezleri ise;

$$H_0 : \eta_1 \geq 0$$

$$H_S : \eta_1 < 0$$

biçiminde olmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 \leq \sigma_{W0}^2$ ise sabit ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (η_2) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$\eta_2 = (\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2) - \theta_I \sigma_{W0}^2 < 0 \quad (3.50)$$

biçiminde olmaktadır. Yokluk ve seçenek hipotezleri ise;

$$H_0 : \eta_2 \geq 0$$

$$H_S : \eta_2 < 0$$

biçiminde ifade edilmektedir.

η_i 'nin ($i=1, 2$) yansız tahmin edicilerine ulaşabilmek için ölçüt, bağımsız ki-kare dağılımına sahip rastlantı değişkenlerinin doğrusal kombinasyonu olacak şekilde yeniden yazılabilmektedir.

T_{ij} , i. seriyi kullanan j. bireyin test ilacı iki kere alması ile elde edilen iki farmakinetik değer arası fark olsun. R_{ij} , i. seriyi kullanan j. bireyin referans ilacı iki kere alması ile elde edilen iki farmakinetik değer arası fark olsun ($j = 1, 2, \dots, n_i$, $i=1,2$). Bu durumda;

$$T_{ij} = (Y_{ijT1} - Y_{ijT2}) \quad (3.51)$$

$$R_{ij} = (Y_{ijR1} - Y_{ijR2}) \quad (3.52)$$

biçimindedir.

$$\delta = (\mu_T - \mu_R) \quad (3.53)$$

olduğu varsayılın. İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzeninde i. seriyi kullanan j. bireyin test ve referans ilaç ortalamaları arası fark;

$$I_{ij} = \frac{1}{2}(Y_{ijT1} + Y_{ijT2}) - \frac{1}{2}(Y_{ijR1} + Y_{ijR2}) = \bar{Y}_{ijT} - \bar{Y}_{ijR} \quad (3.54)$$

biçiminde verilmektedir. Buna göre I_{ij} , bağımsızdır ve ortalaması δ , varyansı σ_I^2 olan normal dağılıma yakınsamaktadır ($I_{ij} \sim N(\delta, \sigma_I^2)$, $j = 1, 2, \dots, n_i$, $i = 1, 2$).

Buna bağlı olarak δ ve σ_I^2 için yansız tahmin ediciler sırasıyla;

$$\hat{\delta} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^2 \bar{I}_i \quad (3.55)$$

ve

$$\hat{\sigma}_I^2 = \frac{1}{N-2} \sum_{i=1}^2 (I_{ij} - \bar{I}_i)^2 = \frac{SS_I}{N-2} \quad (3.56)$$

biçiminde olmaktadır. Burada;

$$\bar{I}_i = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} I_{ij} \quad (j = 1, 2, \dots, n_i) \quad (3.57)$$

$$N = n_1 + n_2 \quad (3.58)$$

$$SS_I = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (I_{ij} - \bar{I}_i)^2 \quad (3.59)$$

biçimindedir.

$$\hat{\delta} \sim N(\delta, \frac{W}{4} \sigma_I^2)$$

olmaktadır. Burada

$$W = \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \quad (3.60)$$

biçimindedir.

Normallik varsayımı altında;

$$\hat{\sigma}_I^2 \sim \frac{\sigma_I^2}{(N-2)} \chi_{(N-2)}^2$$

biçiminde verilmektedir. σ_{WT}^2 ve σ_{WR}^2 için de yansız tahmin ediciler elde edilebilmektedir. Buna göre;

$$\hat{\sigma}_{WT}^2 = \frac{1}{2(N-2)} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2 = \frac{SS_{WT}}{(N-2)} \quad (3.61)$$

$$\hat{\sigma}_{WR}^2 = \frac{1}{2(N-2)} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_{i.})^2 = \frac{SS_{WR}}{(N-2)} \quad (3.62)$$

biçimindedir. Burada;

$$SS_{WT} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (T_{ij} - \bar{T}_{i.})^2 \quad (3.63)$$

ve

$$SS_{WR} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^{n_i} (R_{ij} - \bar{R}_{i.})^2 \quad (3.64)$$

biçiminde olmaktadır. Normallik varsayımı altında :

$$\hat{\sigma}_{WT}^2 \sim \frac{\sigma_{WT}^2}{(N-2)} \chi_{(N-2)}^2$$

ve

$$\hat{\sigma}_{WR}^2 \sim \frac{\sigma_{WR}^2}{(N-2)} \chi_{(N-2)}^2$$

biçiminde verilmektedir. $\hat{\delta}$, $\hat{\sigma}_I^2$, $\hat{\sigma}_{WT}^2$, $\hat{\sigma}_{WR}^2$, bağımsız rastlantı değişkenlerdir.

$$\sigma_I^2 = \sigma_D^2 + \frac{(\sigma_{WT}^2 + \sigma_{WR}^2)}{2} \quad (3.65)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Sonuç olarak η_i 'nin ($i=1, 2$) yansız tahmin edicileri;

$$\hat{\eta}_1 = \hat{\delta}^2 + \hat{\sigma}_I^2 + 0.5\hat{\sigma}_{WT}^2 - (1.5 + \theta_I)\hat{\sigma}_{WR}^2 \quad (3.66)$$

ve

$$\hat{\eta}_2 = \hat{\delta}^2 + \hat{\sigma}_I^2 + 0.5\hat{\sigma}_{WT}^2 - 1.5\hat{\sigma}_{WR}^2 - \theta_I\hat{\sigma}_{W0}^2 \quad (3.67)$$

olmaktadır (US FDA, 2001).

3.3.5. 3H Yöntemi

Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde US FDA'nın önerdiği yöntemlerden biri de Hyolop v.d. (2000) tarafından geliştirilen 3H yöntemidir. Bu yöntem Howe'un (1974) geliştirdiği yöntemden faydalanılarak, doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün üst limitinin $\%(1-\alpha)$ olacak şekilde geliştirilmesiyle elde edilmiştir.

Hyslop v.d. (2000) doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü için $\%(1-\alpha)$ düzeyinde üst güvenilirlik sınırı oluşturmuşlar ve bu sınırı, US FDA'nın önerdiği doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün tahmin edicisinin, bağımsız ki-kare dağılımına sahip rastlantı değişkenlerinin doğrusal kombinasyonu ile ifade edilebileceği varsayımına dayanan Eş. 3.66. ve Eş. 3.67.'de belirtilen eşitliklerin parametrelerini yeniden düzenlemek suretiyle geliştirmişlerdir. Bu yöntem üç adımda ifade edilmektedir:

1. Adım : $\hat{\eta}$ 'nin her bir elemanı için $\%(1-\alpha)$ düzeyinde bir alt veya üst güvenilirlik limiti bulunur. Bunlar H_D , H_I , H_T , H_{R_1} , H_{R_2} olarak gösterilecektir. H_D , δ^2 'nin $\%(1-\alpha)$ düzeyindeki güvenilirlik limitidir, Hsu v.d. (1994) tarafından $|\delta|$ için geliştirilen aralığı temel alır ve

$$H_D = \left(|\hat{\delta}| + t_{1-\alpha; N-s} \left(\frac{W}{4} \hat{\sigma}_I^2 \right)^{1/2} \right)^2 \quad (3.68)$$

biçiminde ifade edilmektedir.

H_I , H_T , H_{R_1} , H_{R_2} 'nin güvenilirlik limitleri ise ki-kare değerlerine bağlıdır ve

$$N = n_1 + n_2 \quad (3.69)$$

$$H_I = \frac{(N-2)\hat{\sigma}_I^2}{\chi_{\alpha; (N-2)}^2} \quad (3.70)$$

$$H_T = \frac{0.5(N-2)\hat{\sigma}_{WT}^2}{\chi_{\alpha; (N-2)}^2} \quad (3.71)$$

$$H_{R_1} = \frac{-(1.5 + \theta)(N-2)\hat{\sigma}_{WR}^2}{\chi_{1-\alpha; (N-2)}^2} \quad (3.72)$$

$$H_{R_2} = \frac{-1.5(N-2)\hat{\sigma}_{WR}^2}{\chi_{1-\alpha; (N-2)}^2} \quad (3.73)$$

biçiminde ifade edilmektedir.

2. Adım : Birinci adımda yazılan H_q ($q = D, I, T, R_1, R_2$) güvenilirlik limitinin temsil ettiği parametrenin nokta tahmini (E_q) ;

$$E_D = \hat{\delta}^2 = (\hat{\mu}_T - \hat{\mu}_R)^2 \quad (3.74)$$

$$E_I = \hat{\sigma}_I^2 \quad (3.75)$$

$$E_T = 0.5\hat{\sigma}_{WT}^2 \quad (3.76)$$

$$E_{R_1} = -(1.5 + \theta)\hat{\sigma}_{WR}^2 \quad (3.77)$$

$$E_{R_2} = -1.5\hat{\sigma}_{WR}^2 \quad (3.78)$$

biçiminde ifade edilmektedir .

$$U_q = (H_q - E_q)^2 \quad (3.79)$$

olduğu varsayılır.

3. Adım : H_{η_1} ve H_{η_2} , η_1 ve η_2 'nin $\%(1-\alpha)$ düzeyindeki üst limitlerinin nokta tahminleri olduğu varsayılmaktadır.

$\sigma_{WR}^2 > \sigma_{W0}^2$ ise referans ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (H_{η_1}) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$H_{\eta_1} = \sum E_q + (\sum U_q)^{1/2}, (q = D, I, T, R_1, R_2) \quad (3.80)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Eğer;

$$H_{\eta_1} = \sum E_q + (\sum U_q)^{1/2} < 0$$

koşulu sağlanırsa bireysel biyoeşdeğerlik α hata düzeyinde sağlanmış olur.

$\sigma_{WR}^2 \leq \sigma_{W0}^2$ ise sabit ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü (H_{η_2}) kullanılmaktadır ve bu ölçüt;

$$H_{\eta_1} = \sum E_q - \theta_I \sigma_{W0}^2 + (\sum U_q)^{1/2}, (q = D, I, T, R_1, R_2) \quad (3.81)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Eğer;

$$H_{\eta_1} = \sum E_q - \theta_1 \sigma_{W0}^2 + (\sum U_q)^{1/2} < 0$$

koşulu sağlanırsa bireysel biyoeşdeğerlik α hata düzeyinde sağlanmış olur (Hyslop v.d., 2000).

3.3.6. Genelleştirilmiş P-değeri Yöntemi

Tsui ve Weerahandi (1989), deneyden elde edilen değerlerden oluşacak bir X rastlantı vektörü için genelleştirilmiş bir test fonksiyonu (Generalized Test Function-GTF) tanımlamışlardır. Genelleştirilmiş test fonksiyonunun gösterimi;

$$T(X; x, \xi)$$

biçimindedir. Ögeleri ölçüm değerlerinden (x) oluşan X vektörü,

$$\xi = (\theta, \zeta)$$

olmaktadır. Burada;

θ : Skaler ilgi parametresi,

ζ : Sıkıntı parametreleri (bir yada daha fazla sayıda) vektörüdür.

Tsui ve Weerahandi (1989) genelleştirilmiş test fonksiyonu için aşağıdaki üç koşulun sağlanması gerektiğini belirtmişlerdir:

1. $T(X; x, \xi) = t$, fonksiyonu ξ 'den bağımsız olmalıdır.
2. Belirli x ve ξ için $T(X; x, \xi)$ fonksiyonunun dağılımı sıkıntı parametresi olan ξ 'den bağımsız olmalıdır.
3. Belirli x ve ξ için $P(T(X; x, \xi) \geq t | \theta)$ nın θ 'da azalan olmamalıdır.

McNally v.d. (2003) ise bu genelleştirilmiş test fonksiyonuna sıkıntı parametrelerini de ekleyerek genelleştirilmiş p-değeri yöntemini geliştirmiştir. Bu yöntem bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün güvenilirlik sınırlarını daha az hata ile belirlemektedir. Temelinde doğrusallaştırılmış bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü olan 3H yönteminden

farklı olarak bu yöntem bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün kendi üst limiti üzerine yoğunlaşmaktadır.

Bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün yansız tahmin edicisi bağımsız ve ki-kare dağılımına sahip olmakta ve örneklem genişliği sonsuza yaklaştıkça normal dağılım varsayımını sağlamaktadır. Sonuç olarak p-değeri ve $\%(1-\alpha)$ güvenilirlik sınırları da sağlanabilmektedir. Sıkıntı parametrelerinin örneklem genişliğine ve güce önemli etkilerinin olduğu teorik, gözlemsel ve uygulamalı olarak ortaya konulmuştur.

Genelleştirilmiş test fonksiyonu $(T(X; x, \xi))$ kullanılarak yokluk ve seçenek hipotezleri test etmek için elde edilen genelleştirilmiş p-değeri;

$$p = P(T(X; x, \xi) \leq t \mid \theta = \theta_0) \quad (3.82)$$

biçiminde verilmektedir. Burada;

$$\xi = (\theta, \zeta) \quad (3.83)$$

θ : İlgili parametresi

$$\zeta = (\sigma_I^2, \sigma_{WT}^2, \sigma_{WR}^2) \quad (3.84)$$

ζ : Sıkıntı parametreleri vektörü olmaktadır.

Bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün genelleştirilmiş test fonksiyonu;

$$T_I(X; x, \xi) = \frac{\theta \max \left(\sigma_{W0}^2, \frac{SS_{WR} \sigma_{WR}^2}{SS_{WR}} \right) + \frac{1.5 SS_{WR} \sigma_{WR}^2}{SS_{WR}}}{\left(\delta_0 - (\hat{\delta} - \delta) \sqrt{\frac{\left(\frac{c^2 SS_I \sigma_I^2}{SS_I} \right)}{(c^2 \sigma_I^2)}} \right)^2 + \frac{SS_I \sigma_I^2}{SS_I} + \frac{0.5 SS_{WT} \sigma_{WT}^2}{SS_{WT}}} \Rightarrow$$

$$T_I(X; x, \xi) = \frac{\theta \max \left(\sigma_{W0}^2, \frac{SS_{WR}}{y_R} \right) + \frac{1.5 SS_{WR}}{y_R}}{\left(\delta_0 - Z_{\hat{\delta}} \sqrt{\frac{c^2 SS_I}{y_I}} \right)^2 + \frac{SS_I}{y_I} + \frac{0.5 SS_{WT}}{y_T}} \quad (3.85)$$

biçiminde ifade edilmektedir. Burada;

$$c^2 = \frac{W}{4} \quad (3.86)$$

$$Z_{\hat{\delta}} = \frac{\hat{\delta} - \delta}{\sigma_{\hat{\delta}}} \sim N(0,1) \quad (3.87)$$

$$y_I = \frac{SS_I}{\sigma_I^2} \sim \chi_{(N-2)}^2 \quad (3.88)$$

$$y_R = \frac{SS_{WR}}{\sigma_{WR}^2} \sim \chi_{(N-2)}^2 \quad (3.89)$$

$$y_T = \frac{SS_{WT}}{\sigma_{WT}^2} \sim \chi_{(N-2)}^2 \quad (3.90)$$

olmaktadır.

y_I , y_R , y_T ve $Z_{\hat{\delta}}$ bağımsız rastlantı değişkenleridir. Ayrıca $(\hat{\delta}, SS_I, SS_{WT}, SS_{WR})$ rastlantı değişkenlerinin hesaplanan değerleri Eş. 3.85.'de yerine konulduğunda $T_I(X; x, \xi) = 1$ olmaktadır ve θ arttıkça genelleştirilmiş test fonksiyonu da artmaktadır. Genelleştirilmiş test fonksiyonun tanımlanmasının ardından genelleştirilmiş p-değeri;

$$p = P(T_I(X; x, \xi) < 1 \mid \theta = \theta_I) \quad (3.91)$$

biçiminde tanımlanır. Genelleştirilmiş p-değerinden elde edilen değer belirlenen α düzeyinden küçük ise bireysel biyoeşdeğerlik sağlanmış olmaktadır. Genelleştirilmiş p-değeri yöntemi kitle biyoeşdeğerlik yöntemine de uyarlanabilmektedir (McNally v.d., 2003).

3.4. Kitle ve Bireysel Biyoeşdeğerlikte Kullanılan Diğer Deney Düzenleri

Standart iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeni kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri için yeterli değildir. Çünkü örnekleme bireyler test ve referans ilacı yalnızca birer kere almaktadır. Ancak kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinde bireyler test ve referans ilacı ikişer kere almalıdır. İki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeninde birey içi varyans için yeterli ve yansız bir tahmin edici elde etmek olası değildir. US FDA bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi için iki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzenini önermektedir. Kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin doğruluğu için araştırmada dört tekrarlı bir deney düzeni kullanılması uygun olmaktadır (US FDA, 2003). İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzenine kitle biyoeşdeğerlik yöntemi ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi konuları altında değinilmiştir. İki seri, dört tekrarlı (2x4) çaprazlama deney düzeni dışında iki seri, üç tekrarlı (2x3), üç seri, üç tekrarlı (3x3) ve iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzenleri de mevcuttur (US FDA, 1999b).

3.4.1. İki Tekrarlı Deney Tasarımı

İki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeni kullanılacaksa kitle biyoeşdeğerlik yönteminde kullanılması önerilmektedir.

McNally'nin (2002b) iki tekrarlı deney düzenleri için önerdiği model;

$$Y_{ijk} = \mu_k + \gamma_{ik} + \varepsilon_{ijk} \quad (3.92)$$

biçimindedir. Burada;

i : Seri (i = 1, 2),

j : Birey (j = 1, ..., n_i)

k : İlaç (k = R, T),

Y_{ijk} : j. katılımcının i. sırasının, k. ilacına karşılık gelen farmakinetik değeri,

μ_k : k. ilacın, kitle ortalaması,

γ_{ik} : i. serinin, k. ilacının belirli etkisi,

ε_{ijk} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı aldığı anda ortaya çıkan rasgele hata olmaktadır.

Aynı zamanda rasgele hata vektörünün (ε_{ijk}) bağımsız olduğu ve normal dağıldığı varsayılmakta,

$$\varepsilon_{ijk} = [\varepsilon_{ijT}, \varepsilon_{ijR}] \quad (3.93)$$

biçiminde gösterilmekte ve ortalaması sıfır, kovaryans matrisi ise,

$$V = \begin{pmatrix} \sigma_T^2 & \sigma_{TR} \\ \sigma_{TR} & \sigma_R^2 \end{pmatrix}$$

biçimindedir. Gösterimde kolaylık sağlamak için

$$\delta = (\mu_T - \mu_R)$$

biçiminde tanımlanmıştır. Ayrıca;

$$\sigma_I^2 = \sigma_T^2 + \sigma_R^2 - 2\sigma_{TR} \quad (3.94)$$

olmaktadır.

$\sigma_R^2 > \sigma_0^2$ ise referans ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılır ve

$$\Theta = \frac{\delta^2 + \sigma_T^2 - \sigma_R^2}{\sigma_R^2} \quad (3.95)$$

biçiminde ifade edilmektedir.

$\sigma_R^2 \leq \sigma_0^2$ ise sabit ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılır ve

$$\Theta = \frac{\delta^2 + \sigma_T^2 - \sigma_R^2}{\sigma_0^2} \quad (3.96)$$

biçiminde verilmektedir (McNally, 2002b).

3.4.2. Üç Tekrarlı Deney Tasarımı

US FDA kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri için iki seri, dört tekrarlı (2x4) deney tasarımı önermektedir. US FDA (2001) rehberinde üç tekrarlı deney düzeninin de kullanılabileceğini belirtmiş ancak bu deney tasarımı için detaylı bilgi vermemiştir. McNally (2002a) bu deney tasarımı için iki çeşit deney düzeni önermektedir. Bunlardan ilki, iki seri, üç tekrarlı (2x3) diğer bir deyişle ikili (dual) deney düzenidir ve Çizelge 3.2.'de verilmektedir. Bu deney düzeninde serilerden birinde test ilaç tekrar ederken, ikinci seride referans ilaç tekrar etmektedir. İkinci tasarım ise Hyslop ve Iglewicz'in (2001) önerdiği, üç seri, üç tekrarlı (3x3), ekstra-referans (extra-reference) deney düzenidir ve Çizelge 3.3.'de verilmektedir. Bu deney düzeninde tüm serilerde referans ilaç tekrar etmektedir.

Çizelge 3.2. Tasarım A, iki seri, üç tekrarlı (2x3) ikili deney düzeni

Seri	Period		
	I	II	III
1	T	R	T
2	R	T	R

Çizelge 3.3. Tasarım B, üç seri, üç tekrarlı (3x3) ekstra-referans deney düzeni

Seri	Period		
	I	II	III
1	T	R	R
2	R	T	R
3	R	R	T

Chow v.d. (2002) tarafından, Çizelge 3.3.'de gösterilen üç seri, üç tekrarlı (3x3) ekstra-referans deney düzeninin bir benzeri olan iki seri, üç tekrarlı (2x3) ekstra-referans deney düzeninin de kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Çizelge 3.4. Tasarım C, iki seri, üç tekrarlı (2x3) ekstra-referans deney düzeni

Seri	Period		
	I	II	III
1	T	R	R
2	R	T	R

Ancak McNally (2002a) Çizelge 3.4.'de gösterilen deney tasarımının yanlı tahmin ediciler elde edilmesine yol açabileceği için eğer ekstra-referans deney düzeni kullanılacaksa Çizelge 3.3'de gösterilen üç seri, üç tekrarlı (3x3) ekstra-referans deney düzeninin kullanmasını önermiştir.

McNally'nin (2002a) üç tekrarlı deney düzenleri için önerdiği model

$$Y_{ijkl} = \mu_k + \gamma_{ikl} + \eta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (3.97)$$

biçimindedir. Burada;

i : Seri (i = 1, ..., s),

j : Birey (j = 1, ..., n_i)

k : İlaç (k = R, T),

l : Tekrar (l = 1, 2)

Y_{ijkl} : j. katılımcının i. sırasının, k. ilacın, l. tekrarına karşılık gelen farmakinetik değeri,

μ_k : k. ilacın, kitle ortalaması,

γ_{ikl} : i. serinin, k. ilacının, l. tekrarının belirli etkisi,

η_{ijk} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı aldığı anda bireyin rasgele etkisi ve

ε_{ijkl} : i. seriyi kullanan j. bireyin, k. ilacı, l. kere aldığı anda ortaya çıkan rasgele hata olmaktadır. Modeldeki parametre fazlalığını engellemek için ek kısıtlar sıkıntı

parametreleri olarak düşünölmektedir. Modeldeki hata değeriinin küçöğ olması için sıkıntı parametreleri toplamının 0 olduğı varsayılır ve

$$\sum_{i=1}^2 \sum_{l=1}^2 \gamma_{ikl} = 0$$

biçiminde gösterilir (Chinchilli ve Esinhart, 1996).

Aynı zamanda rasgele birey etkileri vektörlerinin de (η_{ij}) bağımsız olduğı ve normal dağıldığı varsayılmakta ve

$$\eta_{ij} = [\eta_{ijT}, \eta_{ijR}] \quad (3.98)$$

biçiminde gösterilmektedir. Rasgele birey etkileri vektörleri normallik varsayımını sağlamaktadır ve ortalaması sıfır, kovaryans matrisi ise;

$$V = \begin{pmatrix} \sigma_{BT}^2 & \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \\ \rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} & \sigma_{BR}^2 \end{pmatrix}$$

biçimindedir. ε_{ijkl} ve η_{ijk} parametreleri birbirlerinden bağımsızdırlar.

Bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde kullanılan birey formöl etkileşimi varyansı;

$$\sigma_D^2 = (\sigma_{BT} - \sigma_{BR})^2 + 2(1-\rho)\sigma_{BT}\sigma_{BR} = \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} \quad (3.99)$$

biçiminde ifade edilmektedir (Ekbohm ve Melander, 1989).

Eş. 3.94. incelendiğinde, test ve referans ilacın bireyler arası varyans değeri farkı $(\sigma_{BT} - \sigma_{BR})$ sıfıra ve ilişki katsayısı (ρ) bire yaklaştıkça, birey formöl etkileşimi varyansı (σ_D^2) küçölmektedir. Göröldüğü gibi bireysel biyoeşdeğerliğin sağlanmasında ilişki katsayısının (ρ) önemi büyüktür.

Birey formöl etkileşimi varyansının bu biçimi bireysel biyoeşdeğerlik yönteminin iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeni içinde kullanılmaktadır. Ancak bireysel biyoeşdeğerlik yönteminde test yada referans ilacın tekrarının olmaması varyans parametrelerinin tahmininde hatanın artmasına sebep olmaktadır. Bu

yüzden US FDA (1999a) bireysel biyoeşdeğerlikte 4 yada 3 tekrarlı deney düzenlerinin kullanılmasını önermektedir.

3.5. Ortalama ve Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Nakai v.d. (2002) ortalama ve kitle biyoeşdeğerlik yöntemlerinin karşılaştırılması, varsa farklılıkların neden kaynaklandığını belirlemek amacıyla bir araştırma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada AUC parametresinin araştırılması için on yedi, C_{maks} parametresinin araştırılması için on iki veri seti kullanmışlardır. Veri setlerine ortalama ve kitle biyoeşdeğerlik yöntemleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda verimiştir.

- AUC parametresinin incelenmesi için ayrılan on yedi veri setinin on birinde ortalama, on üçünde kitle biyoeşdeğerlik sağlanmıştır.
- C_{maks} parametresinin incelenmesi için ayrılan on iki veri setinin üçünde ortalama, sekizinde kitle biyoeşdeğerlik sağlanmıştır.
- AUC parametresinin incelenmesi sonucunda iki veri setinde ortalama biyoeşdeğerlik sağlandığı halde kitle biyoeşdeğerliğin sağlanmadığı görülmüştür.
- C_{maks} parametresinin incelenmesi sonucunda bir veri setinde ortalama biyoeşdeğerlik sağlandığı halde kitle biyoeşdeğerliğin sağlanmadığı görülmüştür.
- AUC parametresinin incelenmesi sonucunda dört veri setinde kitle biyoeşdeğerlik sağlandığı halde ortalama biyoeşdeğerliğin sağlanmadığı görülmüştür.
- C_{maks} parametresinin incelenmesi sonucunda altı veri setinde kitle biyoeşdeğerlik sağlandığı halde ortalama biyoeşdeğerliğin sağlanmadığı görülmüştür.
- Aynı veri setleri üzerinde, kitle biyoeşdeğerlik yöntemi ile ortalama biyoeşdeğerlik yöntemine göre daha fazla veri setinde biyoeşdeğerlilik sağlanmaktadır.

- Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi varyans terimlerinin de kullanılmasından dolayı, ortalama biyoeşdeğerlik yönteminden daha kapsamlı ve etkindir.

3.6. Ortalama ve Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması

US FDA'nın önerdiği karışık ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü;

$$\Theta = \frac{(\mu_T - \mu_R)^2 + \sigma_D^2 + (\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2)}{\max\{\sigma_{WR}^2, \sigma_{W0}^2\}}$$

biçimindedir. Bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün ilk bölümü $((\mu_T - \mu_R)^2)$, bireysel biyoeşdeğerlik ölçütünün ortalama biyoeşdeğerlik ölçütü ile bağlantılı olduğu bölümüdür. Diğer varyans terimlerin de ölçüte eklenmesi ile daha yeterli bir bireysel biyoeşdeğerlik ölçütüne ulaşıldığı varsayılmaktadır (Schall, 1995; Chen, 1997; Patnaik v.d., 1997).

Endrenyi ve Midha (1998) biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılan üç karakteristik arasındaki ilişkiyi göstermek için Çizelge 3.3.'ü kullanmıştır. Bu çizelgede altı değişik durumla karşılaşılmaktadır.

Çizelge 3.5. Ortalama ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin karşılaştırılması

	A		B		C		D		E		F	
	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T
	=		≠		×		<		>		/	
$\mu_T - \mu_R$	0		+		0		0		0		+	
σ_D^2	0		0		+		(+)		(+)		(+)	
$\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$	0		0		0		+		-		-	
Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi	√		X		√		√		√		X	
Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi	√		X		X		X		√		√	

Çizelge 3.5.'de;

$\mu_T - \mu_R$: Kitle ortalamaları arası fark,

$\sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2$: Birey içi varyanslar arası fark,

σ_D^2 : Birey formül etkileşimi varyansı

olmaktadır.

A'da gösterilen durum, iki dağılımında net tanımlanabildiği, kitle ortalamaları farkının, birey içi varyans farkının ve birey formül etkileşimi varyansının önemsiz olduğu çok az rastlanan ancak en ideal durumdur. Ortalama biyoeşdeğerlik ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin ikisi de biyoeşdeğerlikle sonuçlanmıştır.

B'de gösterilen durum, kitle ortalamaları farkının önemli ancak birey içi varyans farkının ve birey formül etkileşimi varyansının önemsiz olduğu durumdur. Bu durumda ortalama biyoeşdeğerlik ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin ikisi de biyoeşdeğersizlikle sonuçlanmıştır.

C'de gösterilen durumda, kitle ortalamaları farkı ve birey içi varyans farkı önemsiz ancak birey formül etkileşimi varyansı önemlidir. Bu durumda ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğerlikle sonuçlanırken bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğersizlikle sonuçlanmıştır.

D'de gösterilen durumda, kitle ortalamaları farkı önemsizken birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi varyansı önemlidir. Bu durumda ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğerlikle sonuçlanırken bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğersizlikle sonuçlanmıştır.

E'de gösterilen durumda, kitle ortalamaları farkı önemsizken birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi varyansı önemlidir. Ancak D'den farklı olarak birey içi varyans farkı, sıfırdan küçüktür. Yani referans ilacın değişimi test ilaca oranla daha fazladır. Bu durumda ortalama biyoeşdeğerlik ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin ikisi de biyoeşdeğerlikle sonuçlanmıştır.

F'de gösterilen durum olabilecek en kötü durumlardan biridir. Kitle ortalamaları farkı, birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi varyansı önemlidir. Ancak E'de olduğu gibi birey içi varyans farkı, sıfırdan küçüktür. Yani referans ilacın değişimi test ilaca oranla daha fazladır. Bu durumda ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğersizlikle sonuçlanırken bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğerlilikle sonuçlanmıştır.

Amerika Bileşik Devletleri'nde ve diğer ülkelerdeki yönetmeliklere göre test ilacın onay alabilmesi için ortalama biyoeşdeğerlik yönteminin kullanımı yeterli olmaktadır. Ancak varyans faktörleri belirlenen güven düzeyinde anlamlı olduğunda ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğersizlikle sonuçlanırken bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi biyoeşdeğerlilikle sonuçlanabilir yada tam tersi bir durumla da karşılaşılabilir.

Kitle ortalaması farkı A, C, D ve E durumlarında eşit olmasına karşın birey formül etkileşimi varyansı ve birey içi varyans farkı için aynısı söylenememektedir. Birey içi varyans farkının ve birey formül etkileşimi varyansının önemli olduğu ancak kitle ortalamaları farkının önemsiz olduğu varsayılırsa $\sigma_{WT}^2 = \sigma_{WR}^2 = \sigma_e^2$ olur ve birey içi değişim katsayısı %40 ve üstü olduğunda (yüksek varyanslı ilaçlar) her zaman kullanılan örneklem büyüklüğü ($n=20-40$) doğru karar için yeterli olmayacaktır. Ancak bireyler arası değişim test ve referans ilaç için aynı olduğunda birey ortalamaları arası farkın homojenliğinden söz edilebilir. Bu durumda $\mu_{iT} - \mu_{iR}$ arasında kusursuz bir ilişki olacaktır ve

$$\sigma_{BT}^2 = \sigma_{BR}^2,$$

$$\rho = 1$$

ve Y_{ik} 'nın kovaryans matrisi;

$$\varepsilon = \begin{pmatrix} \sigma_{WT}^2 + \sigma_S^2 & \sigma_S^2 \\ \sigma_S^2 & \sigma_{WR}^2 + \sigma_S^2 \end{pmatrix}$$

biçimindedir.

3.7. Kitle ve Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Kitle biyoeşdeğerlik ilacın reçetelenebilirliği üzerine yoğunlaşırken bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi ilaçların değişebilirliği üzerine yoğunlaşmaktadır (Anderson ve Hauck, 1990; Sheiner, 1992).

4. UYGULAMA

4.1. Deney Tasarımı

Bu çalışmanın amacı, test ilacın; referans ilaçla biyoeşdeğerliliğini araştırmaktır. Farmakokinetik profil; oral, tek doz ilaç verilmesinden sonra on saat içinde, belirtilen zaman noktalarında alınacak kan örneklerine göre analizin yapılmasıdır. Tekrarlar arası yedi günlük ilaçtan arınma süresi belirlenmiştir.

Deney düzeni, test ve referans ilacın sağlıklı katılımcılarda, tek doz, çaprazlama, iki seri, dört tekrarlı (2x4) uygulama ile biyoeşdeğerlik araştırmasının gerçekleştirilmesidir. Test ve referans ilacın etken maddesi hakkında yeterli yayın bulunmamaktadır. Bu sebeple C_{maks} ve AUC parametrelerinin birey içi varyansları hakkında yeterli önsel bilgiye ulaşılamamıştır. Sonuç olarak bu biyoeşdeğerlik çalışmasında başlangıçta yirmi dört bireyle denemeye başlanmasına ve deneme sırasında bir ara analiz ile değişim katsayısının ve testin gücünün hesaplamasına, eğer hesaplanan değişim katsayısı değeri 0.40'dan büyük ve testin gücü 0.80'den küçük ise, örneklem büyüklüğünün gerektiği kadar artırılmasına karar verilmiştir.

4.1.1. Bireylerin Çalışmaya Alınma Ölçütleri

Denemeye katılacak bireylerin ;

- 18 – 45 yaş grubundan sağlıklı erkek olmaları,
- Sigara içmemeleri yada günde beş adetten az sigara içmeleri ve çalışma süresince sigara ve kahve içmemeleri,
- Alkol kullanmamaları yada günde yirmi gramdan az alkol kullanmaları,
- Gerekli muayene ve testler sonucunda herhangi bir anormal durumlarının saptanmaması,
- Vücut kitle indeksi, yaşına uygun aralık içinde olması, gerekmektedir.

4.1.2. Rasgele İlaç Alım Çizelgesi

Çalışmaya katılacak yirmi dört katılımcının birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü tekrarda test yada referans ilacı mı alacağı, Visual Basic bilgisayar programı ile oluşturulan rasgele ilaç alım çizelgesi (Çizelge 4.1.) ile belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Rasgele ilaç alım çizelgesi

Birey No	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Tekrar 4
1	R	T	R	T
2	T	R	T	R
3	T	R	T	R
4	R	T	R	T
5	T	R	T	R
6	T	R	T	R
7	R	T	R	T
8	T	R	T	R
9	R	T	R	T
10	R	T	R	T
11	R	T	R	T
12	T	R	T	R
13	T	R	T	R
14	T	R	T	R
15	T	R	T	R
16	R	T	R	T
17	R	T	R	T
18	T	R	T	R
19	T	R	T	R
20	T	R	T	R
21	R	T	R	T
22	R	T	R	T
23	R	T	R	T
24	R	T	R	T

4.1.3. Kan Alım Zamanları

Herbir katılımcıdan, her dört tekrarda da Çizelge 4.2.'de belirtilen zamanlarda kan alımı gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.2. Kan alım zamanları

Tekrar No	Zaman
1, 2, 3, 4	t _{0.00h}
	t _{0.25h}
	t _{0.50h}
	t _{0.75h}
	t _{1.00h}
	t _{1.25h}
	t _{1.50h}
	t _{2.00h}
	t _{3.00h}
	t _{4.00h}
	t _{5.00h}
	t _{6.00h}
	t _{8.00h}
	t _{10.00h}

4.2. Ön Hazırlık Dönemi

İlaç verilmesinden önceki bir haftalık sürede ön hazırlıklar yapılmıştır. Bu ön hazırlıklar çerçevesinde gönüllü listesinden rasgele seçilen yirmi dört bireyin çalışmaya alınma ölçütlerini sağlayıp sağlamadıkları incelenmiş ve bu ölçütleri sağladıkları belirlenmiştir. Ayrıca bireylerin yakın zamanda varsa aldıkları ilaçlar ve bu ilaçların arınma sürelerinin dolmuş olmasına dikkat edilmiştir.

4.3. Deney

Benzer koşullar altında Çizelge 4.1.'e göre bireylere test ve referans ilaçlar verilmiş ve Çizelge 4.2.'ye göre kan alımları gerçekleştirilmiştir. Toplanan kanlar gerekli işlemlerden geçirildikten sonra -70°C'deki derin dondurucuya yerleştirilmiş ve laboratuvar aşamasına geçilmiştir.

4.4. Laboratuvar

Laboratuvar aşamasında geliştirilen ve doğruluğu kanıtlanmış bir yöntemle ölçüm sıvı içindeki madde yoğunluk değerleri belirlenmiş ve istatistiksel çözümleme aşamasına geçilmiştir.

4.5. İstatistiksel Çözümleme

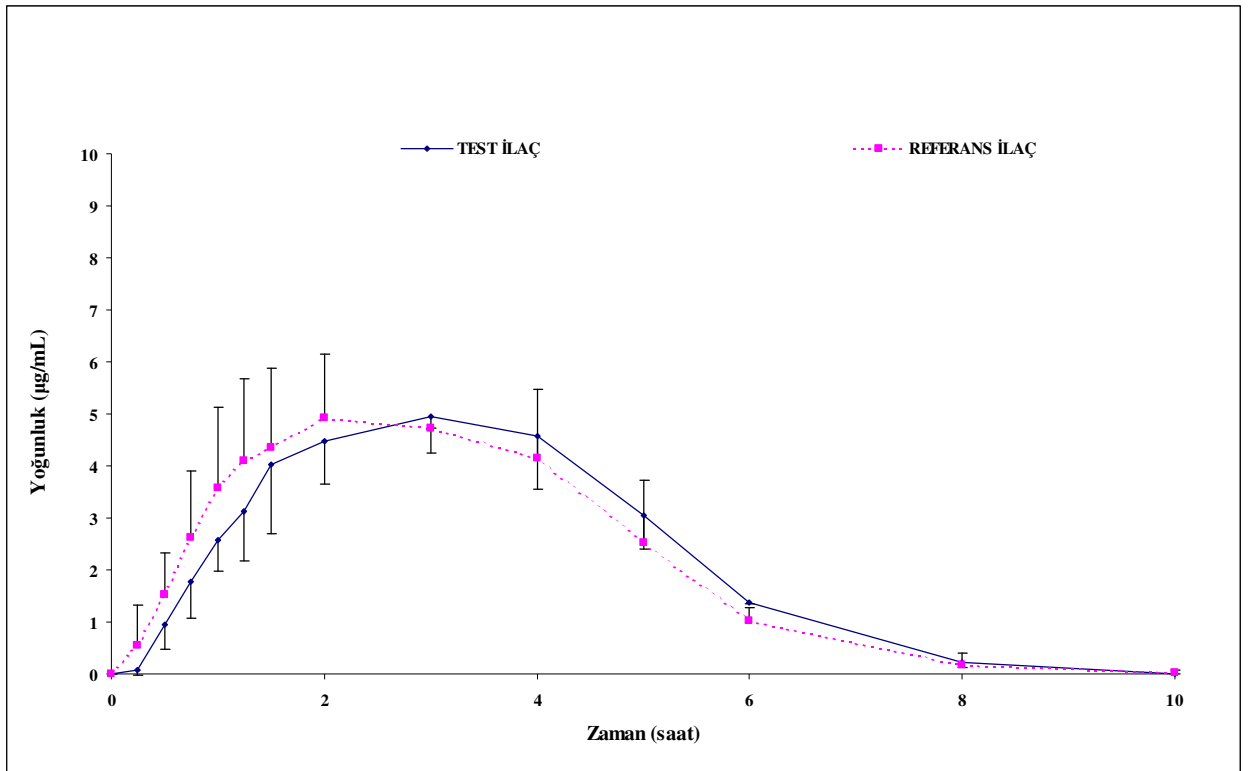
İstatistiksel çözümleme yapılırken “WinNonlin Professional (V4.1)” biyoistatistik paket programı ve SPSS 9.0 istatistik paket programı kullanılmıştır.

4.5.1. Betimleyici İstatistikler

Örneklemin, betimleyici istatistikleri Çizelge 4.3.'de ve ortalama grafiği Şekil 4.1.'de görülmektedir.

Çizelge 4.3. Örneklemin betimleyici istatistikleri

Zaman	Test ilacın ortalaması	Referans ilacın ortalaması	Test ilacın std. sapması	Referans ilacın std. sapması	Test ilacın değişim katsayısı	Referans ilacın değişim katsayısı
t _{0.00h}	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
t _{0.25h}	0.0774	0.5526	0.1094	0.7814	141.4214	141.4214
t _{0.50h}	0.9611	1.5316	0.4759	0.7971	49.5229	52.0412
t _{0.75h}	1.7736	2.6220	0.7079	1.2809	39.9139	48.8535
t _{1.00h}	2.5765	3.5867	0.6064	1.5475	23.5343	43.1456
t _{1.25h}	3.1260	4.1110	0.9535	1.5653	30.5033	38.0770
t _{1.50h}	4.0204	4.3604	1.3161	1.5193	32.7357	34.8423
t _{2.00h}	4.4831	4.9228	0.8318	1.2227	18.5532	24.8374
t _{3.00h}	4.9623	4.7153	0.7047	0.0190	14.2013	0.4027
t _{4.00h}	4.5656	4.1553	1.0158	1.3268	22.2492	31.9292
t _{5.00h}	3.0536	2.5292	0.6555	1.2060	21.4652	47.6835
t _{6.00h}	1.3667	1.0164	0.0142	0.2611	1.0355	25.6854
t _{8.00h}	0.2133	0.1672	0.0925	0.2364	43.3664	141.4214
t _{10.00h}	0.0000	0.0328	0.0000	0.0464	-	141.4214



Şekil 4.1. Test ve referans ilaçların ortalama grafiği

Ölçümlerden elde edilen yoğunluk değerlerinin, betimleyici istatistikleri ve histogram grafikleri incelendiğinde test ve referans ilaç dağılımlarının birbirine yakın olduğu görülmektedir.

4.5.2. Normal Dağılım Varsayımının ve Artıkların İncelenmesi

Bireylerin dağılımlarının genel durumunun incelenmesi, normal dağılım varsayımının sağlanıp sağlanmadığını saptanması ve aykırı değerlerin belirlenmesi amacıyla SPSS 9.0 programından yararlanılmıştır. SPSS çıktısındaki “Stem and Leaf Plot” lar incelendiğinde bütün örnekleme toplamda on bir aykırı değer saptanmıştır. Belirlenen aykırı değerlerin yapılan testler sonucu gerçekten aykırı değer olduklarına karar verilmiştir. Ancak bu değerlerin araştırmadan çıkartılmasının C_{maks} ’ın yapısında anlamlı değişimler yapma olasılığı göz önüne alınarak bu değerler de istatistiksel hesaplamalara dahil edilmişlerdir.

Normal dağılım varsayımı “Kolmogorov_Smirnov Z” testi ile araştırılmıştır ve sonuçlar incelendiğinde bütün bireylerin genel dağılımlarının normal dağılıma yakınsadığı görülmüştür.

4.5.3. Farmakinetik Parametrelerin İncelenmesi

Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri

İlaç		R^2	$R^2_{\text{düzeltilmiş}}$	Corr_{XY}
R	N	46	46	46
	$N_{\text{kayıp}}$	2	2	2
	$N_{\text{ölçüm}}$	48	48	48
	Ortalama	0.952	0.915	-0.975
	Std. Sapma	0.056	0.097	0.029
	Std. Hata	0.008	0.014	0.004
	Varyans	0.003	0.009	0.001
	Min	0.78	0.7	-1
	Ortanca	0.98	0.96	-0.99
	Maks	1	1	-0.89
	Değişim Katsayısı (%)	5.9	10.7	-3
T	N	46	46	46
	$N_{\text{kayıp}}$	2	2	2
	$N_{\text{ölçüm}}$	48	48	48
	Ortalama	0.919	0.869	-0.958
	Std. Sapma	0.082	0.123	0.044
	Std. Hata	0.012	0.018	0.006
	Varyans	0.007	0.015	0.002
	Min	0.71	0.56	-1
	Ortanca	0.95	0.91	-0.98
	Maks	1	1	-0.84
	Değişim Katsayısı (%)	8.9	14.2	-4.6

Çizelge 4.4.'de,

R^2 : λ parametresinin tahmininde kullanılan değişkenlerin λ parametresini açıklama oranını,

$R^2_{\text{düzeltilmiş}}$: R^2 değerinin kuramsal verilerin hesaplanmasında kullanılan noktalar kullanılarak hesaplanması ile elde edilen düzeltilmiş açıklama oranını,

Corr_{XY} : Zaman (X) ve yoğunluk değerleri (Y) arasındaki ilişki katsayısını ifade etmektedir.

Çizelge 4.4. incelendiğinde R^2 değeri ortalamasının referans ilaçta %95 iken test ilaçta %92 olduğu görülmektedir. Ayrıca düzeltilmiş R^2 değeri ortalaması referans ilaçta %92, test ilaçta ise %87 olmaktadır. R^2 değerinin yeterince yüksek olması $\text{AUC}_{0-\infty}$ değerinin tahminin daha az hata içermesi anlamına gelmektedir. Belirtilen

dört R^2 oran değeri de %80'in üzerinde olduğu için λ parametresinin açıklanma oranı yeterli büyüklüktedir.

Zaman yoğunluk ilişki katsayısının (Corr_{XY}) ortalaması referans ilaçta -0.98, test ilaçta ise -0.96 olmaktadır. Sonuç olarak zaman ve yoğunluk arasında ters yönlü kuvvetli bir ilişki vardır.

Çizelge 4.5. Farmakinetik parametreler çizelgesi

BİREY	İLAÇ	AUC _{(Ref-Test)/Ref} (%)	AUC _{(Ref-Test)/Ref} (pred) (%)
1	R	4.1946	4.4235
1	R	3.3192	3.3123
1	T	4.9344	5.1131
1	T	3.7156	4.1614
2	R	4.9263	6.3713
2	R	6.2173	7.3824
2	T	4.1491	4.2948
2	T	11.5421	13.8313
3	R	8.0887	9.2435
3	R	24.2536	24.1071
3	T	8.9759	10.0231
3	T	4.2144	4.0725
4	R	3.8983	4.0412
4	R	Missing	Missing
4	T	7.5417	7.9425
4	T	3.3327	3.4879
5	R	17.4504	21.6225
5	R	3.2392	3.0749
5	T	8.7099	10.5038
5	T	3.0503	3.2291
6	R	3.3600	3.4931
6	R	11.4585	14.3891
6	T	14.1873	17.4774
6	T	9.7189	15.1187
7	R	4.5358	4.5691
7	R	5.6318	6.0031
7	T	3.7199	3.7194
7	T	6.3988	6.7829
8	R	3.6174	3.8802
8	R	12.4164	12.5375
8	T	5.4204	6.0537
8	T	5.2445	5.6268
9	R	5.5477	6.0996
9	R	4.2442	4.4059
9	T	3.2807	3.4580
9	T	13.0610	13.8893

Çizelge 4.5. Farmakinetik parametreler çizelgesi (devam ediyor)

BİREY	İLAÇ	AUC _{(Ref-Test)/Ref} (%)	AUC _{(Ref-Test)/Ref} (pred) (%)
10	R	12.0737	13.3933
10	R	5.5350	6.6433
10	T	6.5818	5.9712
10	T	6.3361	7.1072
11	R	2.8139	3.0349
11	R	3.3252	3.5313
11	T	6.3824	7.5787
11	T	3.4386	3.6969
12	R	6.3443	6.9789
12	R	9.3641	10.4288
12	T	8.0087	8.7383
12	T	9.5409	11.7412
13	R	3.4031	3.6107
13	R	17.9408	20.0183
13	T	7.6191	8.7839
13	T	28.7392	31.3816
14	R	Missing	Missing
14	R	4.0248	3.9004
14	T	5.2794	5.6584
14	T	2.2793	2.2716
15	R	5.7000	6.2274
15	R	4.3025	4.8032
15	T	15.557	18.8126
15	T	Missing	Missing
16	R	10.2624	11.0143
16	R	7.4966	9.1925
16	T	14.003	19.6468
16	T	9.3203	12.5483
17	R	2.7966	2.7418
17	R	5.5691	6.7559
17	T	10.1783	11.3894
17	T	3.5754	4.1818
18	R	2.2859	2.269
18	R	7.6935	8.6573
18	T	11.2818	12.5492
18	T	3.8099	4.0958
19	R	24.1317	29.0129
19	R	2.5405	2.6971
19	T	9.6262	13.3415
19	T	21.1956	25.5746
20	R	2.1581	2.2189
20	R	7.4650	8.1787
20	T	14.8265	19.8555
20	T	Missing	Missing

Çizelge 4.5. Farmakinetik parametreler çizelgesi (devam ediyor)

BİREY	İLAÇ	$AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ (%)	$AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ (pred) (%)
21	R	8.4527	10.193
21	R	8.3913	9.753
21	T	4.6444	4.7611
21	T	17.4665	16.5853
22	R	8.3896	8.5384
22	R	6.2718	7.3631
22	T	5.2272	5.4161
22	T	3.3841	3.6015
23	R	3.5358	3.6357
23	R	2.3622	2.2199
23	T	3.631	4.2496
23	T	2.8787	3.1953
24	R	3.451	3.4302
24	R	3.2837	3.3917
24	T	4.873	5.0166
24	T	16.0946	19.2403

Çizelge 4.5. incelendiğinde test ilaçta da referans ilaçta da yalnızca iki bireyde $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranının %20 değerinin üstüne çıktığı görülmektedir yani yirmi iki kişide $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranı %20 değerinin altında yeralmaktadır. Sonuç olarak $AUC_{0-\infty}$ parametresi biyoeşdeğerliğin karar aşamasında birincil parametre olarak değerlendirilecektir.

Kuramsal verilerden elde edilen $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranı incelendiğinde test ilaç için ölçüm değerlerinden elde edilen sonuçlar aynı iken referans ilaçta dört bireyde $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranının %20 değerinin üstüne çıktığı görülmektedir yani yirmi kişide $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranını %20 değerinin altında yeralmaktadır. Kuramsal veriler baz alındığında da birincil parametre $AUC_{0-\infty}$ parametresi olmaktadır.

Eğer on dokuz bireyden (yirmi dört bireyin %80'i) daha azında $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranı %20 değerinin altında yer alsa idi veya beş bireyden fazlasında $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ oranının %20 değerinin üstünde yer alsa idi $AUC_{0-t_{son}}$ parametresi biyoeşdeğerliğin karar aşamasında birincil parametre olarak değerlendirilecekti.

Çizelge 4.6. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-1

İLAÇ		λ_z (1/hr)	Yarı Ömür $_{\lambda_z}$ (hr)	t_{maks} (hr)	C_{maks} (ug/mL)	t_{last} (hr)	C_{last} (ug/mL)
R	N	46	46	48	48	48	48
	$N_{Kayıp}$	2	2	0	0	0	0
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48	48	48
	Ortalama	0.81	0.986	2.432	6.635	5.667	0.971
	Std. Sapma	0.231	0.534	1.24	1.66	0.996	0.416
	Std. Hata	0.034	0.079	0.179	0.24	0.144	0.06
	Varyans	0.053	0.285	1.537	2.756	0.993	0.173
	Min	0.19	0.6	0.75	3.56	3	0.52
	Ortanca	0.87	0.8	2	6.75	6	0.83
	Maks	1.16	3.59	5	9.99	10	2.48
	Genişlik	0.97	2.99	4.25	6.43	7	1.96
	Değişim Katsayısı(%)	28.6	54.1	51	25	17.6	42.9
	Geometrik Ortalama	0.766	0.905	2.134	6.428	5.585	0.9
	Harmonik Ortalama	0.703	0.856	1.871	6.219	5.501	0.842
	Değişim Katsayısı _{Geo. Ort.} (%)	38.69	38.69	56.185	26.218	17.42	39.65
	Çarpıklık	-0.8054	3.1465	0.591	0.1463	1.3571	1.4697
	Basıklık	0.0425	11.3002	-0.8789	-1.0275	6.9527	2.4459
T	N	46	46	48	48	48	48
	$N_{Kayıp}$	2	2	0	0	0	0
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48	48	48
	Ortalama	0.719	1.095	2.786	6.427	5.917	1.115
	Std. Sapma	0.234	0.435	1.068	1.662	0.794	0.564
	Std. Hata	0.035	0.064	0.154	0.24	0.115	0.081
	Varyans	0.055	0.189	1.141	2.763	0.631	0.319
	Min	0.31	0.61	1.25	3.61	4	0.52
	Ortanca	0.75	0.93	3	6.08	6	0.91
	Maks	1.13	2.23	5	11.72	8	2.94
	Genişlik	0.82	1.61	3.75	8.11	4	2.41
	Değişim Katsayısı (%)	32.6	39.7	38.3	25.9	13.4	50.6
	Geometrik Ortalama	0.677	1.023	2.578	6.23	5.867	1.006
	Harmonik Ortalama	0.633	0.964	2.376	6.044	5.818	0.922
	Değişim Katsayısı _{Geo. Ort.} (%)	37.426	37.426	42.431	25.466	13.132	46.442
	Çarpıklık	-0.0814	1.0457	0.2176	0.8822	0.9195	1.4583
	Basıklık	-0.9976	-0.0211	-1.1165	1.181	2.2308	1.7546

Çizelge 4.6. incelendiğinde biyoeşdeğerliğin karar aşamasında kullanılacak birincil parametrelerden C_{maks} 'ın değişim katsayısı %40'ın altında olduğu için tercih edilen 24 bireylik örneklem genişliği bu parametre için yeterli olduğu görülmektedir. Ayrıca λ_z , Yarı Ömür $_{\lambda_z}$, t_{maks} , C_{maks} , t_{last} , C_{last} parametrelerinin test ve referans ilaca ait ortalama değerleri birbirine yakındır.

Çizelge 4.7. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-2

İLAÇ		AUC_{last} (hr*ug/mL)	AUC_{0-10} (hr*ug/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (hr*ug/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (Kuramsal) (hr*ug/mL)
R	N	48	48	46	46
	$N_{Kayıp}$	0	0	2	2
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48
	Ortalama	19.526	20.752	20.934	21.122
	Std. Sapma	4.543	4.483	4.737	4.8
	Std. Hata	0.656	0.647	0.698	0.708
	Varyans	20.635	20.097	22.443	23.044
	Min	9.48	10.08	11.29	11.44
	Ortanca	19.92	20.85	21.73	21.95
	Maks	28.14	28.14	30.08	30.12
	Genişlik	18.67	18.06	18.79	18.68
	Değişim Katsayısı (%)	23.3	21.6	22.6	22.7
	Geometrik Ortalama	18.934	20.219	20.353	20.533
	Harmonik Ortalama	18.258	19.621	19.716	19.889
	Değişim Katsayısı Geo. Ort. (%)	26.626	24.243	25.158	25.212
	Çarpıklık	-0.4696	-0.4401	-0.3302	-0.322
	Basıklık	-0.4927	-0.6062	-0.6309	-0.7105
T	N	48	48	46	46
	$N_{Kayıp}$	0	0	2	2
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48
	Ortalama	19.706	20.637	21.588	21.937
	Std. Sapma	4.128	4.172	4.756	4.937
	Std. Hata	0.596	0.602	0.701	0.728
	Varyans	17.039	17.403	22.624	24.372
	Min	10.97	12.78	12.21	12.38
	Ortanca	20.37	20.93	22.68	22.78
	Maks	27.37	31.55	30.85	31.93
	Genişlik	16.4	18.77	18.64	19.55
	Değişim Katsayısı (%)	20.9	20.2	22	22.5
	Geometrik Ortalama	19.254	20.214	21.046	21.363
	Harmonik Ortalama	18.775	19.783	20.477	20.763
	Değişim Katsayısı Geo. Ort. (%)	22.537	21.024	23.595	24.094
	Çarpıklık	-0.2106	0.1139	-0.0933	-0.0635
	Basıklık	-0.9575	-0.4466	-0.7739	-0.7273

Çizelge 4.7. incelendiğinde biyoeşdeğerliğin karar aşamasında kullanılacak birincil parametrelerden $AUC_{0-\infty}$ 'nin değişim katsayısı %40'ın altında olduğu için tercih edilen 24 bireylik örneklem genişliği bu parametre için yeterli olduğu görülmektedir. Ayrıca AUC_{last} , AUC_{0-10h} , $AUC_{0-\infty}$, $AUC_{0-\infty}$ (Kuramsal)'ın parametrelerinin test ve referans ilaca ait ortalama değerleri birbirine yakındır.

Çizelge 4.8. Farmakinetik parametrelerin betimleyici istatistikleri-3

İLAÇ		$AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ (%)	$AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ (Kuramsal) (%)	$MRT_{0-\infty}$ (hr)	$MRT_{0-\infty}$ (Kuramsal) (hr)
R	N	46	46	46	46
	$N_{Kayıp}$	2	2	2	2
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48
	Ortalama	6.908	7.669	3.139	3.174
	Std. Sapma	5.21	5.974	0.725	0.74
	Std. Hata	0.768	0.881	0.107	0.109
	Varyans	27.145	35.686	0.525	0.547
	Min	2.16	2.22	1.63	1.64
	Ortanca	5.54	6.16	3.02	3.04
	Maks	24.25	29.01	5.31	5.32
	Genişlik	22.1	26.79	3.68	3.69
	Değişim Katsayısı (%)	75.4	77.9	23.1	23.3
	Geometrik Ortalama	5.623	6.1	3.061	3.093
	Harmonik Ortalama	4.781	5.055	2.985	3.014
	Değişim Katsayısı Geo. Ort. (%)	67.948	73.673	22.923	23.246
	Çarpıklık	1.9466	1.8692	0.8109	0.7538
	Basıklık	3.5362	3.3054	0.98	0.7377
T	N	46	46	46	46
	$N_{Kayıp}$	2	2	2	2
	$N_{Ölçüm}$	48	48	48	48
	Ortalama	8.195	9.473	3.483	3.545
	Std. Sapma	5.502	6.641	0.622	0.644
	Std. Hata	0.811	0.979	0.092	0.095
	Varyans	30.273	44.099	0.386	0.414
	Min	2.28	2.27	2.3	2.31
	Ortanca	6.39	6.95	3.41	3.5
	Maks	28.74	31.38	5.39	5.53
	Genişlik	26.46	29.11	3.08	3.22
	Değişim Katsayısı (%)	67.1	70.1	17.8	18.2
	Geometrik Ortalama	6.79	7.612	3.429	3.488
	Harmonik Ortalama	5.75	6.257	3.376	3.43
	Değişim Katsayısı Geo. Ort. (%)	66.964	74.262	18.012	18.457
	Çarpıklık	1.5769	1.2742	0.4413	0.3719
	Basıklık	2.8077	1.2554	0.4726	0.459

Çizelge 4.8. incelendiğinde $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$, $AUC_{(Ref-Test)/Ref}$ (Kuramsal), $MRT_{0-\infty}$, $MRT_{0-\infty}$ (Kuramsal)'ın parametrelerinin test ve referans ilaca ait ortalama değerleri birbirine yakın olduğu görülmektedir.

4.5.4. Ortalama Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları

Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi için “WinNonLin Professional V4.1” biyoistatistik paket programı kullanılmıştır. WinNonLin programı ortalama biyoeşdeğerlik yönteminde en küçük kareler ortalamasını (Least Square Mean-LSM) ve bunun standart hatasını kullanmaktadır. Ayrıca eğer verilere log dönüşüm uygulanırsa WinNonLin programı yapılan çözümlemede geometrik en küçük kareler ortalamasını tercih etmektedir. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları Çizelge 4.9., Çizelge 4.10., Çizelge 4.11. ve Çizelge 4.12.’de yer almaktadır.

Çizelge 4.9. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1

Farmakinetik Değişkenler	LSM_R	LSM_R için Std. Hata	Geometrik LSM_R	LSM_T	LSM_T için Std. Hata	Geometrik LSM_T
In C_{maks} ($\mu\text{g/mL}$)	1.86	0.04	6.43	1.83	0.04	6.23
In AUC_{0-10} (hr. $\mu\text{g/mL}$)	3.01	0.03	20.22	3.01	0.03	20.21
In $AUC_{0-t_{son}}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$)	2.94	0.04	18.93	2.96	0.04	19.25
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$)	3.01	0.04	20.36	3.05	0.04	21.13

Çizelge 4.9. incelendiğinde test ve referans ilaca ait LSM ve Geometrik LSM değerlerinin birbirlerine çok yakın oldukları görülmektedir.

Çizelge 4.10. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2

Farmakinetik Değişkenler	$LSM_R - LSM_T$	$LSM_R - LSM_T$ için Std. Hata	LSM_T / LSM_R (%)
In C_{maks} ($\mu\text{g/mL}$)	-0.03	0.05	0.9693
In AUC_{0-10} (hr. $\mu\text{g/mL}$)	0.00	0.05	0.9998
In $AUC_{0-t_{son}}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$)	0.02	0.05	1.0169
In $AUC_{0-\infty}$ (hr. $\mu\text{g/mL}$)	0.04	0.05	1.0380

Çizelge 4.10. incelendiğinde test ve referans ilaca ait LSM değerlerinin farkının ve farkın standart hatasının küçük ve test ilacın LSM değerlerinin referans ilacın LSM değerlerine oranının bire yakın olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.11. Ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3

Farmakinetik Değişkenler	%90 Alt Limiti	%90 Üst Limiti	%95 Alt Limiti	%95 Üst Limiti	Güç
In C_{maks} (µg/mL)	88.90	105.68	87.41	107.48	1.00
In AUC₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	92.60	107.94	91.22	109.57	1.00
In AUC_{0-tson} (hr.µg/mL)	93.57	110.52	92.06	112.33	1.00
In AUC_{0-∞} (hr.µg/mL)	95.51	112.82	93.96	114.68	1.00

Çizelge 4.11. incelendiğinde karar parametreleri C_{maks} ve AUC_{0-∞}'un %90 alt ve üst limitlerinin (US FDA'nın ortalama biyoeşdeğerlik için önerdiği güvenilirlik limiti) %80-%120 limitlerinin içinde yer aldığı görülmektedir. Bu durumda, ortalama biyoeşdeğerlik sağlanmış olur. Ayrıca güç değerlerinin hepsi de bire çok yakın olduğu için program tarafından bire yuvarlanmışlardır. Diğer bir deyişle ortalama biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçlarının gücü çok yüksektir.

4.5.5. Kitle Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları

Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi için “WinNonLin Professional V4.1” biyoistatistik paket programı kullanılmıştır. US FDA’nın kitle biyoeşdeğerlik için önerdiği güvenilirlik üst limiti sıfırdır. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları Çizelge 4.12., Çizelge 4.13., Çizelge 4.14. ve Çizelge 4.15.’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Fark Değeri	-0.0312	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Oran(%Ref)	96.929	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	σ_R	0.2367	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	σ_{WR}	0.1685	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.133	-0.0677
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0803	-0.0407
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.133	-0.0677

Çizelge 4.12. incelendiğinde C_{maks} parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise $\pm\%20$ sınırları içinde olduğu (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca C_{maks} parametresi karar parametresidir ve karar aşamasında karışık ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için kitle biyoeşdeğerlik C_{maks} parametresi için sağlanmış olur.

Çizelge 4.13. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Fark Değeri	-0.0002	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	99.9755	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	σ_R	0.2136	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1378	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.1091	-0.058
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0827	-0.0535
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.1091	-0.058

Çizelge 4.13. incelendiğinde AUC₀₋₁₀ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise $\pm$ %20 sınırları içinde olduğu (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.14. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Fark Değeri	0.0168	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	101.6908	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	σ_R	0.237	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1583	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.14	-0.0778
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.09	-0.0553
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.14	-0.0778

Çizelge 4.14. incelendiğinde $AUC_{0-t_{son}}$ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise $\pm \%20$ sınırları içinde olduğu (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.15. Kitle biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-4

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Fark Değeri	0.0407	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	104.1568	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	σ_R	0.2306	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1639	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.132	-0.066
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0856	-0.0459
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.132	-0.066

Çizelge 4.15. incelendiğinde $AUC_{0-\infty}$ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerlerinin ise $\pm \%20$ sınırları içinde olduğu (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerlerinin küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca $AUC_{0-\infty}$ parametresi karar parametresidir ve karar aşamasında karışık ölçekli kitle biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için kitle biyoeşdeğerlik $AUC_{0-\infty}$ parametresi için sağlanmış olur. Karar parametreleri C_{maks} ve $AUC_{0-\infty}$ 'un ikisinin de üst limitleri sıfırdan küçük olduğu için kitle biyoeşdeğerlik sağlanmış olur.

4.5.6. Bireysel Biyoeşdeğerlik Yöntemi Sonuçları

Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi için “WinNonLin Professional V4.1” biyoistatistik paket programı kullanılmıştır. US FDA’nın bireysel biyoeşdeğerlik için önerdiği güvenilirlik üst limiti sıfırdır. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları Çizelge 4.16., Çizelge 4.17., Çizelge 4.18. ve Çizelge 4.19.’da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-1

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Fark Değeri	-0.0312	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Oran(%Ref)	96.929	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	σ_R	0.2367	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	σ_{WR}	0.1685	
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.0468	0.0084
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0758	-0.0348
$\ln C_{maks}$ ($\mu\text{g/mL}$)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.0758	-0.0348

Çizelge 4.16. incelendiğinde C_{maks} parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerleri $\pm \%20$ sınırları içinde (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerleri küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca C_{maks} parametresi karar parametresidir ve karar aşamasında karışık ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için bireysel biyoeşdeğerlik C_{maks} parametresi için sağlanmış olur.

Çizelge 4.17. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-2

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Fark Değeri	-0.0002	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	99.9755	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	σ_R	0.2136	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1378	
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.0315	0.0053
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.084	-0.0567
In AUC ₀₋₁₀ (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.084	-0.0567

Çizelge 4.17. incelendiğinde AUC₀₋₁₀ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerleri $\pm \%20$ sınırları içinde (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerleri küçük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.18. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-3

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Fark Değeri	0.0168	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	101.6908	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	σ_R	0.237	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1583	
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.0562	-0.0129
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0935	-0.065
In AUC _{0-tson} (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.0935	-0.065

Çizelge 4.18. incelendiğinde $AUC_{0-t_{son}}$ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerleri $\pm \%20$ sınırları içinde (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerleri küçük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.19. Bireysel biyoeşdeğerlik yöntemi sonuçları-4

Farmakinetik Değişkenler	İstatistik İfadeler	Değerler	Üst Güvenilirlik Limiti
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Fark Değeri	0.0407	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Oran(%Ref)	104.1568	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	σ_R	0.2306	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	σ_{WR}	0.1639	
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Referans Ölçekli Ölçüt	-0.059	-0.0073
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Sabit Ölçekli Ölçüt	-0.0918	-0.0561
$\ln AUC_{0-\infty}$ (hr.µg/mL)	Karışık Ölçekli Ölçüt	-0.0918	-0.0561

Çizelge 4.19. incelendiğinde $AUC_{0-\infty}$ parametresi için test ve referans ilacın fark değerlerinin küçük, oran değerleri $\pm \%20$ sınırları içinde (test ilacın referans ilaca yakın olduğu anlamına gelmektedir) ve varyans değerleri küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca $AUC_{0-\infty}$ parametresi karar parametresidir ve karar aşamasında karışık ölçekli bireysel biyoeşdeğerlik ölçütü kullanılmıştır. Bu üst limit değeri sıfırdan küçük olduğu için bireysel biyoeşdeğerlik $AUC_{0-\infty}$ parametresi için sağlanmış olur. Karar parametreleri C_{maks} ve $AUC_{0-\infty}$ 'un ikisinin de üst limitleri sıfırdan küçük olduğu için bireysel biyoeşdeğerlik sağlanmış olur.

4.6. Uygulama Sonuçları

Test ve referans ilaç ortalamaları arası fark ve test ve referans ilaç ortalamaları oranı küçüktür. Bireyler arası, bireyler içi ve toplam varyans değerleri de küçüktür. İki ilacın da dağılımı net tanımlanabilmekte, kitle ortalamaları farkı, birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi varyansı önemsiz ve uygulanan testlerin güç değerleri bire çok yakındır. Bu durum çok az rastlanan ancak en ideal

durumdur. Uygulamada kullanılan ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin üçü için de biyoeşdeğerlik sağlanmıştır.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada biyoeşdeğerlikte istatistiksel yöntemlerin incelenmesi ve bireyler arası, bireyler içi ve birey formül etkileşimi varyansları anlamlı olduğunda biyoeşdeğerlik çözümlemesinde kullanılacak yöntemlerin verilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın amacına uygun olarak, ikinci bölümde biyoeşdeğerliğe ilişkin temel kavramlar, biyoeşdeğerliğin genel yapısı, deney düzeni, deney, laboratuvar aşamaları, istatistiksel çözümleme ve bu çözümlemede kullanılan ölçütün genel yapısı ve kullanılan farmakinetik parametreler verilmiştir.

Üçüncü bölümde ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri, bu yöntemlerde kullanılabilecek deney düzenleri, hesaplama yöntemleri, biyoeşdeğerlik ölçütü, varyans sabiti, biyoeşdeğerlik limitlerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesi üzerinde durulmuştur. Ayrıca kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri birbirleriyle karşılaştırılmalarından elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Uygulama bölümünde ise sağlıklı bireylerden oluşan yirmi dört kişilik örneklem üzerinde ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemleri uygulanmıştır. Test ve referans ilaç ortalamaları arası fark ve test ve referans ilaç ortalamaları oranı küçüktür. Bireyler arası, bireyler içi ve toplam varyans değerleri de küçüktür. İki ilacın da dağılımı net tanımlanabilmekte, kitle ortalamaları farkı, birey içi varyans farkı ve birey formül etkileşimi varyansı önemsiz ve uygulanan testlerin güç değerleri bire çok yakındır. Uygulamada kullanılan ortalama, kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin üçü içinde biyoeşdeğerlik sağlanmıştır.

Bu uygulama için aslında ortalama biyoeşdeğerlik yönteminin yeterli olduğu görülmüştür. Birey içi, bireyler arası ve birey formül etkileşimi varyansı bireylere ve ilacın formülüne göre değişmektedir. Yapılacak çalışmalarda, önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışılacak maddeye ait önceki çalışmalardaki birey içi, bireyler arası ve birey formül etkileşimi varyans değerlerinin kabul edilebilir sınırlarda olması ve birey içi varyans değerlerinin farkının ve birey formül etkileşimi varyansının belirlenen önem düzeyinde anlamlı yada anlamsız olup olmamasına göre çalışılacak yöntem, örneklem genişliği ve deney tasarımı belirlenmelidir.

Dünyada geniş kabul gören ortalama biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılan iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeni, birey içi varyansın veya birey formül etkileşimi varyansının da anlamlı olduğu için kitle yada bireysel biyoeşdeğerlik yöntemlerinin kullanıldığı durumlarda kullanılmaması önerilmektedir. Kitle ve bireysel biyoeşdeğerlik yönteminin kullanılacağı durumlar için önerilen iki seri, dört tekrarlı (2x4) yada iki seri, üç tekrarlı (2x3) çaprazlama deney düzeni ise maliyetleri katlamaktadır. Yirmi dört kişilik iki seri, iki tekrarlı (2x2) çaprazlama deney düzeninin bile maliyetin çok yüksek olduğu düşünülürse kitle veya bireysel biyoeşdeğerlik yönteminin uygulanabilmesi için çok daha fazla maliyet gerekecektir. Ancak birey içi varyans ve birey formül etkileşimi varyansının da hesaba katılması daha güvenilir sonuçlara ulaşmamıza yardımcı olacaktır.

Sonuç olarak,

- birey formül etkileşimi varyansının ve birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamsız olması durumunda yapılacak yeni çalışmalar için ortalama biyoeşdeğerlik yönteminin kullanılabileceği,
- birey formül etkileşimi varyansının belirlenen önem düzeyinde anlamsız ancak birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamlı olması durumunda yapılacak yeni çalışmalar için kitle biyoeşdeğerlik yönteminin kullanılabileceği ve bu seçimin ilacın reçetelenebilirliği üzerine yoğunlaşacağı,
- birey formül etkileşimi varyansının ve birey içi varyans farkının belirlenen önem düzeyinde anlamlı olması durumunda ise yapılacak yeni çalışmalar için bireysel biyoeşdeğerlik yönteminin kullanılabileceği ve bu seçimin ilacın değişebilirliğinin üzerinde yoğunlaşacağı,
- örneklem genişliği, deney düzeni ve biyoeşdeğerlik yöntemi seçimlerinde araştırmanın mali çerçevesinin de önemli rol oynayacağının kaçınılmaz olduğu

yorumları yapılabilmektedir.

Bu çalışmayı ileriye götürecek olan çalışma önerileri,

- biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılabilecek deney düzenleri
- biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılabilecek diğer istatistiksel yöntemler
- biyoeşdeğerlik çalışmalarında kullanılacak örneklem genişliğinin belirlenmesi

biçiminde düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Anderson, S. and Hauck, W.W., 1983, A new procedure for testing equivalence in comparative bioavailability and other clinical trials, *Commun. Stat. Theory & Methods*, 12, 2663-2692.
- Anderson, S. and Hauck, W.W., 1990, Consideration of individual bioequivalence, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, Vol. 18, 259-273.
- Burdick, R.K. and Graybill, F.A., 1992, Confidence intervals on variance components, *Mercel Dekker, Newyork*.
- Chen, M.L., 1997, Individual bioequivalence-a regulatory update, *J. Biopharm. Stat.*, 7, 5-11.
- Chen, M.L., Patnaik, R., Hauck, W.W., Schuirmann, D.J., Hyslop, T. and Williams, R., 2000, An individual bioequivalence criterion: Regulatory considerations, *Statistics in Medicine*, 19, 2821-2842.
- Chinchilli, V.M. and Esinhart, J.D., 1996, Design and analysis of intra-subject variability in cross-over experiments, *Stat. Med.*, 15, 1619-1634.
- Chow, S.C. and Shao, J., 1988, A new procedure for estimation of variance components, *Statistics and Probability Letters*, 6, 349-355.
- Chow, S.C. and Shao, J., 1989, Tests for batch variation in stability analysis, *Stat. Med.*, 8, 883-890.
- Chow, S.C. and Shao, J., 1990, An alternative approach for the assessment of bioequivalence between two formulations of a drug, *Biometr. J.*, 32, 969-976.
- Chow, S.C. and Tse, S.K., 1990a, A related problem in bioavailability/bioequivalence studies-estimation of intrasubject variability with a common CV, *Biometr. J.*, 32, 597-607.
- Chow, S.C. and Tse, S.K., 1990b, Outlier detection in bioavailability/bioequivalence studies, *Stat. Med.*, 9, 549-558.
- Chow, S.C. and Shao, J., 1991, A note on decision rules in bioequivalence studies, *Unpublished manuscript*.
- Chow, S.C. and Liu, J.P., 1992, On assessment of bioequivalence under a higher-order crossover design, *J. Biopharm. Stat.*, 2, 239-256.
- Chow, S.C. and Liu, J.P., 1995a, Current issues in bioequivalence trials, *Drug Inform. J.*, 29, 795-804.
- Chow, S.C. and Liu, J.P., 1995b, *Statistical Design and Analysis in Pharmaceutical Science*, Marcel Dekker, New York.

- Chow, S.C. and Liu, J.P., 1998, Design and Analysis of Clinical Trials, Wiley-Interscience, New York.
- Chow, S.C. and Liu, J.P., 2000, Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies, Marcel Dekker, New York.
- Chow, S.C., Shao, J. and Wang, H., 2002, Individual bioequivalence testing under 2x3 designs, Statistics in Medicine, 21, 629-648.
- Ekbohm, G. and Melander, H., 1989, The subject-by-formulation interaction as a criterion for interchangeability of drugs, Biometrics, 45, 1249-1254.
- Endrenyi, L. and Midha, K.K., 1998, Individual bioequivalence-has its time come? Eur. J. Pharm. Sci., 6, 271-277.
- Gibaldi, M. and Perrier, D., 1982, Pharmacokinetics, Marcel Dekker, New York.
- Hauck, W.W. and Anderson, S., 1992, Types of bioequivalence and related statistical considerations, Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol., 30, 181-187.
- Health Canada, 1992, Guidance For Industry Conduct And Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies – Part A: Oral Dosege Formulations Used for Systemic Effects, Minister of Health, Ontario, Canada.
- Howe, W.G., 1974, Approximate confidence limits on the mean of $X + Y$ where X and Y are two tabled independent random variables, Journal of the American Statistical Association, 69, 789-794.
- Hsu, J.C., Hwang, J.T.G., Liu, H.K. and Ruberg, S.J., 1994, Confidence interval associated with test for bioequivalence, Biometrika, 81, 103-114.
- Hyslop, T., Hsuan, F. and Holder, D.J., 2000, A small samle confidence interval approach to assess individual bioequivalence, Statistics in Medicine, 19, 2885-2897.
- Hyslop, T. and Iglewicz, B., 2001, Alternative cross-over designs for individual bioequivalence, Proceedings of the Biopharmaceutical Section, American Statistical Association.
- Liu, J.P. and Weng, C.S., 1991, Detection of outlying data in bioavailability/bioequivalence studies, Stat. Med., 10, 1375-1389.
- Mandallaz, D. and Mau, J., 1981, Comparison of different method for decision-making in bioequivalence assessment, Biometrics, 37, 213-222.
- Martinez, M.N. and Jackson, A.J., 1991, Suitability of various noninfinity area under the plasma concentration-time curve (AUC) estimates for use in bioequivalence determination: relationship to AUC from zero to time infinity (AUC_{0-inf}), Pharm. Res., 18, 512-517.

- McNally, R.J., 2002a, Tests for individual and population bioequivalence using 3-period crossover designs, Colorado State University, Dept. of Statistics Technical Report 2002/07.
- McNally, R.J., 2002b, A test for population bioequivalence for pharmacokinetic data from 2x2 crossover designs, Colorado State University, Dept. of Statistics Technical Report 2002/08.
- McNally, R.J., Iyer H. and Mathew, T., 2003, Test for individual and population bioequivalence based on generalized p-values, *Statistics in Medicine*, 22, 31-53.
- Metzler, C.M., 1974, Bioavailability: a problem in equivalence, *Biometrics*, 30, 309-317.
- Metzler, C.M. and Huang, D.C., 1983, Statistical methods for bioavailability and bioequivalence, *Clin. Res. Pract. Drug Reg. Affairs*, 1, 109-132.
- Nakai, K., Fujita, M. and Tomita, M., 2002, Comparison of average and population bioequivalence approach, *Int. J Clin. Pharmacol. Ther.*, 40(9), 431-438.
- Patnaik, R.N., Lesko, L.J., Chen, M.L., Williams, R.L. and the FDA Individual Bioequivalence Working Group, 1997, Individual bioequivalence-new concepts in the statistical assessment of bioequivalence metrics, *Clin. Pharmacokinet.*, 33, 1-6.
- Quiroz, J., Ting, N., Wei, G.C.G. and Burdick, R.K., 2002, Alternative Confidence Intervals for the Assessment of Bioequivalence in Four-Period Crossover Designs, *Statistics in Medicine*, 21, 1825-1847.
- Rodda, B.E. and Davis, R.L., 1980, Determining the probability of an important difference in bioavailability, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 28, 247-252.
- Rowland, M. and Tozer, T.N., 1980, *Clinical Pharmacokinetics Concepts and Applications*, Lea & Febiger, Philadelphia, PA.
- Schall, R., 1995, Assessment of individual and population bioequivalence using the probability that bioavailabilities are similar, *Biometrics*, 51, 615-626.
- Schall, R. and Luus, H.G., 1993, On population and individual bioequivalence, *Stat. Med.*, 12, 1109-1124.
- Schall, R. and Williams, R.L., 1996, Towards a practical strategy for assessing individual bioequivalence 3, *Pharmacokinetics Biopharm.*, 24, 133-149.
- Schuurmann, D.J., 1981, On hypothesis testing to determine if the mean of a normal distribution is contained in a known interval, *Biometrics*, 37, 617.
- Sheiner, L.B., 1992, Bioequivalence revisited, *Statistics in Medicine*, 11, 1777-1788.

- T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü, 1994, Farmasötik Müstahzarların Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerliğinin Değerlendirilmesi Hakkında Yönetmelik, Ankara.
- Tsui, K.W. and Weerahandi, S., 1989, Generalized p-values in significance testing of hypotheses in the presence of nuisance parameters, Journal of the American Statistical Association, 84, 602-607.
- US FDA, 1997, Draft Guidance on In-Vivo Bioequivalence Studies Based on Population and Individual Bioequivalence Approaches, Division of Bioequivalence, Office of Generic Drugs, Center for Drug Evaluation and Research, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland.
- US FDA, 1999a, A Practical Alternative Method for Assessing Individual and Population Bioequivalence, Center for Drug Evaluation and Research, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland.
- US FDA, 1999b, Guidance for Industry on Average, Population and Individual Approaches to Establishing Bioequivalence, Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland.
- US FDA, 2000, Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, Maryland.
- US FDA, 2001, Guidance for Industry on Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence, Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland.
- US FDA, 2003, Guidance for Industry on Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Consideration, Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, Maryland.
- Westlake, W.J., 1972, Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials, J. Pharm. Sci., 61, 1340-1341.
- Westlake, W.J., 1976, Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials, Biometrics, 32, 741-744.
- Westlake, W.J., 1979, Statistical aspects of comparative bioavailability trials, Biometrics, 35, 273-280.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İlknur GÜNDÜZ

Doğum Yeri : Edirne

Doğum Yılı : 1980

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1994-1998 100. Yıl Anadolu Mes. Lisesi /Bilgisayar Böl.

Lisans : 1998-2002 Hacettepe Üniversitesi İstatistik Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi:

2003-2005 Novagenix İlaç AR-GE Merkezi Biyoistatistik Uzm. Yrd.

2005-... T.C. Başbakanlık Bilgisayar İşletmeni