

# I C B

Investigación Clínica y Bioética

Boletín de la Sociedad Española de Farmacología Clínica dirigido a los Comités Éticos de Investigación Clínica

## Metodología de la fase I

... y también en este número:  
**Probando la hipótesis nula**

La fase I, que algunos autores han sugerido se denomine “farmacología humana” en contraposición al resto de fases propiamente clinicoterapéuticas, es una prolongación natural de la investigación preclínica y constituye un puente de conexión entre la investigación básica en animales y la investigación terapéutica que se inicia con la fase II.<sup>1</sup> Si bien el objetivo principal de esta fase consiste en establecer la eventual dosis máxima tolerada y el perfil de seguridad clinicobiológico del nuevo fármaco, tiene igual trascendencia investigar su comportamiento farmacocinético y evaluar sus efectos farmacológicos en el hombre.

En general la fase I se lleva a cabo en voluntarios sanos, excepto con determinados compuestos altamente tóxicos (por ejemplo, quimioterápicos antineoplásicos), en cuyo caso se efectúa en pacientes. Sin embargo, el desarrollo de un fármaco no siempre sigue la secuencia clásica establecida entre las fases I, II y III. Así, por ejemplo, la evaluación de bioequivalencia entre diferentes formulaciones de un fármaco ya comercializado (en fase IV) se realiza de hecho en voluntarios sanos (fase I). Si bien el concepto de voluntario es fácil de entender desde un punto de vista ético, ya que el libre consentimiento informado es un requerimiento imprescindible previo a su participación en el estudio, no es tan simple definir el concepto de voluntario sano bajo criterios médicos. En este sentido, es preferible referirse a los participantes en estos estudios como sujetos “sin patología evidenciable”.<sup>2</sup> En realidad no existe unanimidad sobre los criterios clínicos y/o analíticos mínimos que deberían aplicarse en la inclusión y exclusión de voluntarios en tales estudios.

### Estudios de tolerabilidad

Estos estudios constituyen sin duda la primera etapa en la investigación de un fármaco en el hombre. A partir de la información preclínica se deben determinar la primera

dosis a administrar, sus incrementos subsiguientes y la frecuencia de administración.<sup>3</sup> Aunque se han sugerido numerosos métodos para tomar estas decisiones, todos ellos tienen en común el objetivo de garantizar la máxima seguridad a los participantes en el estudio. Es importante destacar que la dosis máxima que se evaluará, si no aparecen efectos sobre ninguno de los parámetros estudiados, debe ser determinada *a priori*.

En tales estudios se suelen evaluar los cambios en los signos vitales inducidos por la dosis administrada, con la ayuda de cuestionarios sobre síntomas (subjetivos) y la medición de variables de laboratorio que incluyan pruebas habituales hematológicas y bioquímicas en sangre y orina.

Si bien existe una amplia variabilidad en los diseños que se utilizan en estos estudios, es una práctica habitual que las primeras evaluaciones sean abiertas, reservándose los diseños a simple y doble ciego para ensayos posteriores con finalidad confirmatoria de los hallazgos obtenidos en las fases más tempranas. Sin embargo, mientras no exista un claro consenso sobre la forma de tomar decisiones, sólo la experiencia de los investigadores puede valorar, en su verdadero alcance, los resultados obtenidos.

### Estudios farmacocinéticos

El objetivo de estos estudios se centra en obtener información sobre los procesos de absorción, distribución, metabolización y excreción de los fármacos. La exigencia de disponer de un método analítico (cromatografía líquido-líquido, de gases, técnicas inmunológicas, espectrofotometría de masas, e incluso utilización de sustancias con marcador radioactivo) que sea suficientemente sensible, preciso, exacto y reproducible es condición obligada para determinar los niveles del fármaco y/o sus metabolitos en líquidos biológicos.<sup>4</sup>

Los estudios farmacocinéticos se realizan en general en condiciones abiertas, a no ser que interese evaluar paralelamente la tolerabilidad de una nueva forma de dosificación frente a una conocida. En este supuesto, las formulaciones objeto de estudio se administrarán a doble ciego, teniéndose que utilizar muchas veces técnicas de doble enmascaramiento. La estrategia de los tiempos de muestreo dependerá de la información previa disponible sobre el perfil cinético del fármaco. A veces se debe realizar un estudio piloto y posteriormente se programa la recogida de muestras de sangre y/o orina en función de los resultados de aquél. Debe recordarse que es preciso disponer, por lo menos, de tres puntos experimentales por cada exponencial que se requiera para caracterizar adecuadamente la curva de niveles plasmáticos y llevar a cabo un seguimiento de los mismos hasta transcurrido como mínimo el equivalente de cinco semividas biológicas.

## Estudios farmacodinámicos

La evaluación de los efectos que los fármacos inducen en el hombre es sin duda el campo más atractivo y desafiante de los estudios en fase I. Sin embargo, no hay que olvidar que la eficacia clínica, propiamente dicha, de cualquier sustancia sólo se puede establecer en los grupos en que su acción es potencialmente necesaria, es decir en los pacientes afectados de la patología correspondiente.

Idealmente, las técnicas aplicadas deberían ser “no invasivas” para ser éticamente aceptables, *sensibles* a cambios de dosis y concentraciones, especialmente cuando se consideran respuestas graduales, *reproducibles* intrasujeto e interinvestigadores, *selectivas* en relación a la función evaluada, *específicas* en relación al mecanismo de acción del fármaco, y *robustas* en términos de facilidad en la ejecución y susceptibilidad a influencias externas. Por último, es especialmente importante (tanto desde el punto de vista regulador como científico) que las variables estén *validadas* en relación al fenómeno clínico objeto de interés.<sup>5</sup>

Es recomendable, en la medida de lo posible, llevar a cabo las evaluaciones según diseños cruzados, con un intervalo adecuado entre tratamientos, a doble ciego, con control placebo y tras la administración de diferentes dosis del fármaco objeto de estudio y un patrón de referencia positivo, es decir un fármaco cuyo efecto esté ya claramente establecido.

Deberían efectuarse evaluaciones antes de la toma del tratamiento y a diferentes intervalos tras su administración, con la finalidad de caracterizar el curso temporal de los efectos. Es importante realizar una sesión previa, antes del inicio del estudio propiamente dicho, con el objeto de que el equipo investigador y los sujetos del estudio se familiaricen con todo el procedimiento experimental en condiciones de placebo simple ciego.

Se deberá tomar nota de sexo, edad y peso de los participantes, así como de determinadas características, diferentes según el tipo de estudio particular. Así por ejemplo, si se desea evaluar la actividad antihistamínica H<sub>1</sub> periférica mediante la medición del tamaño de la pápula inducida por administración subcutánea de histamina, será necesario

evaluar previamente la reactividad cutánea a la histamina para descartar hiper- o hiporrespondedores. Además, es necesario efectuar una supervisión estricta de determinadas condiciones, cuya mayor o menor relevancia dependerá de la naturaleza de la variable que se evalúa, como por ejemplo las horas de sueño, la ingesta de comida y bebida, el momento del día y el día de la semana, la situación ambiental, e incluso la propia actitud del investigador. No hay que olvidar que generalmente los participantes serán voluntarios sanos que percibirán remuneración económica.

Dado el carácter explicativo de los estudios en fase I, en contraposición al carácter más pragmático de las fases de investigación clínica posteriores, el cálculo de un adecuado tamaño de la muestra, aunque relevante, tiene menor importancia como elemento crítico en la planificación del ensayo. Normalmente priman las consideraciones prácticas, avaladas por la experiencia previa. En la mayoría de los estudios son muchos los parámetros medidos en un determinado sujeto, siendo difícil establecer cuál de ellos es el más relevante. A menudo, los estudios farmacodinámicos comportan la realización de tal cantidad de comparaciones individuales, que la estrategia habitualmente seguida en estadística inferencial para mantener el error de tipo I dentro de unos límites tolerables carece de utilidad práctica. Se ha propuesto como solución a tal situación una estrategia de análisis que se denomina *análisis estadístico descriptivo*.<sup>6</sup>

Los métodos que se han mostrado útiles y que tienen cierto valor predictivo para la práctica clínica son numerosos y cubren prácticamente todos los ámbitos de la terapéutica. Su descripción exhaustiva cae fuera de los límites razonables de este artículo. Sin embargo, merece la pena insistir en el diferente grado de requerimientos técnicos y especialización que su puesta en práctica exige. Así, podría definirse un continuo de dificultad, que iría desde la relativa simplicidad que supone, por ejemplo, la evaluación del efecto antiinflamatorio mediante la inducción de eritema cutáneo tras irradiación ultravioleta, hasta el extremo opuesto en el que el progreso tecnológico de los últimos años ha determinado su desarrollo y condicionado la optimización de su empleo, como es el caso en la evaluación de funciones cardiovasculares o del SNC.

## Referencias

1. Torrent J, Barbanoj MJ, Izquierdo I, Jané F. Infraestructura y métodos de investigación en una unidad de fase I. *Rev Farmacol Clin Exp* 1990; 7(S1):11-9.
2. Sibille B. Selection of healthy volunteers for phase I studies. *Fundam Clin Pharmacol* 1990; 4(S2):161-16.
3. Vaidya AB, Vaidya RA. Initial human trials with an investigational new drug. *J Postgrad Med* 1981; 27:197-213.
4. Toon S. The assessment of pharmacokinetics. En: O'Grady J, Linet OI (eds), *Early phase drug evaluation in man*. Londres: MacMillan, 1990:229-42.
5. Harry JD. The assessment of pharmacodynamic effects. En: O'Grady J, Linet OI (eds), *Early phase drug evaluation in man*. Londres: MacMillan, 1990:220-8.
6. Abt K. Descriptive data analysis: a concept between confirmatory and exploratory data analysis. *Methods Inf Med* 1987; 26:77-8.

## Probando la hipótesis nula

**E**l objetivo más frecuente en ciencias de la salud es demostrar la existencia de diferencias (de eficacia, de mortalidad, de tolerabilidad), bien como dato observacional o en el marco de una intervención planificada de naturaleza farmacológica, quirúrgica o de otro tipo.

Para solventar este tipo de planteamiento el método estadístico habitual se basa en la utilización de los denominados contrastes de hipótesis que, como su propio nombre indica, obligan al investigador a concretar su problema en dos hipótesis ( $H_0$  = nula y  $H_1$  = alternativa) claras y excluyentes, como por ejemplo,

$$H_0: \text{Eficacia}_{T_{toA}} = \text{Eficacia}_{T_{toB}}$$
$$H_1: \text{Eficacia}_{T_{toA}} \neq \text{Eficacia}_{T_{toB}}$$

El objetivo perseguido es demostrar la existencia de diferencias y, por tanto, en relación a las hipótesis planteadas, el rechazo de la hipótesis de igualdad o hipótesis nula ( $H_0$ ).

Todo el sustrato teórico de las pruebas de hipótesis y su posterior desarrollo se ha basado en dicha asunción.

Por convenio, generalmente se acepta que la probabilidad de equivocarse al concluir que hay diferencias (el denominado error de primera especie) es de un 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Por otro lado, se establece que la probabilidad de equivocarse al concluir que no existen diferencias entre ambos tratamientos (error de segunda especie) es menos exigente, a menudo del 20% ( $\beta = 0,20$ ). De aquí se extrae el valor mínimo comúnmente utilizado para lo que se denomina el poder de una prueba ( $1 - \beta$ ) que en este caso sería del 80% ( $1 - \beta = 0,80$ ).

Como sea que la introducción de nuevos medicamentos es cada vez más compleja y difícil, su justificación pasa lógicamente por la demostración de que su eficacia es por lo menos equivalente a la de los anteriores disponibles. Esto equivale a aceptar la hipótesis nula o de igualdad en un estudio de eficacia.

Dentro de estos objetivos deberían incluirse los estudios de bioequivalencia y los problemas que plantea la evaluación de los genéricos. Posiblemente este es uno de los mejores paradigmas de la necesidad de probar la existencia de igualdad.

Por todo ello, parece razonable buscar métodos más idóneos que permitan comprobar la igualdad, en términos de hipótesis, es decir, aceptar la denominada hipótesis nula. Por otra parte, también se ha sugerido que este problema no debería resolverse mediante contraste de hipótesis.<sup>1,2</sup>

Al analizar los resultados de un ensayo el investigador se plantea, entre otras cuestiones, la generalización de los resultados a una determinada población. En este contexto, una población es todo el conjunto de elementos sobre los

que se desea que sean aplicables los resultados de aquel estudio en particular. Estos resultados se sintetizan en valores o estadígrafos obtenidos en la muestra de individuos que han participado en el estudio y a su generalización se la denomina estimación de parámetros poblacionales. Esta parece ser una de las herramientas más apropiadas que se puedan utilizar en estos casos.

Para seguir este planteamiento se calcula un estadígrafo concreto (media, mediana, porcentaje, etc.) en la muestra del estudio y se calculan los límites superior e inferior entre los que, con una probabilidad determinada, se hallaría el auténtico valor poblacional. Dicho de otra forma, se calculan los intervalos de confianza (IC).

Según esta forma de proceder, se puede cometer un error de primera especie si el verdadero valor poblacional del estadígrafo no se halla entre los límites indicados. La probabilidad de que esto ocurra depende de la mayor o menor "confianza" con que se calcula el intervalo.

Así, cuando el IC se calcula al 95%, los límites de confianza son más amplios que si se calcula, por ejemplo, al 80%. No cabe olvidar que estamos interesados en la obtención de intervalos lo más estrechos posible. Idealmente ambos límites (inferior y superior) coincidirían.

### Un ejemplo de estudios de bioequivalencia

Para tomar un ejemplo, en un estudio de bioequivalencia se calcularían los límites del intervalo de confianza del valor de la biodisponibilidad relativa ( $F$ ).

La toma de la decisión final que permitirá concluir si existe o no bioequivalencia según los límites de confianza preestablecidos, se basará en la comparación de los límites del valor  $F$  obtenidos empíricamente, con los previamente establecidos como representativos del **ámbito teórico de bioequivalencia**. Así, la existencia de bioequivalencia se afirmará si, y sólo si, el IC se halla enteramente comprendido en el ámbito teórico de bioequivalencia.<sup>3</sup>

Se han propuesto diversos métodos para calcular los intervalos. Las diferencias entre ellos suelen ser básicamente estadísticas y matemáticas y los resultados empíricos obtenidos hasta la fecha no parecen, en la gran mayoría de los casos, diferir en sus conclusiones en relación al establecimiento de bioequivalencia.

Un breve resumen, no exhaustivo, de dichos métodos incluiría:

- IC clásicos<sup>5</sup>
- IC "simétricos" de Westlake,<sup>6</sup>
- Método de Anderson y Hauck,<sup>7</sup>
- Método de los dos ensayos "t" unilaterales.<sup>8</sup>

Llegados a este punto cabría preguntarse sobre la utilidad de emplear diseños experimentales más o menos complejos (cuadrado latino, diseños factoriales, etc.) en estos estudios, si la decisión final queda supeditada a un método basado en IC.

Con dichos diseños y mediante un análisis de la varianza (ANOVA) adecuado, puede ser posible delimitar (no eliminar) ciertos factores, lo que permite obtener datos sobre variabilidad debida principalmente al factor de interés (en nuestro ejemplo, la formulación) y no a otros factores cuya influencia es conocida, puesto que han podido ser aislados

Con este planteamiento, el ANOVA se constituye en una técnica que facilita la identificación de las fuentes de variación y permite estimar su magnitud, así como obtener un estadígrafo de variabilidad (varianza residual) para el cálculo posterior del IC. Además se evita el subsiguiente paso, de tipo inferencial (test de «F»), que solía utilizarse en el contraste de hipótesis para la toma de decisión.<sup>9</sup>

Cabe señalar finalmente la existencia de las denominadas técnicas bayesianas o de probabilidad posterior, cuya particularidad reside en que no calculan propiamente los límites de confianza, sino que parten de los máximos límites permitidos, según el ámbito teórico de bioequivalencia, que sería el equivalente al peor de los casos, y de éstos extraen la probabilidad de error, de modo que no se concluye que las formulaciones son bioequivalentes si dicho riesgo supera el asumido previamente.<sup>10-13</sup>

Asimismo se han desarrollado métodos no paramétricos, que no precisan de la asunción de unas condiciones de aplicación previas (normalidad, homocedasticidad, etc.) como ocurría con las técnicas previamente mencionadas.<sup>14</sup>

## Referencias

1. Metzler CM, Huang DC. Statistical methods for bioavailability and bioequivalence. *Clin Res Practices & Drug Reg Affairs* 1983;1:109-32.
2. Obach R. El tratamiento de datos en los estudios de biodisponibilidad. En Badía A, Domínguez-Gil A, Garzón J, *Tratamiento de datos en farmacología*. Monografías Dr. Antonio Esteve nº 8. Barcelona. 1989:73-80.
3. Pabst G, Jaeger H. Review of methods and criteria for the evaluation of bioequivalence studies. *Eur J Clin Pharmacol* 1990;38:5-10.
4. Chow S-C, Liu J-P. Recent statistical developments in bioequivalence trials. *Drug Information J* 1994;28:851-64.
5. Westlake WJ. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. *J Pharm Sci* 1972;61:1340-1.
6. Westlake WJ. Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials. *Biometrics* 1976;32:741-4.
7. Anderson S, Hauck WW. A new procedure for testing bioequivalence in comparative bioavailability and other clinical trials. *Commun Statist-Theor Meth* 1983;12:2663-92.
8. Schuirmann DJ. A comparison of the two one-sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinet Biopharm* 1987;15:657-80.
9. Metzler CM. Statistical criteria. En: Welling PG, Tse FLS, Dighe SV (eds), *Pharmaceutical bioequivalence*. Nueva York: Marcel Dekker, 1991:35-66.
10. Rodda BE, Davis RL. Determining the probability of an important difference in bioavailability. *Clin Pharmacol Ther* 1980;28:247-52.
11. Mandallaz D, Mau J. Comparison of different methods for decision-making in bioequivalence assessments. *Biometrics* 1981;37:213-22.
12. Fluehler H, Hirtz J, Moser HA. An aid to decision-making in bioequivalence. *J Pharmacokinet Biopharm* 1981;9:235-43.
13. Selwyn MR, Hall NR. On bayesian methods for bioequivalence. *Biometrics* 1984;40:1103-8.
14. Steijnmans VW, Diletti E. Statistical analysis of bioavailability studies: parametric and nonparametric confidence intervals. *Eur J Clin Pharmacol* 1983;24:127-36.

**Ignasi Gich Saladich.** *Area d'Investigació Farmacològica, Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.*

**Consejo editorial:** Diego Gracia (Director), Joan-Ramon Laporte (Jefe de Redacción), Carles Vallvé (Secretario), Antonio Carcas, Xavier Carné, Joan Costa, Francisco de Abajo, José Antonio Durán, Magí Farré, Javier Galiana, Fernando García Alonso, Angela Idoipe, Antonio Portolés, Carlos Romeo, Emilio Sanz, M<sup>a</sup> Antonia Serrano, Joan-Antoni Vallès.

**Comité de redacción:** Xavier Carné, Fernando García Alonso, Joan-Ramon Laporte, M<sup>a</sup> Antonia Serrano, Carles Vallvé.

© Sociedad Española de Farmacología Clínica  
ISSN 1131-8910  
Dep. Legal B-4772-1995

Servicio de Farmacología Clínica  
CSU Vall d'Hebron  
08035 Barcelona

Tel.: 934 28 3029  
Fax: 934 89 4109  
Suscripción: 1.300 ptas al año

El Boletín *ICB* es editado trimestralmente por la Sociedad Española de Farmacología Clínica gracias a una ayuda del Ministerio de Sanidad y Consumo. Además, las siguientes instituciones contribuyen a su publicación: Alcon-Iberhis, Almirall, Asta, Boehringer Ingelheim, Ciba-Geigy, Esteve, Faes, Ferrer, Glaxo, Grifols, Janssen, Merck Sharp & Dohme, Otsuka, Prodes, Roche, Rovi, Sandoz, Sanofi, Searle, Serono, SmithKline Beecham, Uriach, Vita, Zambon y Zeneca. Los artículos y notas publicados en *ICB* no pueden ser utilizados para anuncios, publicidad u otra promoción de ventas, ni pueden ser reproducidos sin permiso escrito.