

BIOEQUIVALÊNCIA: USO DE MÉTODOS BAYESIANOS

Roberto Molina de SOUZA¹
Josmar MAZUCHELI²
Edson Zangiacomi MARTINEZ¹
Jorge Alberto ACHCAR¹

- RESUMO: Ensaios de bioequivalência são utilizados, em sua maioria, para garantir a segurança na intercambialidade entre medicamentos, possibilitando a veiculação de medicamentos genéricos no mercado, sendo assim de extrema importância para a indústria farmacêutica. Dentre as etapas de um ensaio de bioequivalência, têm-se a etapa estatística que, por sua vez, é a etapa conclusiva do estudo. Este artigo, apresenta uma breve revisão sobre estudos de bioequivalência, os métodos de bioequivalência média e individual e a análise estatística sob o enfoque de bioequivalência média conforme as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e, como uma alternativa, o enfoque Bayesiano da análise. Os dados hipotéticos apresentados no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade disponibilizados pela ANVISA foram utilizados para a aplicação dos enfoques clássico e Bayesiano para a avaliação de bioequivalência média.
- PALAVRAS-CHAVE: Bioequivalência média; análise Bayesiana; bioequivalência individual; biodisponibilidade.

1 Introdução

A proposta de ensaios de bioequivalência é mostrar que duas formulações tem biodisponibilidade similar (ver Hyslop et al., 2000; Barret et al., 2000). Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC), número 10, (ANVISA, 2001), a “biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio

¹Departamento de Medicina Social, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: rmolina.souza@gmail.com / edson@fmrp.usp.br / achcar@fmrp.usp.br

²Departamento de Estatística, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR, Brasil. E-mail: jmazucheli@uem.br

ativo em uma forma de dosagem a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina”. Em outras palavras, um ensaio de bioequivalência busca comparar uma nova formulação sob investigação com uma formulação de referência. Tal processo é de fundamental importância para a indústria farmacêutica, visto que agências como a *U.S. Food and Drug Administration (FDA)*, dos Estados Unidos da América, somente permite que a formulação estudada seja comercializada quando é demonstrado que esta é bioequivalente à formulação de referência.

De acordo com as normas da FDA, o uso adequado de ferramentas estatísticas voltadas à análise dos ensaios de bioequivalência é essencial para a garantia da segurança e eficácia da formulação (ver FDA, 1999). Barret et al. (2000), apresentam uma síntese dos principais fatos históricos relacionados à bioequivalência.

O advento dos estudos de bioequivalência no Brasil, ocorreu a partir da aprovação da Lei Federal 9787-99 que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico e dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos. O medicamento genérico, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é aquele que contém o mesmo princípio ativo ou substância existente na formulação do medicamento, responsável pelo seu efeito terapêutico, na mesma dose, administrado pela mesma via e com a mesma indicação terapêutica do medicamento de referência no país, apresentando a mesma segurança deste.

Dentre suas diversas atribuições, a ANVISA é responsável pela inspeção dos ensaios de bioequivalência realizados no Brasil. A bioequivalência, na maioria dos casos, evidencia que o medicamento genérico é o equivalente terapêutico do medicamento de referência, ou seja, assegura que o genérico apresenta a mesma eficácia clínica e a mesma segurança em relação ao medicamento de referência, possibilitando a intercambialidade entre os mesmos.

Segundo a ANVISA, os medicamentos bioequivalentes são os equivalentes farmacêuticos que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam evidências de diferenças significativas em relação à biodisponibilidade.

Na realização de um ensaio de bioequivalência, três etapas são essenciais. A primeira é a clínica, a segunda é a analítica e a terceira é a estatística, onde é conduzida a análise das medidas farmacocinéticas, comparando as biodisponibilidades do medicamento em estudo com as do medicamento em teste. Detalhes destas etapas podem ser encontradas no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b).

Os estudos de bioequivalência são conduzidos com administrações de dosagens do fármaco aos voluntários, medindo então a concentração da droga no sangue em um instante imediatamente anterior à administração e em vários instantes de tempo pré-determinados após a administração. Neste processo, utilizam-se três medidas, geralmente chamados parâmetros farmacocinéticos, para a determinação da biodisponibilidade e então estabelecer a bioequivalência do medicamento. Segundo a Resolução 478 (ANVISA, 2002a) são elas:

- Concentração máxima (C_{max}): indica a maior concentração sanguínea do fármaco obtida após administração. Esta medida está diretamente relacionada com a fração absorvida do fármaco.
- Tempo em que ocorre a concentração máxima (T_{max}): medida associada a velocidade de absorção.
- Área sob a curva de concentração sanguínea (ASC): é uma medida importante na determinação da biodisponibilidade. Representa a fração que entra na circulação e é independente da velocidade de absorção. A ASC pode ser estimada pela conhecida “regra dos trapézios” (ver Chow e Liu, 2000).

A comparação destes três parâmetros entre grupos de indivíduos que receberam o fármaco em estudo e o fármaco de referência é realizada em estudos de bioequivalência, sendo assumido que os fármacos são terapeuticamente equivalentes quando não mostrarem diferenças superiores a determinados valores de referência em relação à velocidade e à quantidade de absorção.

O objetivo deste artigo é apresentar como é realizada a análise estatística dos estudos de bioequivalência média no Brasil conforme as exigências da ANVISA; apresentar a análise sob o enfoque Bayesiano como uma alternativa aos métodos clássicos apresentados; apresentar o método de bioequivalência individual como uma alternativa ao método de bioequivalência média e apresentar uma análise de bioequivalência média para um conjunto de dados hipotéticos introduzido no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b) usando abordagem clássica e Bayesiana.

2 Bioequivalência média

De acordo com o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b), dois fármacos são bioequivalentes se um intervalo com 90% de confiança para diferença entre as médias (ver Schuirmann, 1981) (na escala original ou logarítmica) das medidas farmacocinéticas área sob a curva de concentração (ASC) e concentração máxima (C_{max}) estiverem contidos nos limites de bioequivalência. Tais limites são construídos a partir de um critério de mais ou menos 20% da média estimada do medicamento referência (ver Apêndice A). É importante salientar que antes da construção do intervalo de confiança, é necessário verificar a não existência de efeitos residuais do modelo, ao nível de 0,10 de significância, segundo o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b) que recomenda que os estudos de bioequivalência sejam realizados a partir de um planejamento do tipo *crossover*.

O efeito residual (*carry-over effect*) ocorre quando a resposta ao fármaco administrado em um particular momento do estudo é afetada pelas administrações realizadas nos períodos anteriores. Os efeitos residuais, quando presentes, trazem grande impacto nas inferências estatísticas, sendo importante estratégias que discriminem os efeitos residuais dos efeitos do fármaco. A importância de inserir ou

não um parâmetro associado ao efeito residual na modelagem estatística é discutida por Dangelo et al. (2001). Ensaios *crossover* são aqueles em que cada um dos indivíduos amostrados é submetido a todos os tratamentos, em períodos diferentes (ver Senn, 2002).

Além da não existência de efeitos residuais, deve-se verificar a não existência do efeitos de fármaco e de período, ao nível de 0,05 de significância, a partir do modelo,

$$y_{ijk} = \mu + S_{ik} + P_j + F_{(j,k)} + R_{(j-1,k)} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

onde:

- y_{ijk} é a medida farmacocinética na escala original ou logarítmica do i -ésimo indivíduo ($i = 1, 2, \dots, n_k$), no j -ésimo período ($j = 1, 2, \dots, p$) e na k -ésima seqüência ($k = 1, 2, \dots, s$);
- μ é a média geral;
- S_{ik} é o efeito aleatório do i -ésimo indivíduo na k -ésima seqüência;
- P_j é o efeito fixo do j -ésimo período, tal que $\sum_{j=1}^p P_j = 0$;
- $F_{(j,k)}$ é o efeito fixo da formulação administrada na k -ésima seqüência e j -ésimo período tal que $\sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s F_{(j,k)} = 0$;
- $R_{(j-1,k)}$ é o efeito residual fixo de primeira ordem da formulação administrada na k -ésima seqüência e $(j-1)$ -ésimo período, tal que $R_{(0,k)} = 0$ e $\sum_{j=2}^p \sum_{k=1}^s R_{(j-1,k)} = 0$;
- ε_{ijk} é o erro aleatório com distribuição normal.

Assume-se que S_{ik} e ε_{ijk} são mutuamente independentes e identicamente distribuídos (i.i.d.) com distribuições normais, com médias 0 e variâncias τ^2 e σ^2 respectivamente, isto é $S_{ik} \sim N(0, \tau^2)$ e $\varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$. As estimativas de τ^2 são usadas para explicar a variabilidade dos indivíduos, enquanto que as estimativas de σ^2 são usadas para explicar a variabilidade do modelo ajustado.

Planejamentos do tipo *crossover* requerem um intervalo entre um período e outro denominado “washout”. O “washout”, ou período de eliminação, é um intervalo de tempo considerado suficientemente grande entre os períodos de administração para que o efeito residual de uma formulação administrada em um período seja eliminada até o próximo.

Assumindo que este período seja satisfatório, ou seja, assumindo a não existência de efeito residual, em um planejamento do tipo *crossover* 2×2 , um modelo mais simples é proposto por Racine-Poon et al. (1987) e dado por,

$$y_{ijl} = \mu + s_i + (-1)^{j-1} \left(\frac{1}{2} \phi \right) + (-1)^{l-1} \left(\frac{1}{2} \pi \right) + \varepsilon_{ij} \quad (2)$$

onde:

- y_{ijl} é a medida farmacocinética na escala logarítmica para o i -ésimo indivíduo ($i = 1, 2, \dots, n$) recebendo a j -ésima formulação ($j = 1, 2$) no l -ésimo período ($l = 1, 2$);
- μ é a média geral;
- s_i é o efeito fixo associado ao i -ésimo sujeito ($s_1 + s_2 + \dots + s_n = 0$);
- ϕ é um parâmetro que mede o efeito de formulação;
- π é um parâmetro que mede o efeito de período;
- ε_{ij} é um erro aleatório associado ao modelo com distribuição normal $N(0, \sigma^2)$.

Na prática, usualmente considera-se a medida farmacocinética na escala logarítmica nos estudos de bioequivalência, onde o pesquisador tem interesse em um intervalo de confiança para a razão de médias $\psi = \left(\frac{\mu_T}{\mu_R}\right)$, isto é, $\log(\psi) = \log(\mu_T) - \log(\mu_R)$, onde μ_T é a média da medida farmacocinética do medicamento em estudo e μ_R é a média do medicamento referência.

2.1 Abordagem clássica

Segundo o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b) e supondo normalidade das medidas farmacocinéticas em um experimento *crossover* 2×2 (duas seqüências e dois períodos), um intervalo de confiança da diferença das médias ($\mu_T - \mu_R$) com nível de significância $100(1 - 2\alpha)\%$, é dado por

$$(\bar{y}_T - \bar{y}_R) \pm t_{(\alpha, n)} \psi$$

s z to esridano o (de

Racine-Poon et al. (1986) considera como uma motivação para a aplicação de métodos Bayesianos em estudos farmacológicos, o fato da necessidade cada vez maior de experimentações eficientes e com menores tamanhos amostrais, levando à redução de custos e melhores éticas de experimentação. Recentemente, Ghosh e Gonen (2007), apresentaram um modelo mais sofisticado, em que os mesmos apresentam uma estrutura de correlação positiva entre os parâmetros farmacocinéticos ASC e C_{\max} (os dois são analisados simultaneamente), além de apresentarem também uma estrutura de correlação para o efeito de tratamento, sendo fundamental a utilização da inferência Bayesiana para imposição das estruturas de correlação necessárias.

Assume-se o modelo para bioequivalência (equivalente ao modelo 1) dado por,

$$y_{ijk} = \mu + S_{ik} + PX_{1_{ij}} + FX_{2_{(j,k)}} + RX_{3_{(j-1,k)}} + \varepsilon_{ijk} \quad (4)$$

onde $j = 1, \dots, p$; $k = 1, \dots, s$; $i = 1, \dots, n_k$ e,

- $X_{1_{ij}}$ é uma variável “dummy” contendo a informação do j -ésimo período no qual foi obtida a medida farmacocinética do i -ésimo indivíduo;
- $X_{2_{(j,k)}}$ é uma variável “dummy” contendo a informação do fármaco recebido no j -ésimo período pelo i -ésimo indivíduo pertencente a k -ésima seqüência;
- $X_{3_{(j-1,k)}}$ é uma variável “dummy” da k -ésima seqüência no qual o i -ésimo indivíduo foi alocado;
- S_{ik} é um efeito aleatório suposto com uma distribuição normal $N(0, \tau^2)$;
- ε_{ijk} é um termo aleatório suposto com uma distribuição normal $N(0, \sigma^2)$.

Além disso, assume-se independência entre S_{ik} e ε_{ijk} .

A função de verossimilhança para μ, P, F, R e σ^2 é dado por,

$$L(\mu, P, F, R, \sigma^2) = \prod_{j=1}^p \prod_{k=1}^s \prod_{i=1}^{n_k} \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp \left[-\frac{1}{2\sigma^2} (y_{ijk} - \mu_{ijk})^2 \right]$$

onde μ_{ijk} é dado por,

$$\mu_{ijk} = \mu + S_{ik} + PX_{1_{ij}} + FX_{2_{(j,k)}} + RX_{3_{(j-1,k)}} \quad (5)$$

onde $j = 1, \dots, p$; $k = 1, \dots, s$; $i = 1, \dots, n_k$.

Para uma análise Bayesiana hierárquica do modelo, assume-se as seguintes distribuições a priori em um primeiro estágio:

$$\begin{aligned} \mu &\sim N(a_\mu; b_\mu^2); \quad a_\mu \text{ e } b_\mu \text{ conhecidos}; \\ P &\sim N(a_P; b_P^2); \quad a_P \text{ e } b_P \text{ conhecidos}; \\ F &\sim N(a_F; b_F^2); \quad a_F \text{ e } b_F \text{ conhecidos}; \\ R &\sim N(a_R; b_R^2); \quad a_R \text{ e } b_R \text{ conhecidos}; \\ \sigma^2 &\sim IG(e; f); \quad e \text{ e } f \text{ conhecidos}; \end{aligned} \quad (6)$$

onde $N(a_\mu; b_\mu^2)$ denota uma distribuição normal com média a e variância b^2 e $IG(e; f)$ denota uma distribuição gama invertida com média $\frac{f}{(e-1)}$ e variância $\frac{f^2}{[(e-1)^2(e-2)]}$.

Para o segundo estágio da análise Bayesiana considerando o efeito aleatório S_{ik} com uma distribuição normal $N(0, \tau^2)$, assumir uma distribuição a priori gama invertida para τ^2 dada por,

$$\tau^2 \sim IG(c, \frac{1}{2r})$$

3 T/R296 6.971 9.96279 Tf 3.7.32205T5.5415j /R284 9.968.0 Td (d)Tj x^

e

$$\theta_{(l)} = (\theta_1, \dots, \theta_{l-1}, \theta_{l+1}, \dots, \theta_p)$$

denota o vetor de todos os parâmetros, exceto θ_l ;

2.

$$P \mid \theta_{(P)}, \mathbf{y} \sim N \left(\frac{a_P \sigma^2 + b_P^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{1_{ij}} \alpha_{ijk}^{(2)}}{\sigma^2 + B_P}; \frac{\sigma^2 b_P^2}{\sigma^2 + B_P} \right)$$

onde

$$\alpha_{ijk}^{(2)} = y_{ijk} - (S_{ik} + F X_{2_{(j,k)}} + R X_{3_{(j-1,k)}})$$

$$B_P = b_P^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{1_{ij}}^2$$

3.

$$F \mid \theta_{(F)}, \mathbf{y} \sim N \left(\frac{a_F \sigma^2 + b_F^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{2_{(j,k)}} \alpha_{ijk}^{(3)}}{\sigma^2 + B_F}; \frac{\sigma^2 b_F^2}{\sigma^2 + B_F} \right)$$

onde

$$\alpha_{ijk}^{(3)} = y_{ijk} - (S_{ik} + P X_{1_{ij}} + R X_{3_{(j-1,k)}})$$

$$B_F = b_F^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{2_{(j,k)}}^2$$

4.

$$R \mid \theta_{(R)}, \mathbf{y} \sim N \left(\frac{a_R \sigma^2 + b_R^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{3_{(j-1,k)}} \alpha_{ijk}^{(4)}}{\sigma^2 + B_R}; \frac{\sigma^2 b_R^2}{\sigma^2 + B_R} \right)$$

onde

$$\alpha_{ijk}^{(4)} = y_{ijk} - (S_{ik} + P X_{1_{ij}} + F X_{2_{(j,k)}})$$

$$B_R = b_R^2 \sum_{j=1}^p \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^{n_k} X_{3_{(j-1,k)}}^2$$

5.

$$S_{ik} \mid \theta_{(S_{ik})}, \mathbf{y} \sim N \left(\frac{\tau^2 \sum_{j=1}^p \alpha_{ijk}^{(5)}}{\sigma^2 + p\tau^2}; \frac{\sigma^2 \tau^2}{\sigma^2 + p\tau^2} \right)$$

onde $i = 1, \dots, n_k$; $k = 1, \dots, s$ e

$$\alpha_{ijk}^{(5)} = y_{ijk} - (P X_{1_{ij}} + F X_{2_{(j,k)}} + R X_{3_{(j-1,k)}})$$

6.

$$\tau^2 \mid \theta_{(\tau^2)}, \mathbf{y} \sim IG \left(\frac{sn_s}{2} + c; d + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^s \sum_{\mathbf{1}} \right)$$

é dado por Shao et al. (2000)

$$\theta = \frac{E(y_R - y_T)^2 - E(y_R - y_R^*)^2}{E(y_R - y_R^*)^2 / 2}, \text{ se } E(y_R - y_R^*)^2 / 2 \geq \sigma_0^2; \text{ ou} \quad (10)$$

$$\theta = \frac{E(y_R - y_T)^2 - E(y_R - y_R^*)^2}{\sigma_0^2}, \text{ se } E(y_R - y_R^*)^2 / 2 < \sigma_0^2$$

em que σ_0^2 é uma constante e y_R^* é a média do parâmetro farmacocinético para o mesmo indivíduo e, sendo assim, $E(y_R - y_R^*)^2 / 2$ é a variância individual para a medida farmacocinética do fármaco referência.

Note que, em (10), o parâmetro y_R^* só pode ser estimado se o desenho experimental tiver no mínimo 3 períodos, visto que um mesmo indivíduo terá que receber, no mínimo, 2 vezes a mesma formulação. Logo, para a utilização de métodos de bioequivalência individual, estudos mais longos são necessários, quando comparado ao método de bioequivalência média, o que pode ser uma desvantagem.

Em termos de custo, comparando o método de bioequivalência individual com o método de bioequivalência média, vale a avaliação em termos do aumento do número de indivíduos comparados ao acréscimo de mais um período no estudo.

Para um experimento do tipo *crossover* 2×4 (duas formulações e quatro períodos), assumir o seguinte modelo introduzido por Shao et al. (2000),

$$y_{ijk} = \mu + F_l + P_j + Q_k + W_{ljk} + S_{ikl} + e_{ijk} \quad (11)$$

onde,

- y_{ijk} é a resposta observada na escola original ou logarítmica para o i -ésimo sujeito ($i = 1, 2, \dots, n_k$), j -ésimo período ($i = 1, 2, 3, 4$) e k -ésima seqüência ($i = 1, 2$);
- μ é a média geral;
- P_j é o efeito fixo do j -ésimo período ($P_1 + P_2 + P_3 + P_4 = 0$);
- Q_k é o efeito fixo da k -ésima seqüência ($Q_1 + Q_2 = 0$);
- F_l é o efeito fixo da l -ésima formulação ($F_T + F_R = 0$);
- W_{ljk} é o efeito fixo de interação ($\sum_{l=1}^2 \sum_{j=1}^4 \sum_{k=1}^2 W_{ljk} = 0$);
- S_{ikl} é o efeito aleatório do o i -ésimo sujeito na k -ésima seqüência, recebendo a l -ésima formulação e (S_{ikT}, S_{ikR}) são vetores aleatórios i.i.d. com média 0 e matriz de covariância desconhecida

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

- e_{ijk} é o erro aleatório com média 0 e variância σ_{Wl}^2 . (S_{ikT}, S_{ikR}) e e_{ijk} são independentes.

Sob o modelo (11), θ dado em (10), pode ser escrito como

$$\theta = \frac{(F_R - F_T)^2 + \sigma_{BT}^2 + \sigma_{BR}^2 - 2\rho\sigma_{BT}\sigma_{BR} + \sigma_{WT}^2 - \sigma_{WR}^2}{\max\{\sigma_0^2, \sigma_{WR}^2\}}$$

Definindo θ_U como o limite superior de bioequivalência individual, duas formulações são bioequivalentes se um intervalo de $100(1 - \alpha)\%$ de confiança unilateral para θ , for menor do que θ_U .

O FDA sugeria que o intervalo de confiança unilateral para θ fosse construído usando o método *bootstrap*, com 95% de confiança, sendo os estimadores dos parâmetros necessários para a estimativa de θ , obtidos através do método de máxima verossimilhança restrita ou método dos momentos. Shao et al. (2000), estudou de forma ampla a aplicação de métodos *bootstrap* na avaliação de bioequivalência individual. Hoje, o FDA sugere a obtenção do intervalo de confiança para θ através dos métodos de linearização (ver FDA, 2001).

Contudo, devido à falta de critérios comuns que estabeleçam bioequivalência individual entre dois fármacos, usualmente opta-se pela bioequivalência média que tem seus critérios de decisão claramente estabelecidos.

4 Um exemplo de aplicação

Como forma de ilustrar os métodos de bioequivalência média apresentados neste artigo, serão consideradas as medidas farmacocinéticas ASC e C_{max} , apresentadas no conjunto de dados hipotéticos introduzidos no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b). As medidas farmacocinéticas, por indivíduo, são apresentadas na Tabela 4, Apêndice B, e a análise exploratória destas é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Análise exploratória das medidas farmacocinéticas apresentadas no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b)

Medida	Escala	Fármaco	Média	D. P.	C. V.
ASC	Original	R	430,27	163,44	0,38
		T	457,01	162,78	0,36
	Log	R	5,99	0,40	0,07
		T	6,06	0,36	0,06
C_{max}	Original	R	229,72	87,09	0,38
		T	247,72	96,42	0,39
	Log	R	5,38	0,34	0,06
		T	5,45	0,37	0,07

Como a avaliação de bioequivalência média pode ser conduzida na escala logarítmica dos dados, (ver Apêndice A), a mesma será utilizada para a obtenção dos parâmetros ou médias a posteriori do exemplo de aplicação.

4.1 Abordagem clássica

A estimação dos parâmetros apresentados no modelo 1 e depois obtidos novamente na ausência de efeitos residuais (modelo restrito), foram obtidos através do módulo *PROC MIXED* do *Software SAS* (listagens 1 e 2 do Apêndice C), e são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Estimativas clássicas dos parâmetros para o modelo completo apresentado em (1) e para o modelo restrito (ausência de efeito residual)

Parâmetro	Modelo	Efeito	Estimativa	Erro Padrão	Intervalo de Confiança (*90%; ** 95%)
<i>ASC</i>	Completo	<i>R</i>	0,1848	0,1464	(-0,0666; 0,4363)*
		<i>P</i>	-0,0681	0,045	(-0,1613; 0,0251)**
		<i>F</i>	0,0726	0,045	(-0,0206; 0,1658)**
	Restrito	<i>P</i>	-0,0681	0,045	(-0,1613; 0,0251)**
		<i>F</i>	0,0726	0,045	(-0,0046; 0,1498)*
		<i>R</i>	0,0415	0,1368	(-0,1933; 0,2764)*
<i>C_{max}</i>	Completo	<i>P</i>	-0,0692	0,053	(-0,1791; 0,0408)**
		<i>F</i>	0,0691	0,053	(-0,0408; 0,1791)**
		<i>R</i>	0,0415	0,1368	(-0,1933; 0,2764)*
	Restrito	<i>P</i>	-0,0692	0,053	(-0,1791; 0,0408)**
		<i>F</i>	0,0691	0,053	(-0,0219; 0,1602)*
		<i>R</i>	0,0415	0,1368	(-0,1933; 0,2764)*

A partir dos resultados da Tabela 2, observa-se que zero está incluído em todos os intervalos de confiança, o que significa que existem evidências, ao nível de 0,05 de significância, que os parâmetros não são diferentes de zero.

4.2 Abordagem Bayesiana

Para uma análise Bayesiana, assumindo-se as distribuições a priori apresentadas em (6) com $a_{\mu} = a_P = a_F = a_R = 0$; $b_{\mu}^2 = b_P^2 = b_F^2 = b_R^2 = 1000$ e $c = d = e = f = 0,01$, têm-se distribuições a priori aproximadamente não-informativas. Foram geradas 201000 amostras de Gibbs considerando um salto de tamanho 20, ou seja, a cada 20 amostras tomou-se uma a fim de obter amostras aproximadamente não correlacionadas além de serem descartadas as primeiras 1000 amostras para eliminar o efeito dos valores iniciais.

As médias a posteriori para os parâmetros apresentados no modelo 1 e depois estimados novamente na ausência de efeitos residuais, foram obtidas através do *Software Winbugs*, listagens 3 e 4 do Apêndice D, e são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Médias a posteriori dos parâmetros para o modelo completo apresentado em (1) e para o modelo restrito (ausência de efeito residual)

Parâmetro	Modelo	Efeito	Média	Desvio Padrão	Intervalo de Credibilidade (*90%;** 95%)
ASC	Completo	R	0,1848	0,1586	$(-0,0761; 0,4468)^*$
		P	$-0,06804$	0,05536	$(-0,1762; 0,04017)^{**}$
		F	0,07204	0,05529	$(-0,03736; 0,1809)^{**}$
	Restrito	P	$-0,06847$	0,05496	$(-0,1776; 0,04051)^{**}$
		F	0,07259	0,05527	$(-0,01793; 0,1625)^*$
		R	0,0416	0,1495	$(-0,2035; 0,2888)^*$
C_{max}	Completo	P	$-0,06907$	0,06261	$(-0,1915; 0,05397)^{**}$
		F	0,06852	0,06259	$(-0,05445; 0,1908)^{**}$
		P	$-0,06959$	0,06196	$(-0,193; 0,05295)^{**}$
	Restrito	F	0,06911	0,06246	$(-0,03416; 0,171)^*$

A partir dos resultados da Tabela 3, tem-se resultados Bayesianos similares aos obtidos via inferência clássica. É importante notar que distribuições a priori não informativas para os parâmetros do modelo estão sendo utilizadas.

4.3 Considerações sobre o exemplo

Dos resultados obtidos através das abordagens clássica e bayesiana, Tabelas 2 e 3, nota-se evidências da não existência de efeitos residuais para as duas medidas farmacocinéticas em estudo, (ASC e C_{max}) ou seja, os intervalos de confiança ao nível de 90% do efeito R , contém o valor 0.

Tomando o modelo restrito, os intervalos de confiança ao nível de 90% do efeito F , estão contidos no intervalo de bioequivalência $(-0,233; 0,233)$, o que evidencia a bioequivalência dos fármacos R e T .

Vale ressaltar que os pressupostos necessários para a validação dos modelos clássicos e os critérios de convergência para a validação dos resultados sob o enfoque bayesiano, foram integralmente atendidos. Para a verificação da convergência dos algoritmos de simulação Gibbs *Sampling*, foi utilizada técnicas gráficas e índices usuais (ver, por exemplo, Gelman e Rubin, 1992)

Conclusão

A avaliação de bioequivalência pode ser determinada de forma individual ou média (ver Hauck e Anderson, 1992). O método mais utilizado é o da avaliação de bioequivalência média, método apresentado em detalhes no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b).

A avaliação estatística de bioequivalência média é tradicionalmente abordada por métodos clássicos de inferência. Entretanto, métodos Bayesianos têm sido atualmente propostos. Por exemplo, Ghosh e Khattree (2003) apresentaram um modelo baseado em uma aplicação do fator de Bayes voltado ao estudo da

bioequivalência média. Em um outro artigo, Ghosh e Rosner (2006) relaxaram o pressuposto usual de normalidade para os erros aleatórios em um modelo semi-paramétrico de efeitos mistos para bioequivalência, baseado em uma mistura de distribuições normais.

O método Bayesiano, em ensaios de Bioequivalência (ver Selwyn et al., 1981; Flehler et al., 1983; Selwyn e Hall, 1984), é facilmente implementado em programas como o Winbugs, e pode tornar-se uma plausível alternativa aos métodos clássicos, por não depender de resultados assintóticos, e ao bootstrap, ainda utilizado em análises de bioequivalência individual.

Agradecimentos

À FAEPA – Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da FMRP/USP, pelo auxílio financeiro.

SOUZA, R. M.; MAZUCHELI, J.; MARTINEZ, E. Z.; ACHCAR, J. A. Bioequivalence: Bayesian methods. *Rev. Mat. Estat.*, São Paulo, v.25, n.4, p.115-134, 2007.

- **ABSTRACT:** *Bioequivalence trials are used to guarantee the security in the interchangeability between drugs, making possible the generic drug propagation in the market, being thus of extreme importance for the pharmaceutical industry. Amongst the stages of a bioequivalence trial, the stage statistics is the conclusive one of the study. This article, presents one brief revision on studies of bioequivalence, the methods of average and individual bioequivalence and the analysis statistics under the approach of average bioequivalence in according to ANVISA and, as an alternative, Bayesian approach of the analysis. The hypothetical data available in the Manual of good practical in bioavailability presented for the ANVISA had been used for the application of the classic and Bayesian approaches for the evaluation of average bioequivalence.*
- **KEYWORDS:** *Average bioequivalence; Bayesian analysis; individual bioequivalence; bioavailability.*

Referências

ANDERSON, S.; HAUCK, W. A new procedure for testing equivalence in comparative bioavailability and other clinical trials. *Commun. Stat. – Theory and Methods*, Hamilton, v.12, p.2663-2692, 1983.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Diretoria Colegiada. Guia para provas de bioequivalência de medicamentos genéricos. Resolução número 478, de 19 de março de 2002.* 2002a. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/resolucoes/2002>>. Acesso em: 20 fev. 2006.

- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência*. 2002b. Disponível em:
<<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/index.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2006.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução da Diretoria Colegiada*. 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em: 20 fev. 2007.
- BARRET, J. S. et al. Perspective on population and individual bioequivalence. *J. Clin. Pharmacol.*, Hagerstown, v.40, p.561-570, 2000.
- BRASIL. *Lei número 9.787, de 10 de fevereiro de 1999*. 1999. Disponível em:
<<http://www.lei.adv.br/9787-99.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2005.
- CHOW, S. C.; LIU, J. P. *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies*. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2000.
- DANGELO, G.; POTVIN, D.; TURGEON, J. Carry-over effects in bioequivalence studies. *J. Biopharm. Stat.*, Philadelphia, v.11, n.1-2, p.35-43, 2001.
- FDA – Food and Drug Administration. *Statistical approaches to establishing bioequivalence*. Rockville, Maryland, 1999. Disponível em:
<<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2006.
- FDA – Food and Drug Administration. *Guidance for industry statistical approaches to establishing bioequivalence*. 2001. Disponível em:
<<http://www.fda.gov/cder/Guidance/3616fml.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2006.
- FLUEHLER, H. et al. Bayesian approach to bioequivalence assessment: an example. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.72, n.10, p.1178-1181, 1983.
- GELFAND, A. E.; SMITH, A. F. M. Sampling-based approaches to calculating marginal densities. *J. Am. Stat. Assoc.*, Alexandria, v.85, n.410, p.398-409, 1990.
- GELMAN, A.; RUBIN, B. D. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat. Sci.*, Beachwood, v.7, n.4, p.457-511, 1992.
- GHOSH, P.; GONEN, M. Bayesian modelling of multivariate average bioequivalence. *Stat. Med.*, Hoboken, 2007.
- GHOSH, P.; KHATTREE, R. Bayesian approach to average bioequivalence using Bayes' factor. *J. Biopharm. Stat.*, Philadelphia, v.13, n.4, p.719-734, 2003.
- GHOSH, P.; ROSNER, G. L. A semi-parametric Bayesian approach to average bioequivalence. *Stat. Med.*, Hoboken, v.26, n.6, p.1224-1236, 2006.
- HAUCK, W. W.; ANDERSON, S. Types of bioequivalence and related statistical considerations. *Int. J. Clin. Pharmacol., Therapy and Toxicology*, Munich, v.30, n.5, p.181-187, 1992.
- HYSLOP, T.; HSUAN, F.; HOLDER, D. J. A small sample confidence interval approach to assess individual bioequivalence. *Stat. Med.*, Hoboken, v.19, n.20, p.2885-2897, 2000.
- MANDALLAZ, D.; MAU, J. Comparison of different methods for decision-making in bioequivalence assessment. *Biometrics*, Arlington, v.37, p.213-222, 1981.

- RACINE-POON, A.; GRIEVE, A. P.; FLÜHLER, H. Bayesian methods in practice: experiences in the pharmaceutical industry. *Appl. Stat.*, London, v.35, p.93-150, 1986.
- RACINE-POON, A.; GRIEVE, A. P.; SMITH, A. F. M. A two-stage procedure for bioequivalence studies. *Biometrics*, Arlington , v.43, p.847-856, 1987.
- SCHUIRMANN, D. J. On hypothesis testing to determine if mean of a normal distribution is contained in a known interval. *Biometrics*, Arlington , v.37, p.6178, 1981.
- SENN, S. *Cross-over trials in clinical research*. 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons, 2002. 364p.
- SELWYN, M. R.; HALL, N. R. On Bayesian methods for bioequivalence. *Biometrics*, Arlington , v.40, p.1103-1108, 1984.
- SELWYN, M. R.; DEMPSTER, A. P.; HALL, N. R. A Bayesian approach to bioequivalence for the 2 x 2 changeover design. *Biometrics*, Arlington , v.37, p.11-21, 1981.
- SHAO, J.; CHOW, S.; WANG, B. The bootstrap procedure in individual bioequivalence. *Stat. Med.*, Hoboken , v.19, p.2741-2754, 2000.
- SPIEGELHALTER, D. J.; THOMAS, A.; BEST, N. G. WinBUGS Version 1.2 User manual. Cambridge: MRC Biostatistics Unit, 1999.

Recebido em 26.02.2007.

Aprovado após revisão em 08.01.2008.

Apêndices

A Intervalos de Bioequivalência

De acordo com o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b), para a construção de um intervalo de bioequivalência, seja

$$\theta_{\text{inf}} < \mu_T - \mu_R < \theta_{\text{sup}} \quad (12)$$

onde θ_{inf} e θ_{sup} são os limites inferior e superior do intervalo.

A partir do critério de $\pm 20\%$, θ_{inf} e θ_{sup} podem ser escritos como

$$-0,20\mu_R < \mu_T - \mu_R < 0,20\mu_R \quad (13)$$

Para a razão $\frac{\mu_T}{\mu_R}$, têm-se

$$0,80 < \frac{\mu_T}{\mu_R} < 1,20 \quad (14)$$

Na escala logarítmica do medida farmacocinética e na busca de intervalos simétricos, (14) pode ser escrito como

$$\log(0,80) < \log\left(\frac{\mu_T}{\mu_R}\right) < \log(1,25) \quad (15)$$

que resulta em

$$-0.2231 < \log(\mu_T) - \log(\mu_R) < 0.2231 \quad (16)$$

B Dados

Tabela 4 - Medidas farmacocinéticas apresentadas no Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade (ANVISA, 2002b)

Indivíduo	Seqüencia	Período	ASC (R)	C_{\max} (R)	Período	ASC (T)	C_{\max} (T)
1	RT	1	252,95	205,4	2	225,38	215,9
2	TR	2	764,32	287,0	1	844,32	335,5
3	RT	1	402,22	198,3	2	465,30	285,5
4	TR	2	583,50	204,2	1	759,38	324,5
5	RT	1	364,60	270,3	2	398,18	221,6
6	TR	2	181,45	129,6	1	247,92	188,0
7	TR	2	258,65	256,9	1	495,40	291,4
8	RT	1	448,53	233,3	2	443,52	250,4
9	TR	2	526,88	317,2	1	519,92	304,8
10	RT	1	393,32	259,2	2	335,40	127,8
11	TR	2	334,88	117,6	1	480,12	117,0
12	RT	1	622,28	177,9	2	527,80	208,5
13	RT	1	359,88	154,2	2	272,08	141,9
14	TR	2	529,65	171,6	1	548,18	215,2
15	RT	1	264,65	178,3	2	272,25	117,7
16	RT	1	473,65	165,3	2	444,40	203,9
17	TR	2	385,22	145,2	1	390,18	205,3
18	TR	2	578,38	297,4	1	556,85	256,3
19	TR	2	417,40	209,7	1	331,30	227,0
20	RT	1	337,60	248,6	2	445,78	277,5
21	TR	2	312,78	215,3	1	452,50	267,4
22	TR	2	593,42	372,3	1	520,22	325,9
23	RT	1	765,05	515,5	2	747,90	586,2
24	RT	1	175,25	183,1	2	244,00	250,1

C Programas SAS

Listagem 1: Programa para obtenção das estimativas do modelo completo.

```
1 proc mixed data=novo;
2 class farmaco voluntario periodo sequencia;
3 model l_ascc=farmaco periodo sequencia / s outp=predito;
4 random intercept / subject=voluntario(sequencia) s;
5 estimate "sequencia"sequencia -1 1 / cl alpha=0.10;
6 run;
```

Listagem 2: Programa para obtenção das estimativas do modelo restrito.

```
1 proc mixed data=novo;
2 class farmaco voluntario periodo sequencia;
3 model l_ascc=farmaco periodo / s outp=predito;
4 random intercept / subject=voluntario(sequencia) s;
5 estimate "farmaco"farmaco -1 1 / cl alpha=0.05;
6 estimate "periodo"periodo -1 1 / cl alpha=0.05;
7 estimate "farmaco"farmaco -1 1 / cl alpha=0.10;
8 run;
```

D Programas Winbugs

Listagem 3: Programa para obtenção das médias a posteriori do modelo completo.

```
1  model {
2  for (i in 1:24) {
3  for(j in 1:2) {
4  y[i,j] ~ dnorm(m[i,j], tau1)
5  m[i,j] < - mu + s[i] + P*x1[i,j] + F*x2[i,j] + R*x3[i,j] } }
6  for(i in 1:24) {
7  s[i] ~ dnorm(0, tau2) }
8  tau1 ~ dgamma(0.1,0.1)
9  tau2 ~ dgamma(0.1,0.1)
10 mu ~ dnorm(0,0.001)
11 P ~ dnorm(0,0.001)
12 F ~ dnorm(0,0.001)
13 R ~ dnorm(0,0.001) }
```

Listagem 4: Programa para obtenção das médias a posteriori do modelo restrito.

```
1  model {
2  for (i in 1:24) {
3  for(j in 1:2) {
4  y[i,j] ~ dnorm(m[i,j], tau1)
5  m[i,j] < - mu + s[i] + P*x1[i,j] + F*x2[i,j] } }
6  for(i in 1:24) {
7  s[i] ~ dnorm(0, tau2) }
8  tau1 ~ dgamma(0.1,0.1)
9  tau2 ~ dgamma(0.1,0.1)
10 mu ~ dnorm(0,0.001)
11 P ~ dnorm(0,0.001)
12 F ~ dnorm(0,0.001) }
```
