



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ-ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

**ΜΙΑ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ
ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ
ΑΠΟ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ-
ΧΡΟΝΟΥ ΚΑΙ Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΑΥΤΗΣ ΣΤΗΝ
ΓΚΕΒΟΚΙΖΟΥΜΑΜΠΗ**

Καρακίτσιος Ευάγγελος

Φαρμακοποιός

Μ.Δ.Ε. «Βιομηχανική Φαρμακευτική»

Αθήνα 2019

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Δοκουμετζίδης Αριστείδης, Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ (επιβλέπων καθηγητής)

Μαρκαντώνη-Κυρούδη Σοφία, Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ

Βερτζώνη Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ

Ευχαριστίες

Ολοκληρώνοντας το Μεταπτυχιακό θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Αριστείδη Δοκουμετζίδα, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και μου ανέθεσε το συγκεκριμένο θέμα. Η καθοδήγηση και οι συμβολές του ήταν καθοριστικές για την επιτυχημένη ολοκλήρωση της εργασίας. Επίσης, τον ευχαριστώ για τη δυνατότητα που μου παρείχε να παίρνω πρωτοβουλίες και να αυτενεργώ στα πλαίσια εκπόνησης της εργασίας.

Είμαι ιδιαίτερα ευτυχής που μου δόθηκε η ευκαιρία να ασχοληθώ με τη φαρμακομετρία, κλάδο της φαρμακευτικής επιστήμης που αν και ιδιαίτερα ανεπτυγμένος και εφαρμοσμένος στο εξωτερικό, στην Ελλάδα τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να αναπτύσσεται.

Επίσης, ευχαριστώ την καθηγήτρια Μαρκαντώνη-Κυρούδη Σοφία καθώς και την επίκουρη καθηγήτρια Βερτζώνη Μαρία που με τιμούν με τη συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή.

Θα ήταν παράληψή μου να μην αναφερθώ στην οικογένειά μου, τους γονείς μου και τον αδερφό μου, αλλά και τους φίλους μου που πάντα με στηρίζουν και με ενθαρρύνουν, όποιες κι αν είναι οι επιλογές μου. Σας ευχαριστώ πολύ.

Περιεχόμενα

Περίληψη	1
Abstract.....	3
Κεφάλαιο 1.....	5
Εισαγωγή.....	5
1.1 Φαρμακοκινητική και Μοντελοποίηση.....	5
1.1.1 Ανάπτυξη μοντέλου	8
1.1.2 Πληθυσμιακή Φαρμακοκινητική.....	27
1.2 Γκεβοκιζουμάμπη – Genokizumab	34
1.2.1 Μηχανισμός Δράσης.....	34
1.2.2 Δράσεις – Κλινικές Μελέτες.....	37
1.3 Φαρμακοκινητική Μονοκλωνικών Αντισωμάτων	37
1.3.1 Δομή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων	38
1.3.2 Κατανομή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων.....	39
1.3.3 Απομάκρυνση Μονοκλωνικών Αντισωμάτων	42
1.3.4 Οδοί χορήγησης Μονοκλωνικών Αντισωμάτων.....	42
1.3.5 Επίδραση του Φορτίου του Αντισώματος στη Φαρμακοκινητική του	43
1.3.6 Μοντελοποίηση της Φαρμακοκινητικής των Μονοκλωνικών Αντισωμάτων	43
1.3.7 Πληθυσμιακή Μεταβλητότητα Μονοκλωνικών Αντισωμάτων.....	44
1.4 Δεύτερης Γενιάς Ελάχιστα Δυνατά Φυσιολογικά Φαρμακοκινητικά (Second generation mPBPK) Μοντέλα	45
1.4.1 Εισαγωγικά στοιχεία	45
1.4.2 Θεωρητικό Κομμάτι των mPBPK μοντέλων Δεύτερης Γενιάς.....	47
1.4.3 Εφαρμογή του μοντέλου στην Γκεβοκιζουμάμπη.....	50

Σκοπός.....	52
Κεφάλαιο 2.....	53
Μέθοδος.....	53
2.1 Ανάπτυξη Μεθόδου για την Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων από Συγκεντρωτικά Δεδομένα Συγκέντρωσης-Χρόνου	53
2.1.1 Κατασκευή της Συνάρτησης – Monte Carlo Προσομοίωσης.....	54
2.1.2 Αριθμός των Ασθενών για την Προσομοίωση Monte Carlo.....	58
2.1.3 Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων μαζί με τις Δι-ατομικές Μεταβλητότητες.....	64
2.2 Αξιολόγηση της Μεθόδου Εκτίμησης των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων από Συγκεντρωτικά Δεδομένα Συγκέντρωσης-Χρόνου	67
2.2.1 Προσομοιώσεις	68
2.2.2 Ορθότητα και Πιστότητα των Εκτιμήσεων.....	68
2.2.3 Αξιολόγηση της Μεθόδου με Visual Predictive Check (VPC)	70
2.3 Εφαρμογή της Μεθόδου σε Βιβλιογραφικά Συγκεντρωτικά Δεδομένα της Γκεβοκιζουμάμπης	71
2.3.1 Δεδομένα για την Γκεβοκιζουμάμπη.....	71
2.3.2 Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων	75
Κεφάλαιο 3.....	76
Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	76
3.1 Αποτελέσματα Μελετών Προσομοίωσης	76
3.2 Διαγράμματα VPC για την Αξιολόγηση της Μεθόδου.....	79
3.2 Αποτελέσματα του Τελικού Μοντέλου για την Γκεβοκιζουμάμπη	83
3.4 Συμπεράσματα	90
Βιβλιογραφία	91
Παράρτημα	97

Περίληψη

Ο σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η ανάπτυξη και η αξιολόγηση της απόδοσης μίας μεθοδολογίας για την εκτίμηση πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών (PK) παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες (IVs) από δημοσιευμένα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου, συγκεκριμένα μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος και τυπικές αποκλίσεις (SDs) αυτών ως προς το χρόνο, όπως εκείνα τα δεδομένα που συχνά βρίσκονται σε δημοσιευμένα γραφήματα. Αυτή η μέθοδος εφαρμόστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης, ενός καινοτόμου μονοκλωνικού αντισώματος που αποτελεί έναν αναστολέα της ιντερλευκίνης-1β, με σκοπό να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές φαρμακοκινητικές παράμετροι (PopPK) ενός ελάχιστου δυνατού φυσιολογικού φαρμακοκινητικού (mPBPK) μοντέλου.

Μία συνάρτηση κατασκευάστηκε αρχικώς στη γλώσσα προγραμματισμού R βασισμένη σε ένα δεύτερης γενιάς mPBPK μοντέλο που προβλέπει (output) τις μέσες συγκεντρώσεις και τις τυπικές αποκλίσεις αυτών από μία Monte Carlo (MC) προσομοίωση από έναν αριθμό ασθενών που παράχθηκαν από τις κατανομές των παραμέτρων του mPBPK μοντέλου συμπεριλαμβανομένων των IVs για κάποιες από αυτές (input). Το μοντέλο παραμετροποιήθηκε όσον αφορά τους συντελεστές ανάκλασης σ_1 και σ_2 για τους στεγανούς και τους διαρρέοντες ιστούς, αντίστοιχα, την κάθαρση του φαρμάκου από το πλάσμα CL_p και τους όρους δι-ατομικής μεταβλητότητας ω_{CL_p} και ω_v , για την τυπική απόκλιση των κανονικών κατανομών των λογαριθμοποιημένων τιμών της κάθαρσης από το πλάσμα και του όγκου του ανθρωπίνου σώματος αντιστοίχως. Αυτή η συνάρτηση εφαρμόστηκε σε δεδομένα μέσω των συγκεντρώσεων και τυπικών αποκλίσεων με σκοπό να εκτιμηθούν οι παράμετροι του μοντέλου, μαζί με τις αντίστοιχες IVs χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας με ένα quasi-Newton αλγόριθμο. Οι ασθενείς στις προσομοιώσεις ήταν οι ίδιοι σε κάθε επανάληψη ώστε να αποφευχθούν ασυνέχειες στην αντικειμενική συνάρτηση, γεγονός που θα μπορούσε να προκαλέσει προβλήματα στη μέθοδο βελτιστοποίησης που χρησιμοποιήθηκε. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία Latin Hypercube για το βήμα της MC προσομοίωσης για να αυξηθεί η ταχύτητα. Πιο συγκεκριμένα, η συνάρτηση που κατασκευάστηκε προέβλεψε τις μέσες συγκεντρώσεις και τις τυπικές αποκλίσεις αυτών από μία MC προσομοίωση 60 ασθενών, καθώς αυτός ο αριθμός βρέθηκε συγκρίσιμος με εκείνον (1000) που ήταν αρχικά επιθυμητό να χρησιμοποιηθεί ως input στην προσομοίωση.

Επίσης, δύο ξεχωριστοί εκθετικοί όροι υπολειπόμενης μεταβλητότητας θεωρήθηκαν, ένας για τις μέσες τιμές και ένας για τα SDs. Για την αξιολόγηση της μεθόδου προσομοιώσεις και

Περίληψη

εκτιμήσεις πραγματοποιήθηκαν ώστε να εκτιμηθούν η ορθότητα και η ακρίβεια των εκτιμήσεων από 1000 προσομοιωμένα σετ δεδομένων. Επιπλέον, δημιουργήθηκαν αντιπροσωπευτικά διαγράμματα VPCs από αυτά τα προσομοιωμένα σετ. Τελικώς, σκαναρισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακοί παράμετροι του mPBPK μοντέλου για το φάρμακο και η καλή προσαρμογή του μοντέλου αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας διαγνωστικά διαγράμματα. Ολόκληρη η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό της γλώσσας R (Rstudio).

Το επί τις εκατό μέσο σχετικό συστηματικό σφάλμα στις πληθυσμιακές παραμέτρους σ_1 , σ_2 , CL_p , ω_{CL_p} και ω_v ήταν -0.11, -0.06, 0.07, -7.24 και 5.68 αντιστοίχως, ενώ η αντίστοιχη επί τις εκατό σχετική ρίζα του μέσου τετραγωνισμένου σφάλματος ήταν 2.0, 2.9, 7.3, 12.2 και 12.0. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως η μέθοδος είναι ικανή να εκτιμά όλες τις παραμέτρους με ικανοποιητική ορθότητα και πιστότητα. Επίσης, η εσωτερική επικύρωση με τα διαγράμματα VPC έδειξε πως το μοντέλο είναι ισχυρό και περιγράφει καλά τα δεδομένα συμπεριλαμβανομένης της παρατηρούμενης μεταβλητότητας. Ακόμη, η χρήση διαγνωστικών διαγραμμάτων έδειξε πως υπάρχει καλή προσαρμογή του μοντέλου στα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης. Οι εκτιμήσεις των ΦΚ παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης έλαβαν τις ακόλουθες τιμές (τα Τυπικά Σφάλματα φαίνονται στις παρενθέσεις) στο τελικό μοντέλο: $\sigma_1=0.973$ (3.37%), $\sigma_2=0.750$ (3.10%), $CL_p=0.00652$ L/hr (0.0168%), $\omega_{CL_p}=0.0974$ (1.36%), $\omega_v=0.102$ (1.08%) και οι παράμετροι για την υπολειπόμενη μεταβλητότητα ήταν $\sigma_1=0.112$ και $\sigma_2=0.461$.

Καταλήγοντας, μία μεθοδολογία παρουσιάζεται για την εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων χρησιμοποιώντας μόνο τις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος και τα SDs ως προς το χρόνο. Η μεθοδολογία περιγράφει ικανοποιητικά τα προσομοιωμένα δεδομένα, υποδεικνύοντας ότι η απώλεια της πληροφορίας από τη συγκεντροποίηση των δεδομένων μπορεί να ανακτηθεί. Η συγκεκριμένη μέθοδος θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε οποιοδήποτε ΦΚ μοντέλο ώστε να εκτιμηθούν οι PopPK παράμετροι όταν είναι διαθέσιμο μόνο ένα δημοσιευμένο γράφημα με συγκεντρωτικά ΦΚ προφίλ και SDs.

Abstract

The aim of the present study was to develop and assess the performance of a methodology to estimate the population pharmacokinetic (PK) parameters along with the Inter-Individual Variabilities (IIVs) from reported aggregate concentration-time data, in particular mean plasma concentrations and their standard deviations (SDs) versus time, such as those often found in published graphs. This method was applied to published data of gevokizumab, a novel monoclonal anti-interleukin-1 β antibody, in order to estimate population pharmacokinetic (PopPK) parameters of a minimal physiological pharmacokinetic (mPBPK) model.

Firstly, a function was constructed in R based on a second generation mPBPK model that predicts (output) the mean concentrations and their standard deviations from a Monte Carlo (MC) simulation of a number of patients generated from the distributions of the mPBPK model parameters including IIV for some of them (input). The model was parametrized in terms of the vascular reflection coefficients σ_1 and σ_2 for tight and leaky tissues, respectively, drug plasma clearance CL_p , and the IIV terms ω_{CL_p} and ω_v , for the standard deviation of the lognormal distributions of plasma clearance and volume of human body respectively. This function was fitted to data of mean concentrations and SDs in order to estimate the model parameters and their corresponding IIV using Maximum likelihood method with a quasi-Newton optimiser. The patients in the simulations were the same ones at each iteration to avoid discontinuities in the objective function that could cause problems in the gradient based optimization method. Latin Hypercube sampling was used for the MC step to improve speed. More particularly, the function constructed in R predicted the mean concentrations and their SDs from a MC simulation of 60 patients, since this number was found to be comparable to the one (1000) that was initially desirable to be used as input for the MC step.

Also, two separate exponential residual error terms were assumed, one for the means and one for the SDs. To evaluate the performance of the method simulations and estimations were carried out calculating the bias and precision of the estimates, from 1000 simulated datasets. Furthermore representative VPCs from the simulated datasets were plotted. Ultimately, scanned data from literature of gevokizumab were used to estimate the population parameters of an mPBPK model of the drug and the goodness of fit was assessed using diagnostic plots. The entire analysis was performed using R software (Rstudio).

The per cent relative bias in the population parameters σ_1 , σ_2 , CL_p , ω_{CL_p} and ω_v was -0.11, -0.06, 0.07, -7.24 and 5.68 respectively, while the respective per cent relative root mean squared error was 2.0, 2.9, 7.3, 12.2 and 12.0. The results show that the method is capable of estimating all the parameters with satisfactory bias and precision. Also, internal validation of

Abstract

VPC resulted that the model is robust and describes well the data including the observed variability. Moreover, the use of diagnostic plots in the goodness of fit assessment showed that the model fits well the published data of gevokizumab. The estimates of the pharmacokinetic parameters of gevokizumab took the following values (Standard Errors in parentheses) in the final model: $\sigma_1=0.973$ (3.37%), $\sigma_2=0.750$ (3.10%), $CL_p=0.00652$ L/hr (0.0168%), $\omega_{CL_p}=0.0974$ (1.36%), $\omega_v=0.102$ (1.08%) and residual error parameters were $\sigma_{\epsilon_1}=0.112$ and $\sigma_{\epsilon_2}=0.461$.

Conclusively, a methodology is presented to estimate population pharmacokinetic parameters using only patients' mean plasma concentrations and their SDs versus time. The methodology describes adequately simulated data, indicating that the loss of information from averaging can be recovered. This method could be applied to any PK model in order to estimate PopPK parameters when only a published graph with aggregate PK profile and SDs is available.

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Φαρμακοκινητική και Μοντελοποίηση

Σκοπός χορήγησης ενός φαρμάκου είναι να ασκηθεί η φαρμακολογική του δράση στον ασθενή ώστε αυτός να έχει το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αρχικά, το φάρμακο απορροφάται από το σημείο χορήγησης, φτάνει στη γενική κυκλοφορία, κατανέμεται στους ιστούς και προσεγγίζει τελικώς τη θέση-στόχο δράσης. Συγχρόνως, από τη στιγμή της χορήγησης ξεκινά και η απομάκρυνση του φαρμάκου από τον οργανισμό. Η φαρμακοκινητική (ΦΚ) συνιστά τον κλάδο της φαρμακολογίας που σχετίζεται με τις διαδικασίες που υφίσταται το φάρμακο από τη στιγμή της εισόδου του στον άνθρωπο μέχρι και την τελική του απομάκρυνση από αυτόν. Οι ποσοτικοποιημένες αυτές διαδικασίες καθορίζουν εν τέλει την ποσότητα του φαρμάκου που φτάνει στη θέση-στόχο δράσης αλλά και το χρονικό διάστημα κατά το οποίο το φάρμακο παραμένει εκεί.

Η γνώση των ΦΚ χαρακτηριστικών ενός φαρμάκου συμβάλλει καθοριστικά στην ορθή κλινική πράξη. Είναι απαραίτητο τόσο τα επίπεδα των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο αίμα να είναι άνω κάποιας συγκεκριμένης τιμής, έτσι ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό φαρμακολογικό αποτέλεσμα, όσο και τα επίπεδα αυτά να μην ξεπεράσουν μία άλλη συγκεκριμένη τιμή, καθώς τότε ενδέχεται να εκδηλωθούν ανεπιθύμητες ενέργειες και τοξικότητα του φαρμάκου. Για παράδειγμα είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζουμε το χρόνο ημιζωής ενός φαρμάκου-μία ΦΚ παράμετρο ορισμένη ως ο απαιτούμενος χρόνος ώστε να υποδιπλασιαστεί η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα- για να καθορίσουμε τη δόση και τη συχνότητα χορήγησης αυτού.

Η ΦΚ μελέτη και ανάλυση στηρίζεται σε δεδομένα συγκέντρωσης του φαρμάκου ως προς το χρόνο σε βιολογικά υγρά, κυρίως αίμα. Αρχικά χορηγείται σε ένα πειραματόζωο ή στον άνθρωπο μία καθορισμένη δόση ενός φαρμάκου και έπειτα γίνεται η μέτρηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο εν λόγω βιολογικό υγρό σε διάφορους καθορισμένους χρόνους. Σκοπός αυτής της μελέτης είναι η σύνοψη της περιεχόμενης πληροφορίας των αρχικών δεδομένων σε κάποιες ΦΚ παραμέτρους, οι οποίες θα έχουν φυσική σημασία και θα είναι συγκρίσιμες. Οι τρόποι ανάλυσης των δεδομένων είναι δύο (*Gillespie, 1991*):

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1. Μη Διαμερισματική Ανάλυση (Non Compartmental Analysis - NCA)
2. Διαμερισματική ΦΚ Ανάλυση (Compartmental PK Analysis)

Η Μη Διαμερισματική Ανάλυση αναλύει τα δεδομένα ανεξαρτήτως κάποιου μοντέλου (model independent method). Ακόμη, η Μη Διαμερισματική Ανάλυση υποθέτει πως η συνολική έκθεση στο φάρμακο, μέτρο της οποίας είναι η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης χρόνου (Area Under the Curve-AUC), είναι ανάλογη της δόσης (αρχή της γραμμικότητας). Σκοπός της είναι ο υπολογισμός βασικών ΦΚ παραμέτρων που χαρακτηρίζουν την απορρόφηση, την κατανομή και την απομάκρυνση του φαρμάκου.

Πιο συγκεκριμένα η Μη Διαμερισματική Ανάλυση (Muir & Gomeni, 2004) είναι ένα κύριο εργαλείο για την εξαγωγή των ΦΚ παραμέτρων χωρίς την απαίτηση πολλών υποθέσεων. Η βασική υπόθεση που γίνεται είναι πως υπάρχει γραμμική κινητική τόσο στη διαδικασία της κατανομής όσο και στη διαδικασία της απομάκρυνσης για όλο το φάσμα των δόσεων. Αυτό συνεπάγεται πως οι αντίστοιχοι ρυθμοί είναι πρωτοταξικοί και συνεπώς ανάλογοι των συγκεντρώσεων του φαρμάκου. Επίσης υποτίθεται πως η σωματική κάθαρση, δηλαδή ο όγκος του αίματος που καθαίρεται στη μονάδα του χρόνου, η οποία είναι μία βασική ΦΚ παράμετρος που εκφράζει την απομάκρυνση του φαρμάκου από το σώμα, διατηρείται σταθερή ανεξαρτήτως της δόσεως ή του χρόνου. Στη Μη Διαμερισματική Ανάλυση από τα δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου ενός ατόμου υπολογίζονται οι εξής βασικές ΦΚ παράμετροι:

- C_{max} : η μέγιστη συγκέντρωση που μετρείται
- T_{max} : ο χρόνος που αντιστοιχεί στη C_{max}
- λ_z : ο τελικός ρυθμός απομάκρυνσης
- $t_{1/2}$: ο φαινόμενος χρόνος ημιζωής
- AUC: η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης ως προς το χρόνο. Το AUC εκφράζει την έκταση της έκθεσης στο φάρμακο.

Στον αντίποδα, η Διαμερισματική ΦΚ Ανάλυση πραγματοποιείται με τη χρήση μαθηματικών μοντέλων, δηλαδή μαθηματικών εξισώσεων, που περιγράφουν ποσοτικά μία διαδικασία. Στην περίπτωση αυτή, το μοντέλο προσαρμόζεται στα δεδομένα και γίνεται εκτίμηση των ΦΚ παραμέτρων. Για τον ορισμό ενός ΦΚ μοντέλου γίνονται κάποιες υποθέσεις όσον αφορά την κινητική των διαδικασιών που υφίσταται το φάρμακο μέσα στον οργανισμό. Κατ' αυτόν τον τρόπο μειώνονται τα απαιτούμενα δεδομένα, συγκριτικά με τη Μη Διαμερισματική Ανάλυση, για την εκτίμηση των ΦΚ παραμέτρων, διότι εκ των προτέρων οι υποθέσεις αυτές παίζουν το ρόλο a priori γνώσης.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Επιπλέον, στη Διαμερισματική ΦΚ Ανάλυση ένα αναπτυσσόμενο μοντέλο βασίζεται κυρίως στα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα (data driven model development) (Bonate & Peter, 2006). Στην περίπτωση που απώτερος σκοπός είναι να προσδιοριστεί το υπό μελέτη μοντέλο χωρίς να περιγραφούν αναλυτικά όλες οι διαδικασίες που υφίσταται το φάρμακο τότε το μοντέλο ονομάζεται εμπειρικό. Αντιθέτως, όταν είναι γνωστές οι φυσιολογικές-βιολογικές διαδικασίες (knowledge-driven approach) και η περιγραφή γίνεται με βάση όλα τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα, τότε το μοντέλο χαρακτηρίζεται ως μηχανιστικό (Nestorov, 2003).

Επίσης, στη Διαμερισματική Φαρμακοκινητική Ανάλυση το φάρμακο θεωρείται ότι κατανέμεται σε έναν αριθμό διαμερισμάτων (Μαχαίρας & Συμλλίδου, 2007). Ως διαμέρισμα ορίζεται ένα κινητικά ομοιογενές μέρος του σώματος, όχι ανατομικά καθορισμένο. Με τον όρο κινητική ομοιογένεια εννοούμε πως σε κάθε σημείο μέσα στο διαμέρισμα ο ρυθμός μεταβολής της ποσότητας του φαρμάκου είναι ο ίδιος. Τα πιο κοινά εμπειρικά διαμερισματικά μοντέλα είναι το μονο-διαμερισματικό, όπου όλος ο οργανισμός αντιστοιχεί σε έναν κινητικά ομοιογενή χώρο-διαμέρισμα, και το δι-διαμερισματικό, όπου ο οργανισμός αντιστοιχεί σε δύο διαφορετικούς χώρους. Ο αριθμός των απαιτούμενων διαμερισμάτων για την περιγραφή της κατανομής του φαρμάκου, και συνεπώς η πολυπλοκότητα του μοντέλου, προκύπτει από τα δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου (data driven development), καθώς από αυτά προέρχεται η πληροφορία για την εκτίμηση των παραμέτρων.

Στη Διαμερισματική ΦΚ Ανάλυση πρέπει, ακόμη, να γίνουν κάποιες υποθέσεις αναφορικά με την είσοδο και την έξοδο του φαρμάκου από το διαμέρισμα. Συνήθως θεωρείται πως οι συγκεκριμένες διαδικασίες έχουν πρωτοταξικές κινητικές και συνεπώς οι ρυθμοί εισόδου και εξόδου κάθε χρονική στιγμή είναι ανάλογοι της ποσότητας του φαρμάκου στο διαμέρισμα. Αυτές οι εξισώσεις αποτελούν το φαρμακοκινητικό μοντέλο, ενώ το μοντέλο χαρακτηρίζεται από τις ΦΚ παραμέτρους του οι οποίες έχουν φυσική σημασία και ονομάζονται διαμερισματικές ΦΚ παράμετροι. Προσαρμόζοντας το μοντέλο στα δεδομένα μπορούν να εκτιμηθούν οι τιμές των παραμέτρων. Για παράδειγμα στην περίπτωση του απλού μονοδιαμερισματικού μοντέλου με γραμμική κινητική απορρόφησης και απομάκρυνσης η συγκέντρωση C του φαρμάκου στο αίμα ως προς το χρόνο t δίνεται από την εξίσωση:

$$C = \frac{F * D * ka}{V * (ka - \frac{CL}{V})} * \left(\exp\left(-\frac{CL}{V} t\right) - \exp(-ka * t) \right) \quad 1.1$$

Όπου F είναι η βιοδιαθεσιμότητα, D η δόση, ka η σταθερά του ρυθμού απορρόφησης, CL η σωματική κάθαρση και V ο όγκος του συνολικού διαμερίσματος. Οι παράμετροι ka, CL και V αποτελούν τις διαμερισματικές ΦΚ παραμέτρους.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Αξίζει να σημειωθεί πως τα βιολογικά συστήματα είναι αρκετά πολύπλοκα και συνεπώς οι διαδικασίες που υφίσταται το φάρμακο μέσα σε αυτά δεν μπορεί σχεδόν ποτέ να είναι πλήρως χαρακτηρισμένες. Έτσι, τα μοντέλα αποτελούν μία προσεγγιστική περιγραφή των διαδικασιών αυτών, διατηρώντας όμως πάντα τα κύρια χαρακτηριστικά τους. Συνεπώς σκοπός δεν είναι η ανάπτυξη του απόλυτα σωστού μοντέλου, αλλά η ανάπτυξη ενός μοντέλου που θα εξυπηρετεί μία συγκεκριμένη λειτουργία. Η λειτουργία αυτή είναι που θα καθορίσει και τις αρχικές υποθέσεις καθώς και την τελική μορφή του μοντέλου. Κάποιες λειτουργίες μπορεί να είναι η κατανόηση φυσιολογικών διεργασιών, η πραγματοποίηση προβλέψεων ή ο σχεδιασμός επόμενων βέλτιστων πειραμάτων και κλινικών μελετών. Καταλήγοντας ένα ΦΚ μοντέλο δε θα πρέπει να είναι ούτε υπεραπλουστευμένο, ώστε να είναι ικανό να περιγράψει τις τάσεις των πειραματικών δεδομένων, αλλά ούτε και υπερβολικά πολύπλοκο, ώστε να εκτιμά τις ΦΚ παραμέτρους με ακρίβεια. Κάποιες βασικές αρχές ανάπτυξης ενός μοντέλου παρουσιάζονται εν συνεχεία (Bonate & Peter, 2006).

1.1.1 Ανάπτυξη μοντέλου

Γενικά, τα μοντέλα που περιγράφουν την κινητική των φαρμάκων είναι μαθηματικές εξισώσεις που περιγράφουν ένα σύστημα βιολογικών διεργασιών. Τα μοντέλα αναπτύσσονται με βάση τις γνώσεις που διαθέτουμε για αυτό το βιολογικό σύστημα καθώς και τις πληροφορίες που μας παρέχουν τα πειραματικά δεδομένα. Τα πειραματικά δεδομένα είναι μία συνάρτηση των παραμέτρων που καθορίζουν τις διεργασίες στο βιολογικό σύστημα καθώς και τον τρόπο σύμφωνα με τον οποίο λήφθηκαν τα δεδομένα αυτά, περιέχουν δηλαδή τυχαίο σφάλμα. Συνεπώς, το μοντέλο αποτελείται από δύο στοιχεία: i) την απόκριση του βιολογικού συστήματος στο φάρμακο - το λεγόμενο δομικό μοντέλο (structural model) και ii) ένα στατιστικό μοντέλο σχετιζόμενο με το θόρυβο - το λεγόμενο μοντέλο σφάλματος (variance model) (Bonate & Peter, 2006). Η ύπαρξη της τυχαίας μεταβλητότητας είναι που κάνει τα μοντέλα στοχαστικά.

Μαθηματικά έχουμε:

$$Y_j = \hat{Y}_j + \varepsilon \text{ για τους διάφορους χρόνους } j \quad 1.1.1-1$$

όπου Y_j : πειραματικά δεδομένα-μετρήσεις (εξαρτημένη μεταβλητή),

\hat{Y}_j : το δομικό μοντέλο με $\hat{Y}_j = f(\xi, t_j)$ και

ε : σφάλμα.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Σημειώνεται πως στο δομικό μοντέλο \dot{Y}_j το f είναι το μη γραμμικό μοντέλο. Για παράδειγμα, η λύση της παρακάτω γραμμικής διαφορικής εξίσωσης πρώτης τάξεως:

$$\frac{df}{dt} = a * f(t) + b \quad 1.1.1-2$$

είναι ένα μη γραμμικό εκθετικό μοντέλο.

Επίσης, ξ είναι οι ΦΚ παράμετροι του μοντέλου και t_j είναι ο χρόνος τη στιγμή j (ανεξάρτητη μεταβλητή) (Δοκουμετζίδης, 2017-2018).

Σκοπός της ανάπτυξης ενός μαθηματικού μοντέλου είναι η εύρεση του μοντέλου εκείνου που περιγράφει καταλληλότερα τα δεδομένα. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει κάποια στάδια τα οποία επαναλαμβάνονται μέχρι να βρεθεί το κατάλληλο μοντέλο (Bonate & Peter, 2006). Αρχικά, ένα βασικό μοντέλο επιλέγεται για την ανάλυση και αξιολογείται. Αν βρεθεί πως το συγκεκριμένο μοντέλο δεν είναι επαρκές, τότε προτείνεται ένα νέο μοντέλο και αξιολογείται και πάλι. Το τελικό μοντέλο επικυρώνεται με σκοπό την εξέταση της προβλεπτικότητάς του.

Τα στάδια που ακολουθούνται είναι τα εξής:

1. Επιλογή του αρχικού μοντέλου
2. Προσαρμογή του μοντέλου
3. Αξιολόγηση – Επικύρωση του μοντέλου
4. Αναθεώρηση του μοντέλου αν απαιτείται

Συνοπτικά, αρχικά πραγματοποιούνται κάποιες υποθέσεις όσον αφορά το δομικό μοντέλο και το μοντέλο σφάλματος και επιλέγεται ένα πιθανό μοντέλο, βάσει της αρχικής επεξεργασίας των δεδομένων. Το πιθανό αυτό μοντέλο έπειτα προσαρμόζεται στα δεδομένα. Η μέθοδος προσαρμογής που θα εφαρμοστεί εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του μοντέλου και στοχεύει στην εκτίμηση των ΦΚ παραμέτρων. Στη φαρμακοκινητική ανάλυση τα μοντέλα είναι μη γραμμικά οπότε εφαρμόζεται η μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης, που περιγράφεται στη συνέχεια. Ακολούθως, αξιολογείται το μοντέλο με διαγνωστικά-γραφικά εργαλεία και ελέγχεται αν τηρούνται οι αρχικές υποθέσεις που είχαν πραγματοποιηθεί. Αν το μοντέλο δεν είναι κατάλληλο, τροποποιούνται οι αρχικές υποθέσεις και επαναλαμβάνεται η διαδικασία. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα προηγούμενα στάδια αναλυτικότερα.

1.1.1.1 Επιλογή του αρχικού μοντέλου

Το πρώτο στάδιο ανάπτυξης ενός μαθηματικού μοντέλου είναι η επιλογή ενός αρχικού μοντέλου. Αρχικά ορίζεται το δομικό μοντέλο f το οποίο συνήθως επιλέγεται είτε από μία

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

ανάλυση και προεργασία των πειραματικών δεδομένων που φανερώνουν μία γενικότερη τάση είτε από προγενέστερη γνώση που υπάρχει για το βιολογικό σύστημα. Επίσης ορίζεται το μοντέλο σφάλματος για την περιγραφή της τυχαίας μεταβλητότητας στα δεδομένα. Το μοντέλο σφάλματος αποτελεί το στοχαστικό μέρος του μαθηματικού μοντέλου, καθώς το σφάλμα θεωρείται μία τυχαία μεταβλητή που ακολουθεί κάποια παραμετρική κατανομή. Υπάρχουν διαφορετικά μοντέλα σφάλματος τα οποία θα περιγραφούν στη συνέχεια (Δοκουμετζίδης, 2017-18; Anne-Gaëlle Dosne et al., 2016):

1. Το ομοσκεδαστικό μοντέλο σφάλματος: Το σφάλμα θεωρείται πως είναι σταθερό, έχει δηλαδή σταθερή διακύμανση-τυπική απόκλιση και καλείται αθροιστικό σφάλμα. Έτσι, έχουμε:

$$Y_j = \hat{Y}_j + \varepsilon_{\text{intercept}-j} \quad 1.1.1-3$$

όπου $\varepsilon_{\text{intercept}-j}$ τυχαία μεταβλητή που ακολουθεί την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση $\sigma_{\text{intercept}}^2$. Η διακύμανση του Y_j τις διάφορες χρονικές στιγμές j είναι:

$$\text{Var}(Y_j) = \sigma_{\text{intercept}}^2 \quad 1.1.1-4$$

Πλεονέκτημα του αθροιστικού σφάλματος είναι πως ερμηνεύει συστηματικά σφάλματα λόγω της διακριτικής ικανότητας οργάνων. Έχει όμως και κάποια μειονεκτήματα. Υπερεκτιμά το σφάλμα όταν η προβλεπόμενη τιμή του \hat{Y}_j είναι μικρή, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές συγκεντρώσεις όταν χρησιμοποιείται σε ΦΚ δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου.

2. Το ετεροσκεδαστικό μοντέλο σφάλματος: Όταν δεν ισχύει η υπόθεση της ομοσκεδαστικότητας, δηλαδή η διακύμανση του σφάλματος δεν είναι σταθερή, τότε το μοντέλο σφάλματος ονομάζεται ετεροσκεδαστικό. Υπάρχουν πολλών ειδών ετεροσκεδαστικά μοντέλα σφάλματος, από τα οποία θα αναφερθούν στη συνέχεια το αναλογικό και το εκθετικό.

Το ετεροσκεδαστικό μοντέλο σφάλματος αρχικά περιγράφεται από την εξίσωση:

$$Y_j = \hat{Y}_j + (\hat{Y}_j)^\zeta * \varepsilon_{\text{slope}-j} \quad 1.1.1-5$$

όπου $\varepsilon_{\text{slope}-j}$ τυχαία μεταβλητή που ακολουθεί την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ_{slope}^2 , ενώ ζ είναι μία δυναμική παράμετρος. Η διακύμανση του Y_j τις διάφορες χρονικές στιγμές j είναι:

$$\text{Var}(Y_j) = (\hat{Y}_j)^{2\zeta} * \sigma_{\text{slope}}^2 \quad 1.1.1-6$$

Το σφάλμα αυξάνεται με την αύξηση της τιμής του δομικού μοντέλου όπως φαίνεται από την προηγούμενη σχέση. Επίσης, αν $\zeta=0$ τότε η διακύμανση του σφάλματος είναι σταθερή

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

(ομοσκεδαστικό σφάλμα), ενώ στην περίπτωση που $\zeta=1$ τότε το μοντέλο σφάλματος ονομάζεται αναλογικό.

Έτσι, λοιπόν, το αναλογικό μοντέλο σφάλματος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$Y_j = \hat{Y}_j + (\hat{Y}_j) * \varepsilon_{\text{slope}-j} \quad 1.1.1-7$$

ενώ η διακύμανση του Y_j είναι:

$$\text{Var}(Y_j) = \hat{Y}_j^2 * \sigma_{\text{slope}}^2 \quad 1.1.1-8$$

Στην περίπτωση αυτή το αναλογικό σφάλμα δεν έχει μονάδες τυπικής απόκλισης όπως το αθροιστικό, αλλά είναι ανάλογο της εξαρτημένης μεταβλητής Y_j και έχει μονάδες ποσοστού επί το μοντέλο. Ακόμη, στο αναλογικό σφάλμα ο συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation, CV) παραμένει σταθερός. Εδώ, το βάρος που δίνεται στα δεδομένα κατά την προσαρμογή είναι αντιστρόφως ανάλογο της προβλεπόμενης τιμής από το μοντέλο. Κατ' αυτόν τον τρόπο για μεγάλες τιμές του δομικού μοντέλου επιτρέπεται μεγαλύτερο σφάλμα ενώ για πολύ μικρές το σφάλμα τείνει στο 0. Πλεονέκτημα του αναλογικού σφάλματος είναι πως μπορεί να ερμηνεύσει συσσωρευτικά σφάλματα από πολλούς παράγοντες που δρουν πολλαπλασιαστικά. Μειονέκτημά του είναι πως υποεκτιμά το σφάλμα σε μικρές προβλεπόμενες τιμές από το μοντέλο και επίσης θεωρεί πως το σφάλμα για τιμή του μοντέλου 0 είναι 0, πράγμα αβάσιμο.

Ένα άλλο είδος ετεροσκεδαστικού μοντέλου σφάλματος είναι το εκθετικό σφάλμα το οποίο, όπως και το αναλογικό, υποθέτει πως όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή τόσο μεγαλύτερο και το σφάλμα. Το εκθετικό μοντέλο σφάλματος είναι παρόμοιο με το αναλογικό αλλά όχι ακριβώς ίδιο.

Το εκθετικό μοντέλο σφάλματος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$Y_j = \hat{Y}_j * \exp(\varepsilon_{\text{slope}-j}) \quad 1.1.1-9$$

Αφού το $\varepsilon_{\text{slope}-j}$ ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ_{slope}^2 το $\exp(\varepsilon_{\text{slope}-j})$ ακολουθεί λογαριθμο-κανονική (lognormal) κατανομή με γεωμετρικό μέσο 1 και διακύμανση σ_{slope}^2 . Λογαριθμίζοντας τα δεδομένα και το μοντέλο, το εκθετικό σφάλμα μετατρέπεται εύκολα σε αθροιστικό, χωρίς φυσικά να χάνει τις ιδιότητές του:

$$\ln(Y_j) = \ln(\hat{Y}_j) + \varepsilon_{\text{slope}-j} \quad 1.1.1-10$$

Σημειώνεται πως το εκθετικό σφάλμα είναι πολύ ευνοϊκό σε μαθηματικά μοντέλα συγκέντρωσης καθώς οι τιμές της συγκέντρωσης είναι πάντα θετικές, γεγονός που

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

επιτυγχάνεται πολλαπλασιάζοντας κάθε προβλεπόμενη θετική τιμή συγκέντρωσης \hat{Y}_j με το θετικό όρο $\exp(\varepsilon_{\text{slope}-j})$.

3. Το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος: Το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος αποτελεί συνδυασμό του αθροιστικού και του αναλογικού σφάλματος.

Έτσι, λοιπόν, το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$Y_j = \hat{Y}_j * (1 + \varepsilon_{\text{slope}-j}) + \varepsilon_{\text{intercept}-j} \quad 1.1.1-11$$

ενώ η διακύμανση του Y_j είναι:

$$\text{Var}(Y_j) = (\hat{Y}_j)^2 * \sigma_{\text{slope}}^2 + \sigma_{\text{intercept}}^2 \quad 1.1.1-12$$

Σημειώνεται πως τα $\varepsilon_{\text{slope}-j}$ και $\varepsilon_{\text{intercept}-j}$ είναι ανεξάρτητα.

Το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος είναι αρκετά δημοφιλές στη ΦΚ γιατί επιτρέπει το σφάλμα να είναι ανάλογο του δομικού μοντέλου για μεγαλύτερες τιμές, ενώ συγχρόνως δεν μηδενίζεται για τις μικρότερες τιμές, διότι ακόμη και αυτές μετρούνται με κάποια αβεβαιότητα – είναι δηλαδή αρκετά ρεαλιστικό. Ωστόσο εισάγει άλλη μια παράμετρο προς εκτίμηση.

Αφού γίνει η επιλογή του δομικού μοντέλου και του μοντέλου σφάλματος, στη συνέχεια πραγματοποιείται η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα.

1.1.1.2 Προσαρμογή του μοντέλου

Αρχικά γίνεται μία αναφορά στην γραμμική και τη μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης, που αποτελούν βασικά εργαλεία στην προσαρμογή ενός μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα (model fitting). Όταν λοιπόν η σχέση μεταξύ εξαρτημένης και ανεξάρτητων μεταβλητών είναι γραμμική, εφαρμόζεται η γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (linear regression). Στην περίπτωση αυτή (Συμλλίδου, 2018-19) επιχειρείται η προσαρμογή της εξίσωσης της ευθείας $\hat{Y}_i = a + b * X_i$ στα δεδομένα Y_i και η εύρεση της «άριστης» ευθείας με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Ουσιαστικά, εκτιμώνται οι παράμετροι a και b της ευθείας. «Άριστη» ευθεία θεωρείται εκείνη που ελαχιστοποιεί τις κάθετες αποκλίσεις των σημείων από την ευθεία που προσαρμόζεται σε αυτά και βρίσκεται ελαχιστοποιώντας την αντικειμενική συνάρτηση (objective function) η οποία ορίζεται ως εξής:

$$F(a, b) = \sum_{i=1}^n d_i^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2 = \sum_{i=1}^n [Y_i - (a + bX_i)]^2 \quad 1.1.1-13$$

Όπου Y_i : οι παρατηρήσεις – τιμές της μεταβλητής Y για κάθε τιμή X_i

\hat{Y}_i : οι Y που εκτιμώνται με βάση την «άριστη» ευθεία

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

d_i : οι κάθετες αποκλίσεις των σημείων από την ευθεία, δηλαδή οι αποκλίσεις των Y_i από τα \hat{Y}_i

n : το πλήθος των σημείων

Η ελαχιστοποίηση της σχέσεως αυτής επιτυγχάνεται με την εξίσωση των μερικών παραγώγων της συνάρτησης F ως προς a και b με το μηδέν:

$$\frac{\partial F}{\partial a} = 0 \quad \text{και} \quad \frac{\partial F}{\partial b} = 0$$

$$\text{Συνεπώς:} \quad \frac{\partial F}{\partial a} = \sum_{i=1}^n [-2(Y_i - a - bX_i)] = 0 \quad 1.1.1-14$$

$$\text{και} \quad \frac{\partial F}{\partial b} = \sum_{i=1}^n [-2X_i(Y_i - a - bX_i)] = 0 \quad 1.1.1-15$$

Οι δύο τελευταίες σχέσεις που προκύπτουν αποτελούν ένα σύστημα δύο εξισώσεων με 2 αγνώστους, η επίλυση του οποίου δίνει τις σχέσεις που επιτρέπουν την εκτίμηση των παραμέτρων της ζητούμενης ευθείας.

Στη ΦΚ τα δομικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται είναι μη γραμμικά και συνεπώς εφαρμόζεται η μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (nonlinear regression analysis) (Κεχαγιά, 2014; Δοκουμετζίδης, 2017-18). Στη μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης για την ελαχιστοποίηση της αντικειμενικής συνάρτησης δεν υπάρχει αναλυτική λύση όπως στη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης. Εδώ η προσαρμογή του μοντέλου είναι ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης που λύνεται με αριθμητικό τρόπο μέσω ενός επαναληπτικού υπολογιστικού αλγορίθμου που σκοπό έχει την εύρεση της ελάχιστης τιμής της αντικειμενικής συνάρτησης. Υπάρχουν διάφοροι αλγόριθμοι βελτιστοποίησης, των οποίων βασικό χαρακτηριστικό είναι ο υπολογισμός της αντικειμενικής συνάρτησης για διάφορες τιμές των παραμέτρων μέχρι να επαληθευτεί κάποιο κριτήριο τερματισμού. Επαναληπτική διαδικασία σημαίνει πως ο αλγόριθμος κάνει τα εξής βήματα:

1. Ξεκινάει με κάποιες αρχικές τιμές για τις παραμέτρους ξ_0 .
2. Υπολογίζει την αντικειμενική συνάρτηση.
3. Υπολογίζει, ανάλογα με τον τύπο του αλγορίθμου κάποιες επιπλέον βοηθητικές συναρτήσεις.
4. Με βάση τα βήματα 2 και 3 μεταβάλλει τις τιμές των ξ σε νέες τιμές ξ_1 .
5. Αξιολογεί διάφορα κριτήρια τερματισμού με βάση τα βήματα 2, 3, 4 και επιπλέον κριτήρια, όπως για παράδειγμα το μέγιστο αριθμό επαναλήψεων.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

6. Αν κανένα από τα κριτήρια τερματισμού δεν πληρούνται επανέρχεται στο βήμα 2, για $\xi_0 = \xi_1$.

7. Αν κάποιο από τα κριτήρια πληρείται τερματίζει και αναφέρει τις τελικές τιμές των ξ και μια σειρά στατιστικών και διαγνωστικών παραμέτρων.

Ανάλογα με τον τρόπο που επιλέγονται οι νέες τιμές των παραμέτρων ξ_1 (βήμα 4) (Bonate & Peter, 2006) οι αλγόριθμοι διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

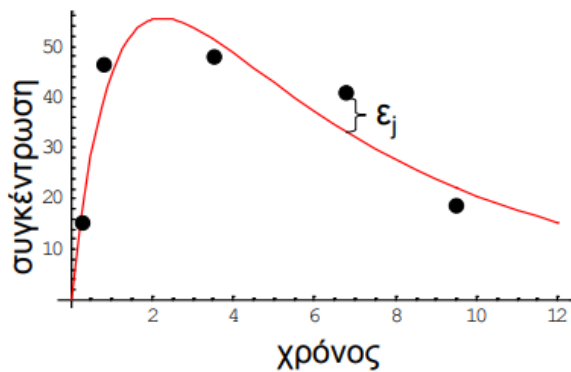
- Αλγόριθμοι που βασίζονται στην κλίση της αντικειμενικής συνάρτησης υπολογισμένης στις τιμές των παραμέτρων ξ (gradient based algorithms).
- Αλγόριθμοι που υπολογίζουν μόνο την τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης (derivative free algorithms).

Σκοπός της προσαρμογής του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα είναι η εκτίμηση των παραμέτρων του μοντέλου (παράμετροι του δομικού μοντέλου ξ και παράμετροι του μοντέλου σφάλματος) καθώς και η εκτίμηση της αβεβαιότητας με την οποία εκτιμώνται οι παράμετροι αυτοί (Κεχαγιά, 2012). Η προσαρμογή γίνεται με ανάλυση παλινδρόμησης (regression analysis) (Bonate & Peter, 2006). Όπως προαναφέρθηκε στην ανάλυση παλινδρόμησης σκοπός είναι να εκτιμηθούν οι παράμετροι ώστε το μοντέλο να περιγράφει όσο το δυνατόν καλύτερα τα δεδομένα. Αν Y_j είναι τα πειραματικά δεδομένα τις διάφορες χρονικές στιγμές j και $\hat{Y}_j = f(\xi, t_j)$ οι τιμές που προβλέπει το μοντέλο, όπου ξ οι ανεξάρτητες μεταβλητές, τότε πρέπει να βρεθούν οι εκτιμήτριες των παραμέτρων ξ , $\hat{\xi}$ έτσι ώστε τα \hat{Y}_j να είναι όσο το δυνατόν πιο κοντά στα Y_j . Το «κοντά» ορίζεται από ένα κριτήριο απόστασης, που καλείται όπως είδαμε προηγουμένως αντικειμενική συνάρτηση.

Η εκτίμηση των παραμέτρων του μοντέλου μπορεί να γίνει είτε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων (ordinary least squares, OLS) είτε με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας (maximum likelihood estimation), ανάλογα με τις υποθέσεις που γίνονται. Οι μέθοδοι αυτοί αναλύονται στη συνέχεια (Δοκουμετζίδης 2017-18).

Στη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων (μη γραμμική μέθοδος) δεν γίνεται κάποια υπόθεση για την κατανομή των σφαλμάτων και η εκτίμηση των παραμέτρων πραγματοποιείται ελαχιστοποιώντας τα αθροίσματα των τετραγώνων των υπολοίπων (residuals). Ως υπόλοιπα ορίζεται η διαφορά: $\varepsilon_j = Y_j - \hat{Y}_j$ (από τη σχέση 1.1.1-1), όπως φαίνεται στο σχήμα 1.1.1-1.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή



$$\hat{Y}_j = f(\xi, t_j)$$

$$\varepsilon_j = Y_j - \hat{Y}_j$$

Σχήμα 1.1.1-1: Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων

Η περίπτωση αυτή αντιστοιχεί στο αθροιστικό μοντέλο σφάλματος και η αντικειμενική συνάρτηση ορίζεται ως εξής:

$$F(\xi) = \sum_{j=1}^n \varepsilon_j^2 = \sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2 = \sum_{i=1}^n [Y_i - f(\xi, t_j)]^2 \quad 1.1.1-16$$

όπου f : το μη γραμμικό μοντέλο

Y : μετρήσεις (εξηρητημένη μεταβλητή)

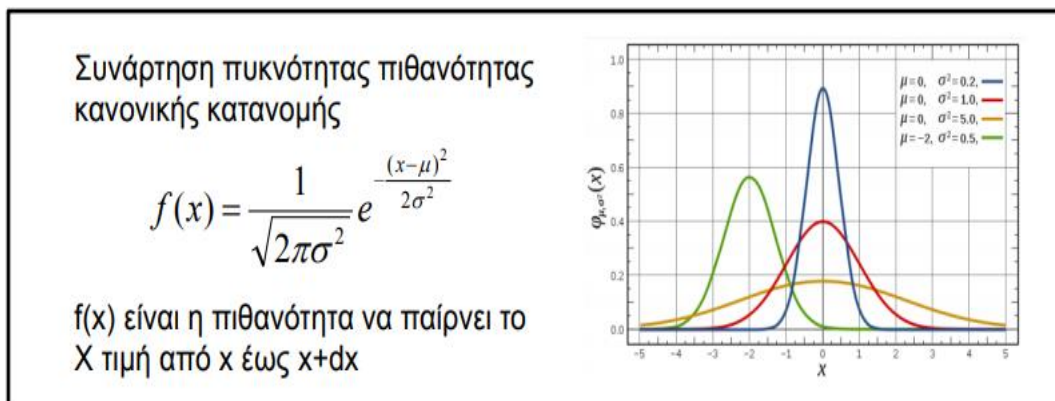
t : χρόνος (ανεξάρτητη μεταβλητή)

ξ : παράμετροι του μοντέλου

F : αντικειμενική συνάρτηση

Σκοπός μας είναι η εύρεση των τιμών των παραμέτρων ξ για τις οποίες η αντικειμενική συνάρτηση F παίρνει την ελάχιστη τιμή.

Στη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας κάνουμε την υπόθεση πως η πιθανότητα το ε_j (ή το Y_j) να παίρνει μια συγκεκριμένη τιμή ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 (ή \hat{Y}_j) και τυπική απόκλιση $\text{Var}(Y_j)$, όπως ορίστηκε για τα διάφορα μοντέλα σφάλματος προηγουμένως.



Σχήμα 1.1.1-2: Συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας κανονικής κατανομής

Η πιθανότητα για ένα σημείο να έχει τιμή Y_j ονομάζεται πιθανοφάνεια (likelihood)

$$L(Y_j|\xi, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(Y_j - \xi)^2}{2\sigma^2}} \quad 1.1.1-17$$

Αν οι πιθανοφάνειες πολλών σημείων είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους, τότε η πιθανοφάνεια για όλα τα σημεία θα είναι το γινόμενο τους:

$$L(Y|\xi, \sigma) = L(Y_1|\xi, \sigma_1) \times L(Y_2|\xi, \sigma_2) \times \dots \times L(Y_n|\xi, \sigma_n) = \prod_{j=1}^n L(Y_j|\xi, \sigma_j)$$

$$\text{Οπότε: } L(Y|\xi, \sigma) = \prod_{j=1}^n \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_j^2}} e^{-\frac{(Y_j - \xi)^2}{2\sigma_j^2}} \quad 1.1.1-18$$

Σκοπός μας είναι να βρούμε τις τιμές των παραμέτρων ξ και σ για τις οποίες η πιθανοφάνεια L είναι μέγιστη, δηλαδή η περισσότερο πιθανή. Όταν $\sigma_j = \sigma$ για όλα τα χρονικά σημεία j έχουμε:

$$L(Y|\xi, \sigma) = \left(\frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}}\right)^n \prod_{j=1}^n e^{-\frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{2\sigma^2}} = (2\pi)^{-\frac{n}{2}} (\sigma^2)^{-\frac{n}{2}} \prod_{j=1}^n e^{-\frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{2\sigma^2}} \quad 1.1.1-19$$

Λογαριθμίζοντας την πιθανοφάνεια L παίρνουμε το log-likelihood $LL = \ln(L)$

$$LL(Y|\xi, \sigma) = -\frac{n}{2} \ln(2\pi) - \frac{n}{2} \ln(\sigma^2) - \frac{1}{2\sigma^2} \sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2 \quad 1.1.1-20$$

Πολλαπλασιάζοντας και τα δύο μέλη της προηγούμενης εξίσωσης (1.1.1-20) με το -2 (αρνητικός αριθμός για να αναζητήσουμε την ελάχιστη τιμή έπειτα κατ' αντιστοιχία με τα ελάχιστα τετράγωνα) έχουμε:

$$-2LL(Y|\xi, \sigma) = n \ln(2\pi) + n \ln(\sigma^2) + \frac{1}{\sigma^2} \sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2 \quad 1.1.1-21$$

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Σκοπός μας λοιπόν τώρα είναι να βρούμε τις τιμές των παραμέτρων ξ και σ για τις οποίες η $-2LL$ ελαχιστοποιείται.

$$\text{Η } -2LL \text{ ελαχιστοποιείται όταν } \frac{\partial(-2LL(Y|\xi,\sigma))}{\partial\xi} = 0 \quad \text{και} \quad \frac{\partial(-2LL(Y|\xi,\sigma))}{\partial\sigma} = 0$$

Από τη σχέση $\frac{\partial(-2LL(Y|\xi,\sigma))}{\partial\sigma} = 0$ έχουμε:

$$\frac{2 \cdot n}{\sigma} - 2 * \frac{\sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\sigma^3} = 0 \quad \text{από την οποία προκύπτει ότι:}$$

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2}{n} \quad 1.1.1-22$$

Αντικαθιστώντας στη σχέση 1.1.1-21 το σ^2 με την τιμή του σ^2 από τη σχέση 1.1.1-22 έχουμε:

$$-2LL(Y|\xi, \sigma) = n \ln(2\pi) + n \ln\left(\frac{1}{n} \sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2\right) + n \quad 1.1.1-23$$

Οπότε, αφού οι υπόλοιποι όροι είναι σταθεροί, αρκεί να βρούμε τις τιμές των παραμέτρων ξ για τις οποίες είναι ελάχιστη η αντικειμενική συνάρτηση:

$$F(\xi) = \sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2, \text{ όπως στη σχέση 1.1.1-16}$$

Η ελαχιστοποίηση της αντικειμενικής συνάρτησης δεν γίνεται με αναλυτικό τρόπο, χρησιμοποιώντας το $\frac{\partial F(\xi)}{\partial \xi} = 0$, αλλά γίνεται υποχρεωτικά με επαναληπτικό υπολογιστικό αλγόριθμο όπως είδαμε πριν.

Αξίζει να σημειωθεί πως όταν το σ είναι σταθερό-κοινό για όλα τα πειραματικά σημεία, υπόθεση που κάναμε προηγουμένως, βλέπουμε πως η μέθοδος μεγίστης πιθανοφάνειας ισοδυναμεί με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Δηλαδή στην περίπτωση που έχουμε ομοσκεδαστικό μοντέλο σφάλματος η μέγιστη πιθανοφάνεια εκφυλίζεται στη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

Τα διάφορα μοντέλα σφάλματος που προαναφέρθηκαν παράγουν πιο πολύπλοκες συναρτήσεις πιθανοφάνειας (Δοκουμετζίδης, 2017-18). Ειδικά η περίπτωση του αναλογικού σφάλματος (με σταθερό CV) υλοποιείται με παραλλαγή της αντικειμενικής συνάρτησης του αθροίσματος τετραγώνων με τη χρήση βαρών. Τα βάρη δίνουν μεγαλύτερη σημασία σε ορισμένα πειραματικά σημεία. Έτσι, έχουμε:

$$F(\xi) = \sum_{j=1}^n w_j (Y_j - \hat{Y}_j)^2 \quad 1.1.1-24$$

Για την υλοποίηση του αναλογικού σφάλματος χρησιμοποιούμε βάρη $w_j = \frac{1}{\hat{Y}_j^2}$

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

$$F(\xi) = \sum_{j=1}^n \frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\hat{\sigma}_j^2} \quad 1.1.1-25$$

Η συγκεκριμένη μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων ονομάζεται μέθοδος σταθμισμένων τετραγώνων - Weighted Least Squares (WLS). Σημειώνεται πως η χρήση των παρατηρήσεων ως βάρη δε συνίσταται διότι περιέχουν σφάλματα, παρόλο που αποτελεί διαθέσιμη επιλογή στα διαθέσιμα υπολογιστικά προγράμματα.

Γενικότερα χωρίς τη χρήση βαρών μπορούμε να υλοποιήσουμε μία αντικειμενική συνάρτηση με βάση το -2 λογάριθμο της πιθανοφάνειας:

$$L(Y|\xi, \sigma) = \prod_{j=1}^n \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_j^2}} e^{-\frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{2\sigma_j^2}} \quad (\text{σχέση 1.1.1-18})$$

$$-2LL(Y|\xi, \sigma) = n\text{Ln}(2\pi) + \sum_{j=1}^n \left[\frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\sigma_j^2} + \text{Ln}(\sigma_j^2) \right] \quad 1.1.1 - 26$$

Η αντικειμενική συνάρτηση δίνεται τελικώς από τον τύπο:

$$F(\xi, \sigma) = \sum_{j=1}^n \frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\sigma_j^2} + \text{Ln}(\sigma_j^2) \quad 1.1.1 - 27$$

Η συγκεκριμένη μέθοδος ονομάζεται μέθοδος των εκτεταμένων ελαχίστων τετραγώνων-Extended Least Squares (ELS). Κατά τη μέθοδο αυτή οι παράμετροι ξ και σ εκτιμώνται ταυτόχρονα.

1.1.1.3 Αβεβαιότητα των παραμέτρων

Κατά την προσαρμογή ενός μοντέλου στα δεδομένα, μας ενδιαφέρει όχι μόνο η εκτίμηση των παραμέτρων του μοντέλου μας αλλά και η αβεβαιότητα με την οποία έχουν εκτιμηθεί (Κεχαγιά, 2012). Η αβεβαιότητα μας δείχνει με τί εμπιστοσύνη πρέπει να αντιμετωπίζεται μία εκτίμηση. Αυτή η αβεβαιότητα αποτελεί τη φυσική - στατιστική σημασία των τυπικών σφαλμάτων. Το τυπικό σφάλμα (Standard Error - SE) ορίζεται από τη δεύτερη παράγωγο του λογαρίθμου της πιθανοφάνειας ως εξής:

$$SE(\hat{\xi}) = \sqrt{\left(-\frac{\partial^2 LL}{\partial \xi^2}\right)^{-1}} \quad 1.1.1 - 28$$

Για περισσότερες μεταβλητές το αντίστοιχο της δεύτερης παραγώγου είναι η λεγόμενη Εσσιανή (Hessian):

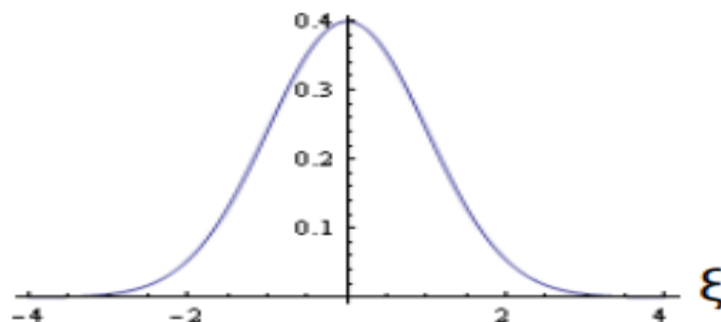
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

$$\left(\frac{\partial^2 LL}{\partial \xi_i \partial \xi_j} \right) = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 LL}{\partial \xi_1^2} & \dots & \frac{\partial^2 LL}{\partial \xi_1 \partial \xi_p} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 LL}{\partial \xi_p \partial \xi_1} & \dots & \frac{\partial^2 LL}{\partial \xi_p^2} \end{pmatrix} \quad 1.1.1 - 29$$

Όσο μικρότερα είναι τα τυπικά σφάλματα τόσο μεγαλύτερη είναι η ακρίβεια στις τιμές των παραμέτρων.

Η κατανομή μίας παραμέτρου ξ υποδεικνύεται στο σχήμα 1.1.1-3:

κατανομή παραμέτρου ξ

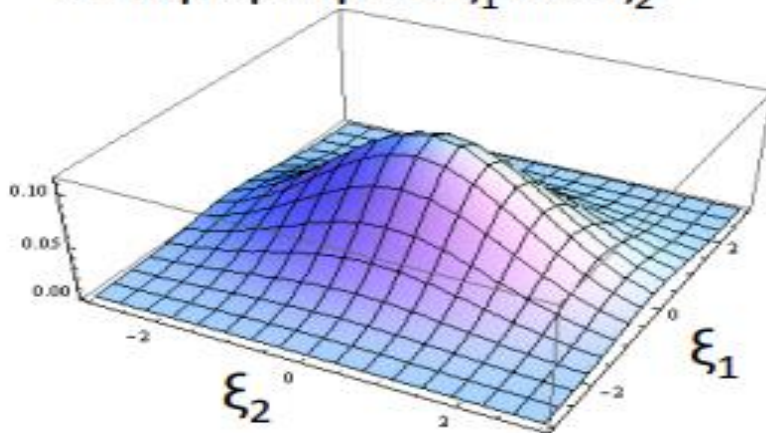


Σχήμα 1.1.1-3: Κατανομή μίας παραμέτρου ξ

Η πιθανότητα να πάρουμε την τιμή ξ έχει μέση τιμή θ και διακύμανση Ω (η τυπική απόκλιση είναι $\sqrt{\Omega}$).

Ενώ η πολυμεταβλητή κατανομή δύο παραμέτρων ξ_1 και ξ_2 έχει ως παρουσιάζεται στο σχήμα 1.1.1-4:

Πολυμεταβλητή κατανομή 2 παραμέτρων ξ_1 και ξ_2



Σχήμα 1.1.1-4

Η πιθανότητα να πάρουμε το ζεύγος τιμών (ξ_1, ξ_2) έχει μέση τιμή (θ_1, θ_2) και πίνακα διακύμανσης: $\begin{pmatrix} \Omega_{11} & \Omega_{12} \\ \Omega_{21} & \Omega_{22} \end{pmatrix}$. Στον προηγούμενο πίνακα τα διαγώνια στοιχεία Ω_{11} και Ω_{22} δηλώνουν τη διακύμανση της κάθε παραμέτρου, ενώ τα μη διαγώνια δηλώνουν τη συνδιακύμανση (συσχέτιση) των δύο παραμέτρων.

Μέτρο της αβεβαιότητας αποτελεί και η διακύμανση της εκτιμήτριας $\hat{\xi}$, $var(\hat{\xi})$. Όσο μεγαλύτερη είναι η διακύμανση τόσο μεγαλύτερη είναι και η αβεβαιότητα με την οποία έχει γίνει η εκτίμηση. Η τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης $var(\hat{\xi})$, δηλαδή η τυπική απόκλιση, καλείται τυπικό σφάλμα της εκτίμησης της παραμέτρου. Συνεπώς:

$$SE(\hat{\xi}) = \sqrt{var(\hat{\xi})} \quad 1.1.1 - 30$$

Η σχετική αβεβαιότητα της εκτίμησης προσδιορίζεται από το συντελεστή μεταβλητότητας (coefficient of variation, CV) ως εξής:

$$CV(\%) = \frac{SE(\hat{\xi})}{\hat{\xi}} 100(\%) \quad 1.1.1 - 31$$

Επίσης αναφέρονται διαστήματα εμπιστοσύνης (Confidence Intervals - CI):

$$CI = \hat{\xi} \pm (t_{dof,a} \cdot SE(\hat{\xi})) \quad 1.1.1 - 32$$

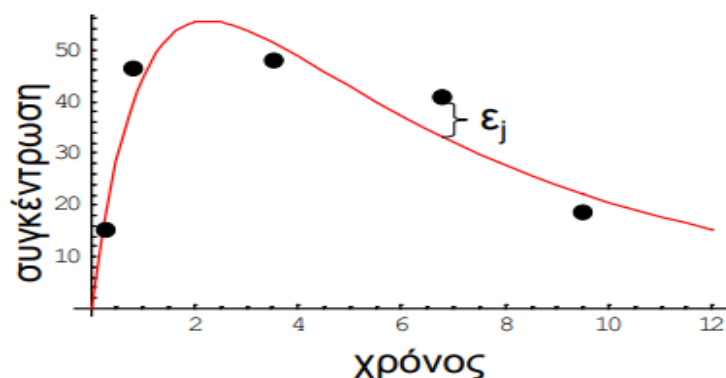
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

όπου: $t_{dof, \alpha}$ είναι ο συντελεστής εμπιστοσύνης - η τιμή εξαρτάται από επίπεδο εμπιστοσύνης $\alpha = 0.05$ και βρίσκεται από πίνακες με τις κρίσιμες τιμές της κατανομής t για $dof = n - p$ βαθμούς ελευθερίας (n : ο αριθμός των μετρήσεων και p : ο αριθμός των παραμέτρων προς εκτίμηση) (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

Μεγάλη αβεβαιότητα σημαίνει πως αν μεταβληθεί η εκτιμημένη τιμή μιας παραμέτρου σε ένα εύρος της τάξης μεγέθους του τυπικού σφάλματος, τότε η τιμή που προβλέπει το δομικό μοντέλο f δε θα μεταβληθεί σημαντικά. Η αβεβαιότητα στην εκτίμηση προκύπτει από το γεγονός ότι τα δεδομένα δεν περιέχουν αρκετή πληροφορία ώστε να εκτιμηθεί με ακρίβεια μία παράμετρος. Αυτή η έλλειψη πληροφορίας οφείλεται σε δύο λόγους. Πρώτον, ο σχεδιασμός του πειράματος από τον οποίο προέκυψαν τα δεδομένα ενδέχεται να μην είναι ο κατάλληλος που να επιτρέπει τον προσδιορισμό της παραμέτρου που μας ενδιαφέρει με ακρίβεια. Επιπλέον, το σφάλμα μέτρησης συμβάλλει στην αβεβαιότητα των εκτιμήσεων. Όταν δεν υπάρχει επαναληψιμότητα στις μετρήσεις των πειραματικών δεδομένων, η αβεβαιότητα των εκτιμήσεων αυξάνεται, ενώ εάν το σφάλμα είναι μικρό, τότε η εκτίμηση είναι πιο ακριβής (Κεχαγιά, 2012).

1.1.1.4 Σύγκριση των μεθόδων ελαχίστων τετραγώνων και μεγίστης πιθανοφάνειας

Όπως είδαμε προηγουμένως στη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων θέλουμε να βρούμε τις τιμές των παραμέτρων ξ για τις οποίες ελαχιστοποιούνται τα σφάλματα ε_j (σχήμα 1.1.1-5), όπου $\varepsilon_j = C_j - f(\xi, t_j)$. Ελαχιστοποιώντας τη συνάρτηση $F(\xi) = \sum_{j=1}^n [C_j - f(\xi, t_j)]^2$ (προκύπτει από τη σχέση 1.1.1-16) υπολογίζουμε τις τιμές ξ . Επίσης υπολογίζουμε το σφάλμα των ξ , δηλαδή την αβεβαιότητα με την οποία εκτιμήθηκαν τα ξ .



Σχήμα 1.1.1-5: Μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων

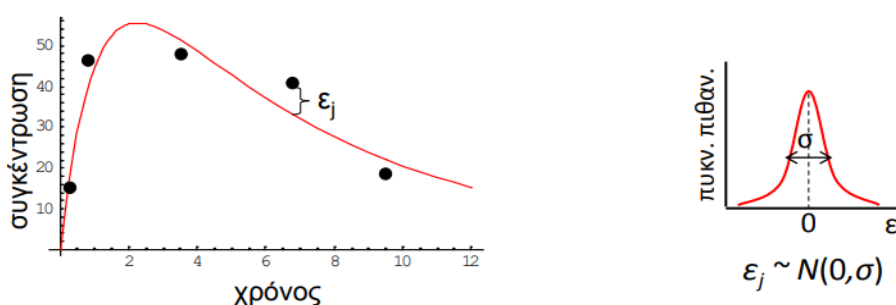
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Αντιθέτως, στη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας, όπως είδαμε, θέλουμε να βρούμε τις τιμές των παραμέτρων ξ και του σ για τις οποίες η συνολική πιθανότητα για όλα τα ε_j είναι μέγιστη. Αυτό συμβαίνει όταν ελαχιστοποιείται η συνάρτηση:

$$F(\xi, \sigma) = \sum_{j=1}^n \frac{(Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\sigma_j^2} + \text{Ln}(\sigma_j^2) \text{ (σχέση 1.1.1 - 27)}, \text{ όπου } \sigma_j = \sigma \text{ για το ομοσκεδαστικό}$$

μοντέλο σφάλματος.

Αλλά είπαμε ότι μπορούμε να έχουμε και άλλα μοντέλα σφάλματος. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 1.1.1-6, η πιθανότητα το κάθε ε_j να πάρει μία τιμή ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση σ .



Σχήμα 1.1.1-6: Μέθοδος μεγίστης πιθανοφάνειας

Συνεπώς η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων (least squares) και της μεγίστης πιθανοφάνειας (maximum likelihood) είναι παρεμφερείς. Διαφέρουν μόνο στο ότι η δεύτερη είναι περισσότερο ευέλικτη, καθώς εκτιμούμε και το σ μαζί με τις παραμέτρους ξ . Σημειώνεται πως στη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας το σ είναι μία παράμετρος όπως και τα ξ και μαζί με την αβεβαιότητα (τυπικά σφάλματα) των ξ υπολογίζουμε και την αβεβαιότητα του σ (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

1.1.1.5 Προσδιορισιμότητα

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο όσον αφορά την προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα είναι η Προσδιορισιμότητα (Identifiability). Το πρόβλημα της δομικής προσδιορισιμότητας (structural identifiability) είναι η δυνατότητα εκτίμησης των παραμέτρων με άπειρα δεδομένα χωρίς θόρυβο. Κάποιες φορές αυτό δεν μπορεί να επιτευχθεί λόγω του τύπου του δομικού μοντέλου.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Ολική προσδιορισσιμότητα (Global identifiability) έχουμε όταν μπορούμε να εκτιμήσουμε ένα μοναδικό σετ παραμέτρων, δηλαδή η αντικειμενική συνάρτηση για το δομικό μοντέλο συγκέντρωσης-χρόνου έχει ένα μοναδικό ελάχιστο. Η ολική προσδιορισσιμότητα είναι το ιδανικό σενάριο, ωστόσο δεν είναι και το πιο συχνό στη φαρμακοκινητική στην οποία συχνά υπάρχει τοπική προσδιορισσιμότητα (local identifiability). Local identifiability έχουμε όταν δεν μπορούμε να εκτιμήσουμε ένα μοναδικό σετ παραμέτρων αλλά μπορούμε να εκτιμήσουμε ένα πεπερασμένο αριθμό τέτοιων σετ, δηλαδή η αντικειμενική συνάρτηση δεν έχει ένα μοναδικό ελάχιστο. Ενδέχεται να μην μπορούμε να εκτιμήσουμε τίποτα ή να υπάρχει ένας άπειρος αριθμός σετ παραμέτρων που ικανοποιούν το μοντέλο. Για παράδειγμα στη συνάρτηση $Y = a * b * X$ ενδέχεται να μπορούμε να εκτιμήσουμε το $a * b$ αλλά να μην μπορούμε να εκτιμήσουμε τα a και b .

Κλασικό παράδειγμα του local identifiability είναι το μονοδιαμερισματικό φαρμακοκινητικό μοντέλο της σχέσεως 1.1 με πρωτοταξική απορρόφηση:

$$C = \frac{F * D * k_a}{V * (k_a - k_{el})} * (\exp(-k_{el}t) - \exp(-k_a * t))$$

$$\text{όπου } k_{el} = CL/V.$$

Λόγω της συμμετρίας της παραπάνω εξίσωσης, δύο διαφορετικά σετ τιμών παραμέτρων δίνουν ακριβώς το ίδιο προφίλ, ένα για $k_a > k_{el}$ και ένα για το αντίθετο (flip-flip φαινόμενο). Ουσιαστικά δηλαδή προκύπτει η ίδια συνάρτηση του δομικού μοντέλου με δύο διαφορετικά σετ παραμέτρων. Για να αποσαφηνιστεί η ορθή περίπτωση απαιτείται πληροφορία ενδοφλέβιας χορήγησης.

Προφανώς σε ένα τέτοιο μοντέλο υπάρχει πρόβλημα στην εκτίμηση των παραμέτρων, καθώς δεν ξέρουμε ποιο από τα δύο σετ παραμέτρων είναι το ορθό. Υπάρχουν μαθηματικές τεχνικές που μελετούν αυτό το θέμα. Ένας εμπειρικός τρόπος μελέτης είναι η απόπειρα εκτίμησης των παραμέτρων από αναγεννημένα δεδομένα με το ίδιο το μοντέλο, χωρίς θόρυβο. Είπαμε ότι ο αλγόριθμος ελαχιστοποίησης βρίσκει ένα «τοπικό ελάχιστο». Αυτό παρόλο που εν γένει είναι μειονέκτημα μας βοηθάει γιατί θα συγκλίνει σε μία από τις δύο δυνατές λύσεις. Εναλλακτικά μπορούμε να εισάγουμε μία συνθήκη $k_a > k_{el}$ η οποία καθιστά το πρόβλημα globally identifiable. Αυτό το φαινόμενο έχει ιδιαίτερη σημασία στην διαμερισματική φαρμακοκινητική κυρίως όταν ο αριθμός των διαμερισμάτων είναι μεγάλος (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

1.1.1.6 Διαδοχική και ταυτόχρονη ανάλυση των δεδομένων

Είναι δυνατόν να έχουμε δεδομένα με περισσότερες από μια εξαρτημένες μεταβλητές - πολλαπλές εξαρτημένες μεταβλητές. Για παράδειγμα ενδέχεται τα δεδομένα μίας φαρμακοκινητικής ανάλυσης να είναι: συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα και φαρμακοδυναμικό αποτέλεσμα, συγκέντρωση του φαρμάκου και συγκέντρωση του μεταβολίτη του, συγκέντρωση ενός προφαρμάκου και συγκέντρωση φαρμάκου ή συγκέντρωση ενός φαρμάκου στο αίμα και συγκέντρωση του φαρμάκου σε ιστό. Στην περίπτωση αυτή υπάρχουν δύο λογικές για την ανάλυση των δεδομένων κατά την προσαρμογή του μοντέλου σε αυτά. Η μία λογική είναι η διαδοχική ανάλυση, ενώ η άλλη είναι η ταυτόχρονη ανάλυση.

Στη διαδοχική ανάλυση πρώτα αναλύεται η πρώτη εξαρτημένη μεταβλητή και στη συνέχεια η δεύτερη. Η ανάλυση αυτή είναι η απλούστερη μέθοδος, όμως έχει αρκετά μειονεκτήματα. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι πως είναι λιγότερο ισχυρή, χάνεται η πληροφορία συσχετίσεων μεταξύ επί παραδείγματι των φαρμακοκινητικών παραμέτρων και των φαρμακοδυναμικών και επίσης αγνοείται η αβεβαιότητα των φαρμακοκινητικών παραμέτρων και τελικώς αυτές θεωρούνται λανθασμένα απόλυτα ακριβείς. Στη διαδοχική ανάλυση, είναι δυνατόν να ενσωματωθεί και η αβεβαιότητα με Bayesian Prior, κάτι όμως που είναι πιο σύνθετο.

Στην ταυτόχρονη ανάλυση όλες οι εξαρτημένες μεταβλητές αναλύονται μαζί. Τα πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι πως είναι πιο ισχυρή, δεν χάνεται η πληροφορία συσχετίσεων μεταξύ επί παραδείγματι των ΦΚ παραμέτρων και των φαρμακοδυναμικών και επίσης η ταυτόχρονη ανάλυση καθιστά δυνατή την ενσωμάτωση της αβεβαιότητας των ΦΚ παραμέτρων. Μειονεκτήματά της είναι πως είναι μία πιο σύνθετη μέθοδος και ίσως πιο ασταθής στην περίπτωση που έχουμε πιο πολλά αριθμητικά προβλήματα. Η αντικειμενική συνάρτηση που χρησιμοποιείται στην ταυτόχρονη ανάλυση είναι το άθροισμα των επιμέρους αντικειμενικών συναρτήσεων, δηλαδή στην περίπτωση δύο εξαρτημένων μεταβλητών είναι:

$$OF_{total} = OF_1 + OF_2 \quad 1.1.1 - 33$$

Σημειώνεται πως δεν είναι απαραίτητο τα σημεία να είναι στους ίδιους χρόνους, τόσο στην ταυτόχρονη όσο και στη διαδοχική ανάλυση (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

1.1.1.7 Έλεγχος - Επικύρωση του μοντέλου

Η ανάπτυξη ενός μοντέλου δεν ολοκληρώνεται με την προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα. Μετά την εκτίμηση των παραμέτρων πρέπει να γίνει έλεγχος του μοντέλου για να διαπιστώσουμε την ποιότητα αυτής της προσαρμογής. Η επιλογή του μοντέλου βασίστηκε σε κάποιες υποθέσεις και πρέπει να εξεταστεί και να επικυρωθεί αν ισχύουν αυτές οι υποθέσεις. Συγκεκριμένα ελέγχονται η καταλληλότητα του δομικού μοντέλου για την περιγραφή των δεδομένων καθώς και η καταλληλότητα του μοντέλου σφάλματος για την περιγραφή της μεταβλητότητας (Bonate & Peter, 2006). Αρχικώς, τα τυπικά σφάλματα των παραμέτρων αποτελούν μία καλή ένδειξη της ορθότητας ή μη του δομικού μοντέλου. Μεγάλο τυπικό σφάλμα μίας παραμέτρου υποδεικνύει έλλειψη πληροφορίας στα δεδομένα για την εκτίμηση αυτής της παραμέτρου και υποδηλώνει ελλιπή καθορισμό του μοντέλου (model misspecification).

Έπειτα, όσον αφορά την περιγραφή της μεταβλητότητας ελέγχεται η ανάλυση των υπολοίπων (residuals) χρησιμοποιώντας γραφικά διαγνωστικά διαγράμματα. Η υπόθεση που πραγματοποιείται πριν την προσαρμογή του μοντέλου είναι πως τα υπόλοιπα έχουν μέση τιμή μηδέν και, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο μοντέλο σφάλματος, συγκεκριμένη διακύμανση. Από τη γραφική παράσταση των υπολοίπων σε σχέση με τις τιμές που προβλέπει το μοντέλο διαπιστώνεται η ύπαρξη ή μη συστηματικής τάσης. Αν δεν υπάρχει τυχαία κατανομή των υπολοίπων γύρω από το μηδέν, τότε το γεγονός αυτό υποδηλώνει ατελή καθορισμό του μοντέλου. Επίσης, αν η διασπορά των υπολοίπων και η αναμενόμενη διακύμανση δε συνάδουν, τότε θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί κάποιο άλλο μοντέλο σφάλματος. Ακόμη, από τη γραφική παράσταση των παρατηρήσεων σε σχέση με τις προβλεπόμενες από το μοντέλο τιμές διαπιστώνεται αν το μοντέλο έχει ή όχι καλή προβλεπτική ικανότητα. Η ευθεία $y = x$ θα πρέπει να περνά ενδιάμεσα από τα σημεία της προηγούμενης γραφικής παράστασης, υποδηλώνοντας ότι οι παρατηρήσεις και οι προβλεπόμενες τιμές ταυτίζονται όσο το δυνατόν περισσότερο. Μετά τον έλεγχο του μοντέλου, είτε αυτό θα θεωρηθεί κατάλληλο για την περιγραφή των δεδομένων και θα πρέπει να επικυρωθεί είτε δε θα θεωρηθεί κατάλληλο και θα πρέπει να επιλεγεί ένα νέο μοντέλο προσαρμογής (Bonate & Peter, 2006).

Σημειώνεται πως εκτός από τα διαγνωστικά γραφήματα υπάρχουν και κριτήρια με έναν αριθμό για τον έλεγχο της καλής προσαρμογής ενός μοντέλου (goodness of fit), τα οποία ωστόσο δεν είναι τόσο αξιόπιστα όσο τα γραφικά διαγνωστικά διαγράμματα. Για παράδειγμα υπάρχει ο συντελεστής προσδιορισμού R^2 (Coefficient of determination), ο οποίος ορίζεται ως εξής:

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{j=1}^n (Y_j - \hat{Y}_j)^2}{\sum_{j=1}^n (Y_j - \bar{Y})^2} \quad 1.1.1 - 34$$

όπου \bar{Y} είναι η μέση τιμή των πειραματικών δεδομένων.

Η σημασία του R^2 είναι το ποσοστό της μεταβλητότητας των δεδομένων που ερμηνεύεται από το μοντέλο. Έτσι, ιδανικά έχουμε $R^2 = 1$, δηλαδή το υπό έλεγχο μοντέλο προβλέπει ακριβώς τα πειραματικά δεδομένα, ενώ στη χειρότερη περίπτωση είναι $R^2 = 0$, δηλαδή το μοντέλο προβλέπει τη μέση τιμή των δεδομένων (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

Με την επικύρωση του μοντέλου ελέγχεται εάν το μοντέλο είναι έγκυρο για την περιγραφή των δεδομένων. Συνήθως πραγματοποιείται εσωτερική επικύρωση του μοντέλου, έτσι ώστε να προσδιοριστεί αν το τελικό μοντέλο προβλέπει τα δεδομένα από τα οποία αναπτύχθηκε, ενώ για να εξεταστεί η γενικότερη προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου πραγματοποιείται εξωτερική αξιολόγηση. Κατά την εξωτερική αυτή αξιολόγηση οι προβλέψεις του μοντέλου συγκρίνονται με δεδομένα που δεν έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη του μοντέλου.

Πιο συγκεκριμένα για την εσωτερική επικύρωση του τελικού μοντέλου που αναπτύχθηκε, χρησιμοποιούνται δύο τεχνικές: το VPC (visual predictive check) και η τεχνική bootstrap. Το VPC αποτελεί μία δημοφιλή μέθοδο για την αξιολόγηση της απόδοσης των φαρμακοκινητικών πληθυσμιακών μοντέλων και μοντέλων μικτών επιδράσεων, που θα αναλυθούν στη συνέχεια (Bergstrand et al., 2011). Η αρχή λειτουργίας του VPC στηρίζεται στην προσομοίωση ενός μεγάλου αριθμού (π.χ. 1000) νέων σετ δεδομένων (datasets), ίδιας μορφής με το αρχικό σετ όλων των πειραματικών δεδομένων (original dataset) που διαθέτουμε, χρησιμοποιώντας το τελικό μας μοντέλο. Έπειτα, για κάθε χρονικό σημείο, τα 5%, 50% και 95% εκατοστημόρια (percentiles) των παρατηρήσεων-πειραματικών δεδομένων συγκρίνονται με τα αντίστοιχα εκατοστημόρια των προσομοιωμένων τιμών του μοντέλου. Εάν τα 3 percentiles των παρατηρήσεων για κάθε χρονική στιγμή βρίσκονται εντός των 95% διαστημάτων εμπιστοσύνης τα οποία περιβάλλουν τα 3 αντίστοιχα percentiles των προσομοιώσεων, τότε το μοντέλο θεωρείται έγκυρο (Winter et al., 2008).

Τις περισσότερες φορές υπολογίζονται τα προαναφερθέντα εκατοστημόρια (5%, 50%, 95%), ωστόσο μπορούν να υπολογιστούν και άλλα εκατοστημόρια. Η τελική σύγκριση, όμως, γίνεται με βάση το διάστημα εμπιστοσύνης, το οποίο στην ουσία αποτελεί το εύρος μεταξύ δύο εξωτερικών εκατοστημορίων όλων των προσομοιωμένων παρατηρήσεων. Κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να αξιολογηθεί γραφικώς αν οι προσομοιωμένες τιμές του μοντέλου είναι ή όχι ικανές να αναπαράγουν τη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων, όταν αναπαρίστανται σε σχέση με μία ανεξάρτητη μεταβλητή, συνήθως το χρόνο. Τέλος το γεγονός ότι το VPC βασίζεται σε προσομοιώσεις μεγάλου αριθμού datasets είναι πολύ χρήσιμο για την καλύτερη ερμηνεία του.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Το εύρος των σχηματιζόμενων διαστημάτων εμπιστοσύνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σημείο αναφοράς για την ορθότερη εκτίμηση της πραγματικής απόκλισης της προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου από τα πειραματικά δεδομένα. Έτσι, η ερμηνεία του VPC μπορεί να γίνει πιο αντικειμενική (Bergstrand et al., 2011).

Στην τεχνική Bootstrap παράγεται ένας μεγάλος αριθμός (π.χ. 1000) νέων σετ δεδομένων (Bootstrap datasets) μέσω τυχαίας δειγματοληψίας επανατοποθετώντας το αρχικό σύνολο των πειραματικών δεδομένων (original dataset). Για κάθε ένα από τα 1000 datasets που προκύπτουν εκτιμώνται οι υπό μελέτη παράμετροι χρησιμοποιώντας το μοντέλο που έχει αναπτυχθεί και είναι προς επικύρωση. Τελικώς, γίνεται σύγκριση των παραμέτρων που υπολογίζονται από την ανάλυση Bootstrap και των παραμέτρων που εκτιμώνται από το υπό μελέτη μοντέλο για τα πειραματικά δεδομένα. Ειδικότερα, η επικύρωση του μοντέλου γίνεται μέσω της σύγκρισης των διαμέσων των παραμέτρων που προκύπτουν από τα Bootstrap datasets με τις εκτιμήσεις των παραμέτρων που προκύπτουν από το original dataset. Εάν οι προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων από το original dataset είναι εντός του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης των προβλεπόμενων διάμεσων τιμών των παραμέτρων από τα Bootstrap datasets, τότε το πληθυσμιακό φαρμακοκινητικό μοντέλο μπορεί να θεωρηθεί έγκυρο. Επιπλέον, συγκρίνονται τα τυπικά σφάλματα και ο συντελεστής μεταβλητότητας των παραμέτρων, όπως υπολογίζονται στις δύο περιπτώσεις. Είναι επιθυμητό οι προαναφερθέντες συντελεστές μεταβλητότητας να είναι παρεμφερείς, όπως και τα τυπικά σφάλματα, ώστε να επιβεβαιωθεί πως το μοντέλο προσαρμόζει ορθώς στα δεδομένα (Lubke et al., 2017; Singh & Xie, n.d.; Winter et al., 2008).

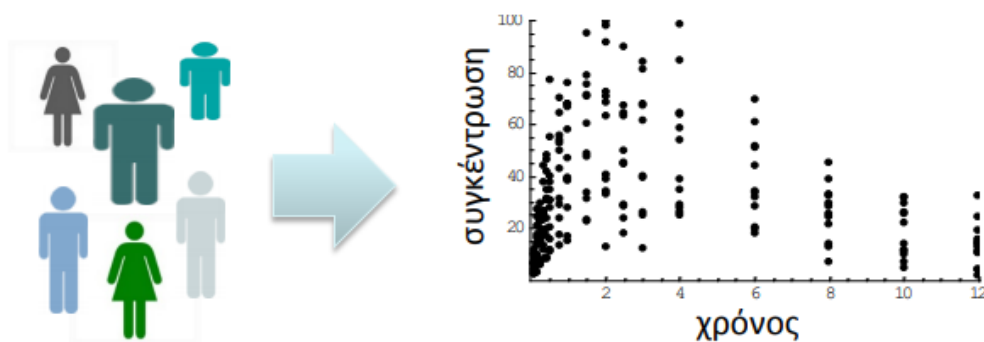
1.1.2 Πληθυσμιακή Φαρμακοκινητική

Χορηγώντας την ίδια δόση ενός φαρμάκου σε έναν πληθυσμό ανθρώπων θα προκύψουν διαφορετικά προφίλ συγκέντρωσης-χρόνου του φαρμάκου στο αίμα για τον κάθε ασθενή. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την εγγενή μεταβλητότητα στις διαδικασίες που καθορίζουν την κινητική ενός φαρμάκου. Η πληθυσμιακή φαρμακοκινητική έχει ως σκοπό να περιγράψει τη σχέση δόσης-συγκέντρωσης-χρόνου, εκτιμώντας όχι τις τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων (ξ) ενός ατόμου, αλλά τη μέση τιμή και τη μεταβλητότητα αυτών σε έναν πληθυσμό μέσω παραμετρικών στατιστικών κατανομών. Άλλος ένας στόχος της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής είναι ο προσδιορισμός των παραγόντων εκείνων που έχουν μία σημαντική συσχέτιση με τις ΦΚ παραμέτρους και ερμηνεύουν μέρος της μεταβλητότητας. Αυτοί οι παράγοντες ονομάζονται συµμεταβλητές και μπορεί να είναι σωματομετρικοί (βάρος, ύψος), βιοχημικοί (συγκέντρωση κρεατινίνης, αιματοκρίτης), φυλετικοί, δημογραφικοί κ.α.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

(Κεχαγιά, 2012). Βλέπουμε συνεπώς πως η πληθυσμιακή ΦΚ είναι μία πλατφόρμα ενσωμάτωσης όλης της διαθέσιμης πληροφορίας (integration platform), δηλαδή ενσωματώνει ΦΚ δεδομένα, βιβλιογραφική πληροφορία, σωματομετρική, εργαστηριακή πληροφορία κ.α.

Βασικό χαρακτηριστικό της παραμετρικής πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής είναι η δι-ατομική μεταβλητότητα (inter-individual variability) των ΦΚ παραμέτρων. Η δι-ατομική μεταβλητότητα εκφράζει τη διαφοροποίηση των ΦΚ παραμέτρων μεταξύ των ατόμων, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.1.2-1:



Σχήμα 1.1.2-1: Η επίδραση της δι-ατομικής μεταβλητότητας στο ΦΚ προφίλ των ασθενών

Η συγκέντρωση C_{ij} του ασθενούς i τη χρονική στιγμή j δίνεται από τη σχέση:

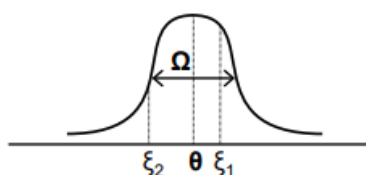
$$C_{ij} = f(\xi_i, t_j) + \varepsilon_{ij} \quad 1.1.2-1$$

όπου $f(\xi_i, t_j)$: είναι το μη γραμμικό μοντέλο για τις ΦΚ παραμέτρους του ασθενούς i τη χρονική στιγμή j ,

ε_{ij} : το στατιστικό σφάλμα

Κάθε ΦΚ παράμετρος ξ θεωρούμε πως έχει μέση τιμή θ (πληθυσμιακή τιμή) και διακύμανση Ω (δι-ατομική μεταβλητότητα), όπως φαίνεται στο σχήμα 1.1.2-2:

κατανομή παραμέτρου ξ



μέση τιμή: θ
(πληθυσμιακή τιμή)

διακύμανση : Ω
δι-ατομική μεταβλητότητα

Σχήμα 1.1.2-2: Κατανομή μίας παραμέτρου ξ στην πληθυσμιακή φαρμακοκινητική

Σκοπός της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής είναι να εκτιμήσουμε τη μέση τιμή θ και τη διακύμανση Ω όλων των ΦΚ παραμέτρων στο δεδομένο πληθυσμό. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη μέθοδο των δύο σταδίων καθώς και με τα μοντέλα μικτών επιδράσεων. Η μέθοδος των δύο σταδίων είναι πιο απλή και πραγματοποιείται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο εκτιμούμε τις τιμές των ΦΚ παραμέτρων σε κάθε ασθενή ξεχωριστά με μη γραμμική παλινδρόμηση, ενώ στο δεύτερο στάδιο υπολογίζουμε τη μέση τιμή και τη διακύμανση ή την τυπική απόκλιση των τιμών αυτών (και με πολυμεταβλητή περιγραφική στατιστική). Στο πρώτο στάδιο δηλαδή έχουμε τις ατομικές προσαρμογές των δεδομένων, ενώ στο δεύτερο στάδιο έχουμε την περιγραφική στατιστική (Δοκουμετζίδης, 2017-18). Ένα βασικό αρνητικό χαρακτηριστικό της μεθόδου δύο σταδίων είναι πως απαιτούνται αρκετά δεδομένα από κάθε ασθενή. Η μέθοδος των μοντέλων μικτών επιδράσεων είναι πιο σύνθετη και αναλύεται στη συνέχεια.

1.1.2.1 Μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων

Τα μοντέλα μικτών επιδράσεων περιλαμβάνουν παραμέτρους που εκφράζουν τη μέση κατάσταση στον πληθυσμό, δηλαδή τις σταθερές επιδράσεις (fixed effects) και παραμέτρους που εκφράζουν τη μεταβλητότητα, τις λεγόμενες τυχαίες επιδράσεις (random effects). Οι τυχαίες επιδράσεις κατηγοριοποιούνται σε δύο κατηγορίες: τη δι-ατομική μεταβλητότητα, όπου προαναφέρθηκε, και την υπολειπόμενη μεταβλητότητα (residual variability). Η υπολειπόμενη μεταβλητότητα περιγράφει την επιπλέον μεταβλητότητα που παρατηρείται αφού έχουμε λάβει υπόψη τη δι-ατομική μεταβλητότητα. Η υπολειπόμενη μεταβλητότητα συνίσταται κυρίως στην ενδοατομική μεταβλητότητα, δηλαδή στη μεταβλητότητα που παρατηρείται στο ίδιο το άτομο, στα αναλυτικά σφάλματα μετρήσεως των συγκεντρώσεων και στον ατελή καθορισμό του δομικού μοντέλου. Στα μη γραμμικά μοντέλα μικτών

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

επιδράσεων (nonlinear mixed effects models) τα δεδομένα από ένα σύνολο ατόμων αναλύονται ταυτόχρονα με μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (FDA, 1999).

Ο ορισμός ενός μη γραμμικού μοντέλου μικτών επιδράσεων γίνεται ιεραρχικά (Bonate & Peter, 2006), ως εξής:

- Αρχικά ορίζεται το δομικό ΦΚ μοντέλο f το οποίο περιγράφει τη συγκέντρωση ως συνάρτηση των ανεξάρτητων μεταβλητών, συνήθως τη δόση και το χρόνο, καθώς και των ΦΚ παραμέτρων.

- Έπειτα ορίζεται το μοντέλο για την υπολειπόμενη μεταβλητότητα, το οποίο μπορεί να έχει διαφορετική μορφή με βάση τις υποθέσεις που γίνονται, όπως είδαμε προηγουμένως. Στην περίπτωση του προσθετικού μοντέλου η συγκέντρωση C_{ij} για την j μέτρηση του i ατόμου δίνεται από τη σχέση:

$$C_{ij} = f(x_{ij}, \xi_i) + \varepsilon_{ij} \quad 1.1.2-2$$

όπου x_{ij} είναι οι ανεξάρτητες μεταβλητές, ξ_i οι ΦΚ παράμετροι για το άτομο i και

ε_{ij} τα σφάλματα τα οποία είναι ανεξάρτητα.

- Τέλος ορίζεται το μοντέλο για τη δι-ατομική μεταβλητότητα, όπου οι τιμές των παραμέτρων ξ διαφέρουν μεταξύ των ατόμων. Μέρος της δι-ατομικής μεταβλητότητας μπορεί να εξηγείται από ατομικές συμμεταβλητές, οι οποίες επιδρούν στις παραμέτρους αιτιοκρατικά. Όταν δεν υπάρχουν συμμεταβλητές, τότε στην πιο απλή μορφή (προσθετική μεταβλητότητα) το μοντέλο ορίζεται ως εξής:

$$\xi_i = \theta_i + \eta_i \quad 1.1.2-3$$

όπου θ_i είναι η πληθυσμιακή τιμή της παραμέτρου ξ_i , ενώ τα η_i είναι η στοχαστική μεταβλητή της δι-ατομικής μεταβλητότητας για κάθε παράμετρο ξ_i (τα η_i είναι η διαφορά της ατομικής παραμέτρου από την πληθυσμιακή). Δηλαδή, για παράδειγμα αν ξ_1 είναι η ατομική μεταβλητή, τότε ισχύει ότι $\xi_1 = \theta_1 + \eta_1$, όπου $\eta_1 \sim N(0, \Omega_1)$ και $\xi_1 \sim N(\theta_1, \Omega_1)$.

Αν θεωρηθεί πως οι παράμετροι ξ_i ακολουθούν τη λογαριθμο-κανονική κατανομή (εκθετική μεταβλητότητα) τότε το μοντέλο ορίζεται ως:

$$\xi_i = \theta_i * \exp(\eta_i) \quad 1.1.2-4$$

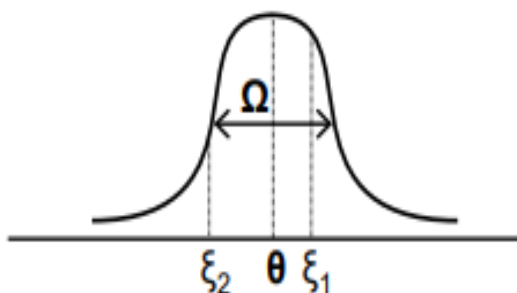
όπου τα σύμβολα έχουν την ίδια σημασία όπως ορίστηκε προηγουμένως. Η περίπτωση αυτή είναι η πιο συχνή.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Ακόμη αναφέρεται η περίπτωση της αναλογικής μεταβλητότητας, στην οποία το μοντέλο ορίζεται ως:

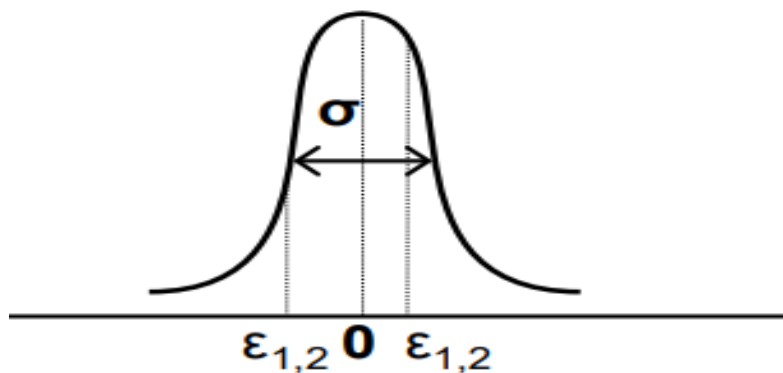
$$\xi_i = \theta_i * (1 + \eta_i) \quad 1.1.2-5$$

Συνεπώς, θεωρούμε πως η δι-ατομική και η υπολειπόμενη μεταβλητότητα κατανέμονται στοχαστικά και ακολουθούν παραμετρικές στατιστικές κατανομές. Όσον αφορά τη δι-ατομική μεταβλητότητα, τα ξ_i (σχήμα 1.1.2-3) ακολουθούν την κανονική κατανομή με μέση τιμή θ και διακύμανση Ω , δηλαδή $\xi_i \sim N(\theta, \Omega)$:



Σχήμα 1.1.2-3: Διασπορά δι-ατομικής μεταβλητότητας

Ενώ όσον αφορά την υπολειπόμενη μεταβλητότητα (σχήμα 1.1.2-4), αφού λάβουμε υπόψη και το Ω , τα ε_{ij} είναι ανεξάρτητα και ακολουθούν την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ^2 , δηλαδή $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$:

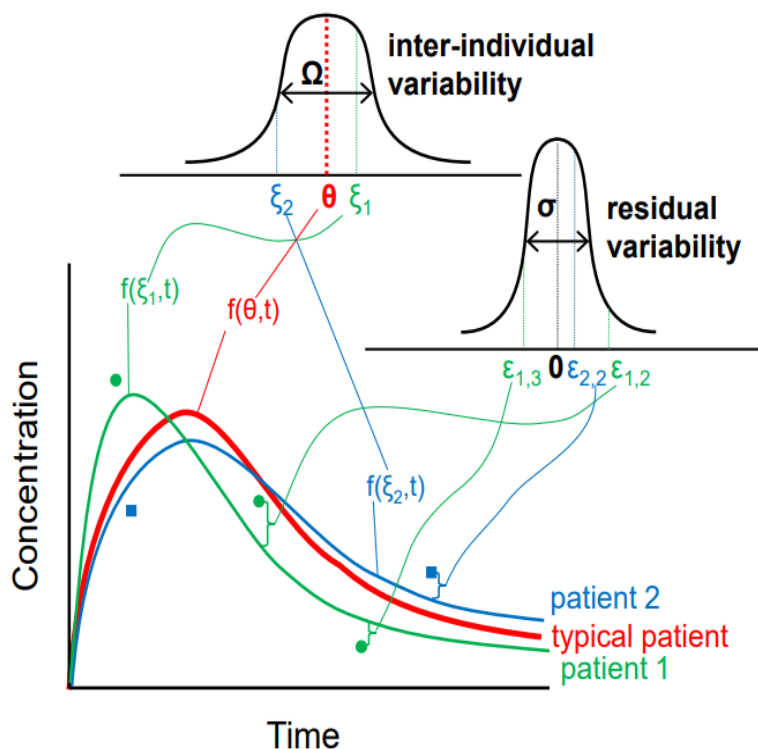


Σχήμα 1.1.2-4: Διασπορά υπολειπόμενης μεταβλητότητας

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Σημειώνεται πως κάνουμε την υπόθεση πως όλοι οι ασθενείς έχουν το ίδιο σ .

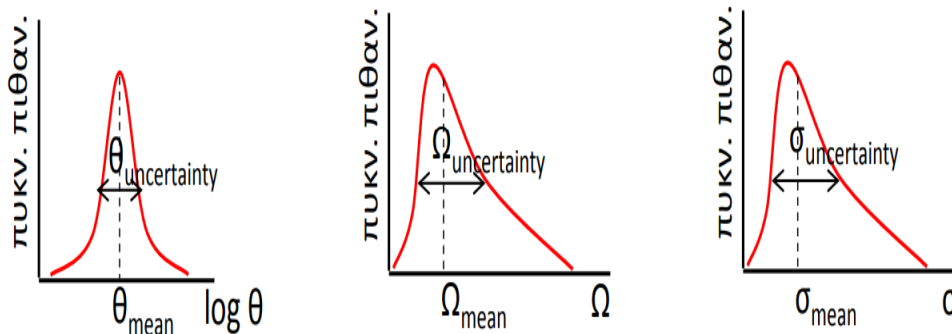
Οι παράμετροι θ , Ω και σ^2 ονομάζονται πληθυσμιακές παράμετροι διότι εκφράζουν τη μέση τιμή των ΦΚ παραμέτρων στον πληθυσμό καθώς και τη μεταβλητότητα αυτών, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 1.1.2-5 (Δοκουμετζίδης, 2017-18).



Σχήμα 1.1.2-5: Πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι θ , Ω και σ .

1.1.2.2 Εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων

Στη συνέχεια γίνεται ταυτόχρονη προσαρμογή του ΦΚ μοντέλου $C_{ij} = f(x_{ij}, \xi_i) + \varepsilon_{ij}$ στα δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου όλων των ασθενών με σκοπό την εκτίμηση των πληθυσμιακών τιμών θ , Ω και σ καθώς και των τυπικών σφαλμάτων αυτών. Στα πλαίσια της θεωρίας της μέγιστης πιθανοφάνειας κατασκευάζουμε μία συνάρτηση πιθανοφάνειας που περιγράφει με ένα ιεραρχικό μοντέλο τις πληθυσμιακές παραμέτρους θ , Ω και σ . Οι παράμετροι αυτές εκτιμώνται όλες μαζί μέσω του μοντέλου μικτών επιδράσεων και υπολογίζονται οι μέσες τιμές των θ , Ω και σ καθώς και οι αβεβαιότητες αυτών (standard errors) – σχήμα 1.1.2-6.



Σχήμα 1.1.2-6: Εκτίμηση πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας

Τονίζεται πως οι όροι μεταβλητότητα και αβεβαιότητα είναι διαφορετικές έννοιες, απλά εκφράζονται και οι δύο από στατιστικές κατανομές που έχουν μέση τιμή και διακύμανση. Η δι-ατομική μεταβλητότητα είναι χαρακτηριστικό του πληθυσμού και παραμένει σταθερή όσο κι αν αυξηθούν τα άτομα του πειραματικού σχεδιασμού. Αντιστοίχως η υπολειπόμενη μεταβλητότητα είναι χαρακτηριστικό του πειράματος και παραμένει σταθερή όσο κι αν αυξηθούν τα δείγματα του πειραματικού σχεδιασμού. Ενώ αντίθετα, η αβεβαιότητα του θ και του Ω (ή η αβεβαιότητα του σ αντιστοίχως) εξαρτάται από τον αριθμό των ατόμων και των δειγμάτων (ή των δειγμάτων αντιστοίχως) και μειώνεται όταν αυξάνονται τα άτομα (ή τα δείγματα αντιστοίχως) ενός συγκεκριμένου πειράματος (Δοκουμετζίδης, 2017-18).

Η εκτίμηση των παραμέτρων πραγματοποιείται με επαναληπτικό τρόπο όπως στη μη γραμμική παλινδρόμηση ελαχιστοποιώντας την αντικειμενική συνάρτηση. Η αντικειμενική συνάρτηση που χρησιμοποιείται αντιστοιχεί στη μέθοδο των εκτεταμένων ελαχίστων τετραγώνων (extended least squares), που προαναφέρθηκε (Bonate & Peter, 2006).

Τονίζεται πως σε αντίθεση με την ανάλυση των δεδομένων από ένα άτομο που απαιτεί πυκνό δειγματοληπτικό σχήμα, στην ανάλυση με μοντέλα μικτών επιδράσεων (mixed effects) μπορούν να χρησιμοποιηθούν αραιά δειγματοληπτικά σχήματα για κάθε άτομο. Η ιδιότητα αυτή στηρίζεται στην υπόθεση των παραμετρικών στατιστικών κατανομών για τις πληθυσμιακές ΦΚ παραμέτρους και την ανάλυση των δεδομένων από όλα τα άτομα ταυτόχρονα. Αυτό είναι ένα βασικό θετικό χαρακτηριστικό των μοντέλων μικτών επιδράσεων (Bonate & Peter, 2006).

1.2 Γκεβοκιζουμάμπη – Gevokizumab

1.2.1 Μηχανισμός Δράσης

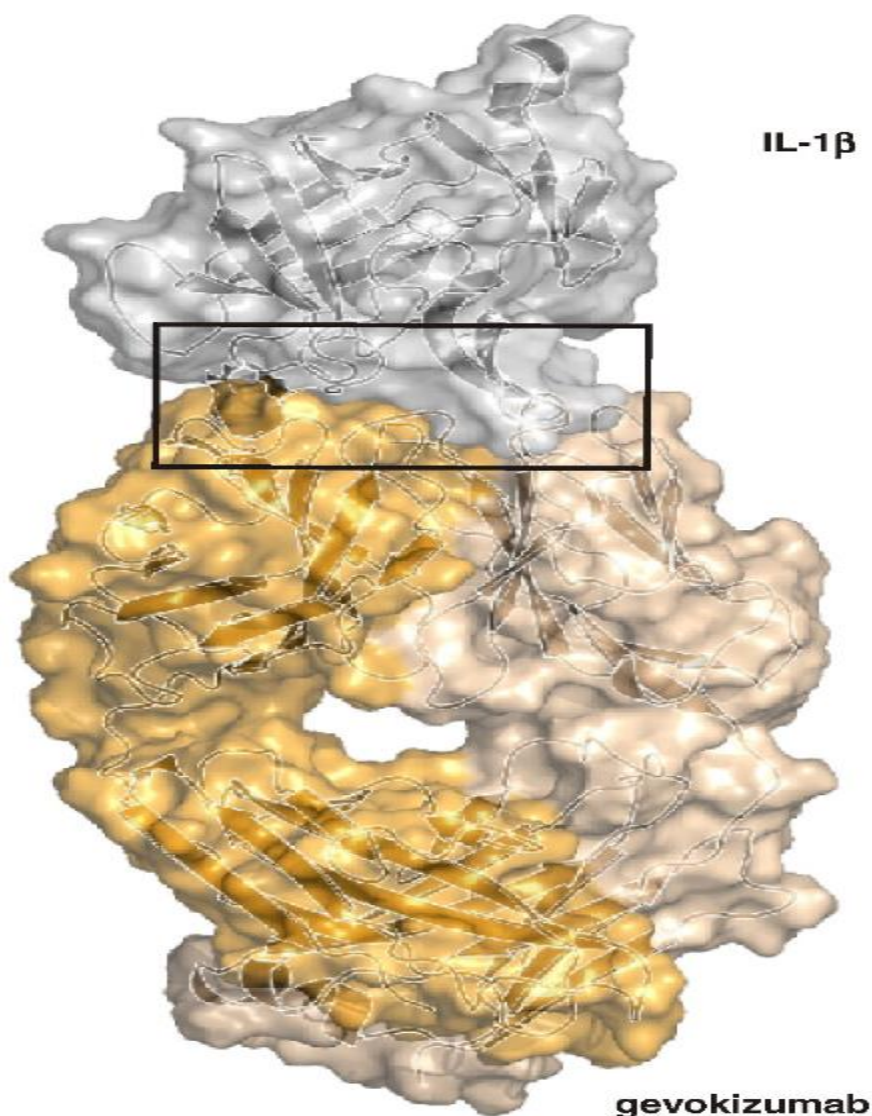
Η ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) είναι μία προ-φλεγμονώδης κυττοκίνη που εμπλέκεται σε πολλές φλεγμονώδεις νόσους, αλλά είναι και πολύ σημαντική στην άμυνα του οργανισμού κατά των παθογόνων. Συνεπώς, υπάρχει η ανάγκη να ρυθμιστεί η δραστικότητα της IL-1β με ασφάλεια και αποτελεσματικότητα έτσι ώστε να μειωθεί η παθολογική της δράση αλλά και να διατηρηθεί η λειτουργικότητα της. Η γκεβοκιζουμάμπη είναι ένα ισχυρό αντι-IL-1β αντίσωμα που αναπτύσσεται ως θεραπεία για ασθένειες στις οποίες η IL-1β έχει συσχετισθεί με παθογένεια. Αναστέλλει τα σηματοδοτικά μονοπάτια της IL-1β μέσω ενός αλλοστερικού μηχανισμού. Αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια συνιστούν μία πολύπλοκη, δυναμική διεργασία αποτελούμενη από πολλαπλά στοιχεία και μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίδραση του φαρμάκου στο σύστημα της IL-1β. Ειδικότερα, η γκεβοκιζουμάμπη μειώνει τη χημική συγγένεια που έχει η IL-1β για σύνδεση με τον IL-1 σηματοδοτικό υποδοχέα τύπου I (IL-1RI), αλλά δε μειώνει τη χημική της συγγένεια για σύνδεση με τον IL-1 υποδοχέα τύπου II. Σημειώνεται πως οι υποδοχείς τύπου II ή αλλιώς IL-1RII είναι είτε ρυθμιστικοί υποδοχείς προς απάντηση στη σύνδεση της IL-1β με τον υποδοχέα είτε υποδοχείς αντιπερισπασμού που αποτρέπουν τη σύνδεση της IL-1β με τους υποδοχείς IL-1RI. Η γκεβοκιζουμάμπη εμποδίζοντας τη σύνδεση της IL-1β στους IL-1RI εμποδίζει και την επακόλουθη στρατολόγηση των IL-1 συνεργών πρωτεϊνών κυρίως μειώνοντας τους σχετιζόμενους ρυθμούς αυτών των αλληλεπιδράσεων. Αυτό πιθανώς να επιτυγχάνεται λόγω του ότι το φάρμακο μειώνει τον κατά τα άλλα ταχύτατο ρυθμό σύνδεσης της IL-1β στον υποδοχέα της μεταβάλλοντας το ηλεκτροστατικό δυναμικό επιφανείας της IL-1β (*Issafras et al., 2014*).

Πιο συγκεκριμένα η ιντερλευκίνη-1β ασκεί τη δράση της μέσω του υποδοχέα IL-1RI και της IL-1R βοηθητικής πρωτεΐνης (IL-1RAcP), τα οποία μαζί σχηματίζουν ένα ετεροτριμερές σύμπλεγμα (IL-1β:IL-1RI:IL-1RAcP) ικανό να επάγει τα σηματοδοτικά μονοπάτια. Η γκεβοκιζουμάμπη είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που συνδέεται πολύ ισχυρά με την IL-1β και σε αντίθεση με άλλα μονοκλωνικά αντισώματα, όπως η κανακινουμάμπη, δεν αποκλείει όλους τους υποδοχείς IL-1R αλλά παρουσιάζει διαφορετικό μηχανισμό δράσης. Αποτελεί έναν αλλοστερικό τροποποιητή της IL-1β, καθώς προσδέεται στο αλλοστερικό κέντρο της, και ρυθμίζει τη βιολογική δράση της IL-1β μειώνοντας τη χημική συγγένειά της για το σηματοδοτικό σύμπλεγμα IL-1RI:IL-1RAcP.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τρεις εικόνες σχετιζόμενες με το μηχανισμό δράσης του φαρμάκου (*Blech et al., 2013*). Στην πρώτη εικόνα (σχήμα 1.2-1) παρουσιάζεται η

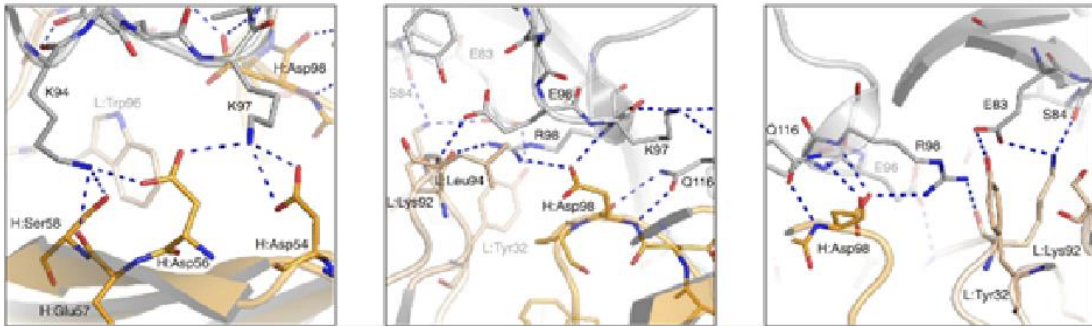
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

κρυσταλλική δομή του συμπλέγματος της IL-1β με το συνδετικό κομμάτι (Fab) του αντισώματος της γκεβοκιζουμάμπης: η IL-1β είναι χρωματισμένη γκρι, η βαριά αλυσίδα-heavy chain είναι χρωματισμένη σκούρο πορτοκαλί, ενώ η ελαφριά αλυσίδα-light chain ανοιχτό πορτοκαλί. Στη δεύτερη εικόνα (σχήμα 1.2-2) παρουσιάζεται μεγεθυμένο το μαύρο κουτί της πρώτης εικόνας, που αποτελεί τη συνδετική διεπιφάνεια ανάμεσα στην IL-1β και την γκεβοκιζουμάμπη. Παρουσιάζονται οι συνδετικές ομάδες-κλειδιά, ενώ με μπλε διακεκομμένη γραμμή φαίνονται οι σχηματιζόμενοι δεσμοί υδρογόνου.



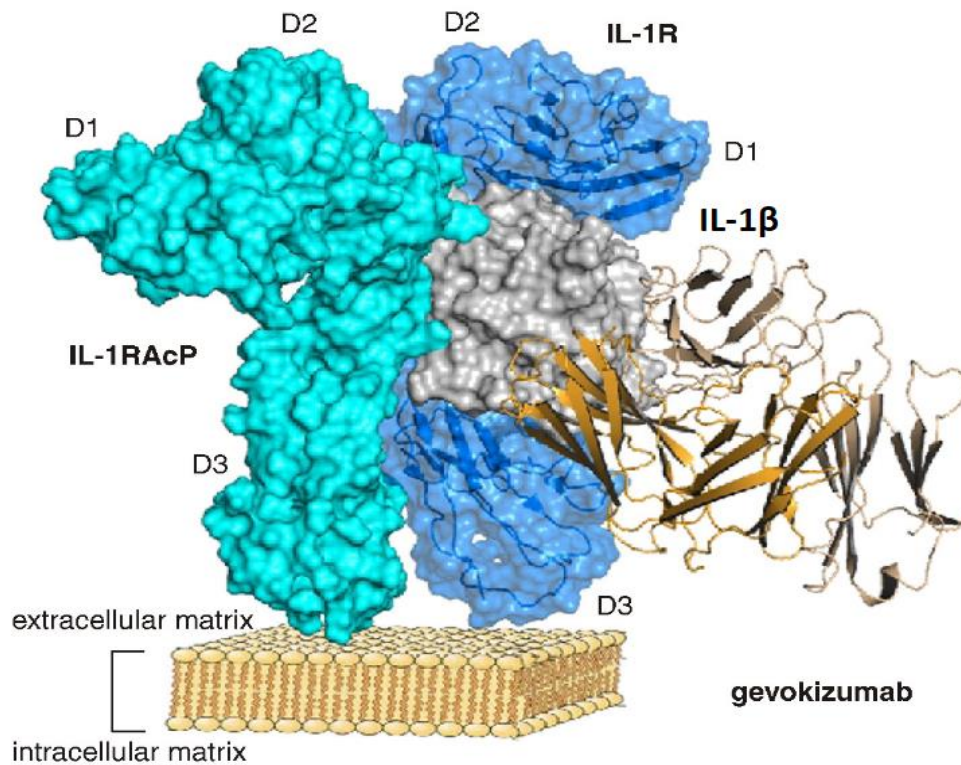
Σχήμα 1.2-1: Κρυσταλλική δομή του συμπλέγματος της IL-1β με το συνδετικό κομμάτι (Fab) του αντισώματος της γκεβοκιζουμάμπης.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή



Σχήμα 1.2-2: Συνδετική διεπιφάνεια ανάμεσα στην IL-1β και την γεβοκιζουμάμπη

Τέλος (σχήμα 1.2-3), παρουσιάζεται η υπέρθεση του συμπλέγματος IL-1β:γεβοκιζουμάμπης στο τριμερές σύμπλεγμα IL-1β:IL-1R:IL-1RAcP (IL-1β: γκρι; IL-1R: μπλε; IL-1RAcP: κυανό). Η σύνδεση της γεβοκιζουμάμπης στην IL-1β επάγει στη συνέχεια κυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια που οδηγούν στο επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα.



Σχήμα 1.2-3: Υπέρθεση του συμπλέγματος IL-1β:γεβοκιζουμάμπης στο τριμερές σύμπλεγμα IL-1β:IL-1R:IL-1RAcP

1.2.2 Δράσεις – Κλινικές Μελέτες

Πολλά θεραπευτικά αντισώματα δρουν ως ανταγωνιστές με σκοπό να αναστείλουν ισχυρά τα κυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια. Ωστόσο, είναι απαραίτητο τα μονοκλωνικά αντισώματα όχι μόνο να αναστέλλουν την ισχυρή παθογένεια αλλά και να επιτρέπουν τη σηματοδότηση σε σημαντικά βιολογικά μονοπάτια ώστε να προκύπτει η ομοιόσταση. Όπως είδαμε προηγουμένως, αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη ρύθμιση της κινητικής ενός προσδέτη (ligand) ώστε αυτός να προσδέεται στους διάφορους υποδοχείς του και τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες και να μην αποκλείει όλα τα σηματοδοτικά μονοπάτια. Επιπλέον, η γκεβοκιζουμάμπη, όπως είδαμε, έχει την ικανότητα να συνδέεται με υποδοχείς αντιπερισπασμού, γεγονός που μπορεί να μειώσει τη συσσώρευση συμπλεγμάτων του αντισώματος με το στόχο. Συνεπώς, η γκεβοκιζουμάμπη είναι ένας νέου τύπου, εκλεκτικός ρυθμιστής των σηματοδοτικών μονοπατιών της IL-1β, και όχι ένας απλός ανταγωνιστής της, και συνεπώς μπορεί να αποτελέσει μία εναλλακτική επιλογή στις σύγχρονες θεραπείες των φλεγμονωδών ασθενειών που σχετίζονται με την προ-φλεγμονώδη αυτήν κυττοκίνη (Roell et al. 2010).

Τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο πραγματοποιείται κλινική μελέτη φάσης I για την γκεβοκιζουμάμπη. Στην κλινική αυτή μελέτη θα καθοριστεί η φαρμακοδυναμικά-ενεργή δόση του φαρμάκου, η ανεκτή δόση του και η προκαταρκτική αποτελεσματικότητά του σε συνδυασμό με την πρότυπη αντικαρκινική θεραπεία σε ασθενείς με μεταστατικό ορθοκολικό καρκίνο, μεταστατικό καρκίνο του οισοφάγου καθώς και μεταστατικό καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων. Η μελέτη αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2023 (25 Μαΐου, 2023) (ClinicalTrials.gov). Σημειώνεται πως όλες οι προηγούμενες ασθένειες σχετίζονται άμεσα με την IL-1β (Voronov & Apte, 2015; Shenglu Yin et al., 2016; Petrella & Vincenti, 2012).

1.3 Φαρμακοκινητική Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

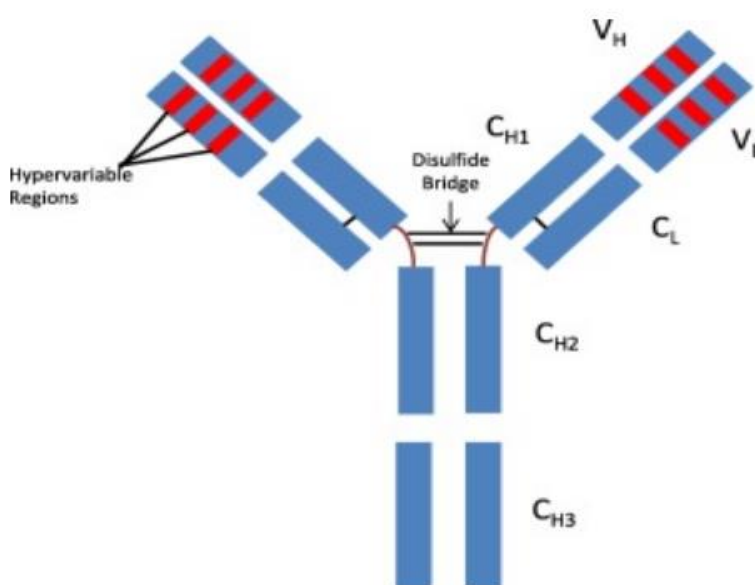
Τα μονοκλωνικά αντισώματα (monoclonal antibodies - mAbs) έχουν αναπτυχθεί τις τελευταίες δύο δεκαετίες ως η ραχοκοκαλιά των φαρμακοθεραπευτικών παρεμβάσεων σε μία ποικιλία ασθενειών, με περισσότερα από 40 mAbs να έχουν ήδη εγκριθεί από τον αμερικανικό οργανισμό φαρμάκων (FDA) και αρκετά χιλιάδες να βρίσκονται υπό κλινική ανάπτυξη. Τα mAbs αποτελούν μία μοναδική τάξη φαρμάκων που επιδεικνύουν ΦΚ συμπεριφορά καθορισμένη και ελεγχόμενη από συγκεκριμένους μηχανισμούς και διεργασίες σχετιζόμενες με τη διάθεσή τους. Παρότι υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές στη φαρμακοκινητική μεμονωμένων mAbs, η γενική τους συμπεριφορά μπορεί να θεωρηθεί ως ενιαία καθώς

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

προσομοιάζει τη συμπεριφορά της ανασοσφαιρίνης IgG, που είναι ένα ενδογενές ομόλογό τους μόριο (Ryman & Bernd, 2017).

1.3.1 Δομή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Όλα τα θεραπευτικά mAbs που χρησιμοποιούνται κλινικώς σήμερα είναι mAbs της ανοσοσφαιρίνης G (IgG) (Mould & Meibohm, 2016) και κατέχουν την ίδια βασική δομή, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.3-1: είναι μεγάλα μόρια ετεροδιμερών πρωτεϊνών με Μοριακό Βάρος ~150 kDa και αποτελούνται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες (50 kDa) και δύο ελαφριές αλυσίδες (25 kDa). Οι βαριές και οι ελαφριές αλυσίδες συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς και σχηματίζουν ένα Y-σχήμα που αποτελείται από σταθερά τμήματα (C_H και C_L - Constant Domains) και από μεταβλητά τμήματα (V_H και V_L -Variable Domains). Οι δύο μεταβλητές περιοχές και τα τμήματα C_{H1} των βαριών αλυσίδων αποτελούν το τμήμα σύνδεσης (Fab) του αντισώματος με το αντιγόνο με κάθε μεταβλητή περιοχή να περιέχει τη συμπληρωματική-καθοριστική περιοχή, η οποία είναι πολύ εκλεκτική για το αντιγόνο-στόχο. Η τάξη IgG υποδιαιρείται σε τέσσερις υποομάδες: IgG₁, IgG₂, IgG₃ και IgG₄ (Davis J.D. et al., 2013). Τα mAbs που κυκλοφορούν στην αγορά σήμερα ανήκουν κυρίως στην ομάδα IgG₁ και δευτερευόντως στις ομάδες IgG₂ και IgG₄ (Dirks & Meibohm, 2010).



Σχήμα 1.3-1: Βασική δομή μονοκλωνικών αντισωμάτων

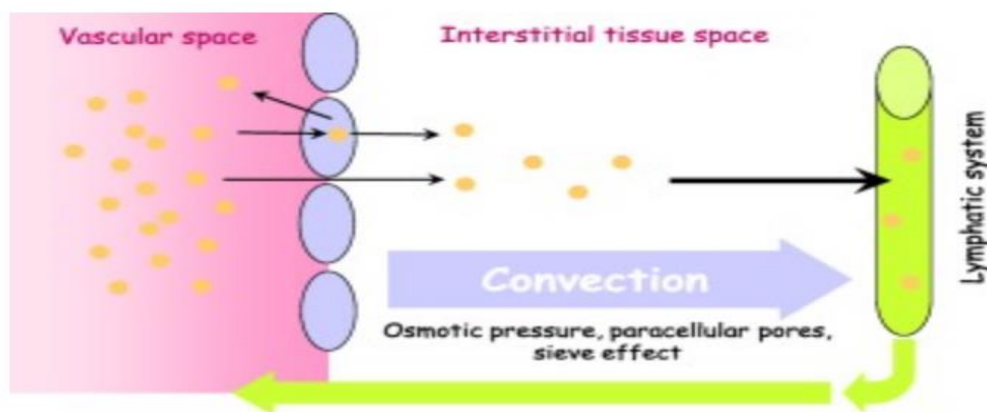
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Παρόμοια με άλλα βιολογικά προϊόντα, τα mAbs παράγονται κατά παρτίδες σε ζωντανά κύτταρα. Συνεπώς, καθορίζονται κυρίως από τη διεργασία παραγωγής και όχι τόσο από τη χημική τους δομή και η μεταβλητότητα από παρτίδα σε παρτίδα στα τελικά προϊόντα πρέπει να ελεγχθεί αυστηρώς μέσω καθιερωμένων και προσεκτικά ελεγχόμενων συνθηκών κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των κυττάρων, των διεργασιών παραγωγής και των βημάτων καθαρισμού (Kadir F. et al., 2013).

1.3.2 Κατανομή Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Η έκταση της κατανομής των μονοκλωνικών αντισωμάτων εξαρτάται από το ρυθμό διαπέρασης του mAb από το αιμοφόρο αγγείο στον ιστό (extravasation rate), από την κατανομή του στο διάμεσο χώρο του ιστού (interstitial tissue space), από τη σύνδεση του αντισώματος στα συστατικά του ιστού, όπως είναι οι κυτταρικές επιφάνειες, και από την κάθαρση από τον ιστό, συμπεριλαμβανομένης της ενδοκυτταρικής πρόσληψης και αποδόμησης. Η διαπέραση του mAb από το αιμοφόρο αγγείο στον ιστό μπορεί να συμβεί μέσω τριών βασικών μηχανισμών: παθητική διάχυση, μεταφορά με συναγωγή (convection) και διακυττάρωση μέσω αγγειακών επιθηλιακών κυττάρων. Εξαιτίας των φυσικοχημικών ιδιοτήτων και του μεγάλου μεγέθους των mAbs, η παθητική διάχυση δεν παίζει σημαντικό ρόλο στη διαπέραση του αντισώματος από τα αιμοφόρα αγγεία στους ιστούς. Ο κύριος μηχανισμός μέσω του οποίου τα mAbs κατανέμονται από το αίμα στους ιστούς είναι η μεταφορά με συναγωγή (αγωγή θερμότητας) (Baxter et al., 1994). Η συναγωγή καθορίζεται από τη ροή του υγρού από τον αγγειακό χώρο στον ιστό, η οποία ωθείται από το ποσοστό αλλαγής της πίεσης του αίματος από σημείο σε σημείο στον ιστό και από την κατεύθυνση αλλαγής (υδροστατική κλίση-hydrostatic gradient) καθώς επίσης και από το αποτέλεσμα κοσκινίσματος (sieving effect) μέσα από τους παρακυτταρικούς πόρους (paracellular pores) στο αγγειακό επιθήλιο (Baxter et al., 1994; Flessner et al., 1997; Covell et al., 1986). Αυτό το αποτέλεσμα κοσκινίσματος καθορίζεται από το μέγεθος, το συντελεστή στρεβλότητας και τον αριθμό των πόρων, καθώς επίσης και από το μέγεθος, το σχήμα και το φορτίο του αντισώματος (Baxter et al., 1994; Covell et al., 1986). Η αρχή πίσω από τη συναγωγή φαίνεται στο σχήμα 1.3-2. Η διαφορά ανάμεσα στην υδροστατική και την ογκωτική (κolloειδοσμοτική) πίεση, συζευγμένη με το προαναφερθέν αποτέλεσμα του κοσκινίσματος, συνεισφέρει στη συνισταμένη κινητήρια δύναμη για τη διαπέραση του mAb από τα αιμοφόρα αγγεία στους ιστούς (Meibohm, 2013).

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή



Σχήμα 1.3-2: Αρχή της συναγωγής

Μετά τη διαπέραση του αντισώματος στους ιστούς, η κατανομή του στο διάμεσο χώρο εξαρτάται από τη διάχυση, τη συναγωγή και τη χημική συγγένεια με το αντιγόνο-στόχο μέσα στο διάμεσο χώρο ή πάνω στις κυτταρικές επιφάνειες των ιστών. Σε περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει αντιγόνο-στόχος για να συνδεθεί το mAb ή ο στόχος είναι στο πλάσμα, η κατανομή του αντισώματος αναμένεται να είναι περιορισμένη. Τα mAbs που έχουν ένα στόχο στο διαμέρισμα του ιστού αναμένεται πιθανότατα να έχουν μεγαλύτερο όγκο κατανομής. Αξίζει να σημειωθεί πως όταν η συνδετική χωρητικότητα του στόχου είναι περιορισμένη, μία μη γραμμική κατανομή μπορεί να συμβεί όπου ο όγκος της κατανομής σε σταθερή κατάσταση μειώνεται καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του αντισώματος στο πλάσμα (*Glassman et al., 2015*).

Όσον αφορά μεγάλες πρωτεΐνες, όπως είναι τα μόρια IgG, η κατανομή στους ιστούς παρεμποδίζεται ακόμη περισσότερο από την εξωκυττάρια μήτρα. Ο ενδιάμεσος χώρος είναι γεμάτος με εξωκυττάρια μήτρα, η οποία έχει μία υφή γέλης με ένα συνολικό αρνητικό φορτίο και αποτελείται κυρίως από γλυκοζαμινογλυκάνες (για παράδειγμα υαλουρονικό οξύ) καθώς και δομικές πρωτεΐνες, όπως το κολλαγόνο. Υπάρχει ένας αμοιβαίος αποκλεισμός ανάμεσα στα μόρια IgG και τις δομικές πρωτεΐνες της εξωκυττάριας μήτρας. Το κλάσμα της εξωκυττάριας μήτρας το οποίο δεν είναι διαθέσιμο για κατανομή εκφράζεται ως αποκλεισμένος όγκος (*excluded volume*) κατανομής (*Meibohm, 2013*). Αυτός ο όγκος εξαρτάται από το Μοριακό Βάρος και το φορτίο του μακρομορίου και περιορίζει περαιτέρω την εξωαγγειακή κατανομή των mAbs (*Wiig et al., 2003*). Έχει αναφερθεί πως ο αποκλεισμένος όγκος για τα IgG μόρια είναι ~50% στο μυϊκό και το δερματικό ιστό (*Bell et al., 1980; Mullins et al., 1982*).

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Η απομάκρυνση του αντισώματος από το διάμεσο χώρο εξαρτάται από το ρυθμό της συναγωγής του μέσα στη λέμφο. Η διαδικασία είναι η ίδια όπως και στη συναγωγή από τα αιμοφόρα αγγεία στο διάμεσο χώρο του ιστού και εξαρτάται και πάλι από τους ρυθμούς μεταβολής των πιέσεων, το ρυθμό ροής του υγρού (εδώ ρυθμό ροής της λέμφου) και από το κοσκίνισμα. Τα λεμφοφόρα τριχοειδή (μικρότερα αγγεία του δικτύου) απάγουν τη λέμφο από τους ιστούς. Από τα λεμφοφόρα τριχοειδή η λέμφος φέρεται στα μικρά λεμφαγγεία και στη συνέχεια αυτά συμβάλουν και σχηματίζουν τα μεγάλα λεμφαγγεία. Τελικώς, η λέμφος, αφού προηγουμένως έχει περάσει από τουλάχιστον ένα λεμφογάγγλιο (ή λεμφαδένα), διοχετεύεται στο φλεβικό σύστημα στη βάση του τραχήλου (λαιμού) με δύο μεγάλα λεμφαγγεία που ονομάζονται μείζων και ελάσσων θωρακικός πόρος.

Σημειώνεται πως αυτοί οι θωρακικοί πόροι έχουν σχετικά μεγάλη διάμετρο συγκριτικά με τους παρακυττάριους πόρους του αγγειακού επιθηλίου και συνεπώς η κίνηση των mAbs από το διάμεσο χώρο του ιστού στη λέμφο συναντά μικρότερη αντίσταση σε σύγκριση με τη διαπέρασή τους από τα αιμοφόρα αγγεία στους ιστούς. Λόγω της συντριπτικής διαφοράς στην απόδοση μεταξύ της συναγωγής στο διάμεσο χώρο του ιστού και εκτός αυτού, οι συγκεντρώσεις του μη συνδεδεμένου αντισώματος είναι πολύ μικρότερες στο διάμεσο χώρο απ' ό τι στον αγγειακό χώρο. Αυτή η διαφορά των συγκεντρώσεων είναι πιο αισθητή σε ιστούς με σφιχτές συνδέσεις ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και όχι τόσο σε ιστούς με διαπερατά τριχοειδή αγγεία (*Dirks & Meibohm, 2010*).

Φυσιολογικά Φαρμακοκινητικά (Physiologically based pharmacokinetic - PBPK) μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί για να περιγράψουν τη διαδικασία κατανομής ενός αντισώματος μέσω συναγωγής ως προϊόν του ρυθμού ροής της λέμφου, που αναπαριστά την υδροστατική κλίση, και έναν όρο αποδοτικότητας ($1-\sigma$). Το σ είναι ένας συντελεστής ανάκλασης και αντιπροσωπεύει το ποσοστό του αντισώματος που κοσκινίζεται κατά τη διάρκεια της κίνησης του αίματος μέσω των πόρων και μπορεί να πάρει τιμές από 0 έως 1. Για μεγαλομόρια, όπως τα mAbs, οι συντελεστές ανάκλασης θεωρείται ότι έχουν τιμή περίπου 0.95 σε ιστούς με συνεχή τριχοειδή (σφιχτές συνδέσεις ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα), όπως είναι οι συνδετικοί ιστοί, το δέρμα και οι μύες. Αντίθετα, οι συντελεστές ανάκλασης ιστών με διαπερατά-μη συνεχή τριχοειδή αγγεία (διαρρέουσες συνδέσεις ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα), όπως είναι το ήπαρ, ο σπλήνας και ο μυελός των οστών, έχουν μικρότερη τιμή (*Caio et al., 2013*).

1.3.3 Απομάκρυνση Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Τα αντισώματα απομακρύνονται είτε με απέκκριση είτε με καταβολισμό. Σε αντίθεση με μικρά μόρια, τα mAbs είναι πολύ μεγάλα για να φιλτραριστούν από τους νεφρούς και δεν απομακρύνονται στα ούρα παρά μόνο σε παθολογικές καταστάσεις (*Berdeja et al., 2016*). Αν τύχει και φιλτραριστούν από τους νεφρούς τμήματα του αντισώματος χαμηλού Μοριακού Βάρους, συνήθως επαναπορροφούνται και μεταβολίζονται στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο του νεφρόνα (*Waldmann et al., 1972*). Η απέκκριση μέσω της χολής γίνεται για ένα πολύ μικρό ποσοστό της απομάκρυνσης των IgG αντισωμάτων. Συνεπώς η απομάκρυνση των IgG αντισωμάτων συμβαίνει κυρίως μέσω ενδοκυτταρικού καταβολισμού με λυσοσωμική αποδόμηση σε αμινοξέα μετά από την πρόσληψή τους. Η πρόσληψη αυτή πραγματοποιείται είτε με πινοκυττάρωση, μία μη ειδική υγρή φάση ενδοκυττάρωσης, είτε με μία ενδοκυτταρική διεργασία μεσολαβούμενη από υποδοχέα (*Waldmann & Strober, 1969*).

Επειδή η ενδοκυτταρική πρόσληψη των αντισωμάτων μέσω της πινοκυττάρωσης δε διαφοροποιεί ποιες πρωτεΐνες στο περιβάλλον ενός κυττάρου προσλαμβάνονται για αποδόμηση, ένας προστατευτικός μηχανισμός για τα IgG μόρια είναι υποχρεωτικό να υπάρχει για να διατηρηθούν οι συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα έτσι ώστε να υποστηριχτεί η φυσιολογική τους λειτουργία παροχής μακροπρόθεσμης ανοσίας. Αυτό το μονοπάτι διάσωσης παρέχεται από το νεογνικό επιφανειακό κυτταρικό υποδοχέα FcRn (neonatal Fc receptor), ο οποίος συνδέεται με την Fc (Fragment crystallizable) περιοχή του αντισώματος. Ο υποδοχέας αυτός ονομάζεται αλλιώς και υποδοχέας Brambell (*Brambell et al., 1964*). Ως αποτέλεσμα, ο χρόνος ημιζωής απομάκρυνσης για τις ανοσοσφαιρίνες IgG₁, IgG₂ και IgG₄ είναι ~18–21 μέρες, που είναι αισθητά μεγαλύτερος από το χρόνο ημιζωής άλλων πρωτεϊνών παρόμοιου Μοριακού Βάρους (*Kontermann, 2011*).

1.3.4 Οδοί χορήγησης Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Τα mAbs δεν έχουν σημαντική βιοδιαθεσιμότητα όταν χορηγούνται per os λόγω του μεγάλου μεγέθους τους, της περιορισμένης ικανότητάς τους να διαπερνούν μεμβράνες, καθώς και λόγω της περιορισμένης σταθερότητάς τους απέναντι στη δράση των πρωτεασών του γαστρεντερικού σωλήνα. Συνεπώς, η ενδοφλέβια έγχυση (i.v. infusion) είναι η πιο συνηθισμένη οδός χορήγησης, ακολουθούμενη από την υποδόρια (s.c.) και την ενδομυϊκή (i.m.) ένεση. Η υποδόρια ένεση χρησιμοποιείται στην πλειονότητα των mAbs τα οποία δε δίνονται ενδοφλεβίως (*Josiah et al., 2017*).

1.3.5 Επίδραση του Φορτίου του Αντισώματος στη Φαρμακοκινητική του

Ένας παράγοντας που επηρεάζει τη ΦΚ του αντισώματος αποτελεί το φορτίο του. Το φορτίο είναι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του πώς ένα mAb αλληλεπιδρά με τα αρνητικώς φορτισμένα συστατικά της επιφάνειας του κυττάρου. Μεταβολές στο φορτίο έχουν δείξει πως αλλάζουν τη ΦΚ συμπεριφορά των mAbs στον ορό του αίματος, στο διάμεσο χώρο και τους ιστούς (Boswell, 2010). Μία αύξηση του ισοηλεκτρικού σημείου (pI) μεγαλύτερη από μία μονάδα, μέσω κατιονικών τροποποιήσεων για παράδειγμα, αυξάνει την κάθαρση από το πλάσμα και οδηγεί σε υψηλότερη κατανομή στους ιστούς (Hervé, 2008). Τα mAbs με υψηλότερες τιμές pI όχι μόνο έχουν υψηλότερη συστηματική κάθαρση αλλά έχουν και χαμηλότερη s.c. βιοδιαθεσιμότητα συγκριτικά με αντισώματα με χαμηλότερες τιμές pI (Zheng Y. et al., 2012). Αντιθέτως, ανιονικές τροποποιήσεις που προκαλούν μείωση στις τιμές pI 1-2 μονάδες, έχουν δείξει πως μειώνουν την κάθαρση από το πλάσμα και τη συγκέντρωση στους ιστούς (Kobayashi et al., 1999). Αν και δεν αναμένεται να επηρεάσει τη φαρμακοκινητική των mAbs οποιαδήποτε μικρή αλλαγή στην τιμή pI, οι αλλαγές πάνω από μία μονάδα προς είτε τη μία είτε την άλλη κατεύθυνση θεωρούνται ικανές να επηρεάσουν αισθητά τη ΦΚ των αντισωμάτων (Khawli et al., 2010).

1.3.6 Μοντελοποίηση της Φαρμακοκινητικής των Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Η ΦΚ των περισσότερων θεραπευτικών mAbs έχει περιγραφεί με διαμερισματικές προσεγγίσεις μοντελοποίησης, χρησιμοποιώντας το κλασικό δι-διαμερισματικό μοντέλο με αναστρέψιμη μεταφορά του φαρμάκου ανάμεσα σε ένα κεντρικό διαμέρισμα και ένα περιφερικό. Η απομάκρυνση του φαρμάκου συνήθως γίνεται από το κεντρικό διαμέρισμα και έχει γραμμική, πρωτοταξική κινητική. Η απομάκρυνση αυτή μπορεί να συμπληρώνεται από μία παράλληλη, μη γραμμική απομάκρυνση που παρουσιάζει κινητική Michaelis-Menten με έναν ορισμένο μέγιστο ρυθμό απομάκρυνσης (V_{max}) και μία Michaelis-Menten σταθερά (k_m) που ορίζει τη συγκέντρωση στην οποία η απομάκρυνση κορέννυται κατά το ήμισυ (Dirks & Meibohm, 2010; Keizer et al., 2010).

Φυσιολογικά-Φαρμακοκινητικά (PBPK) μοντέλα εφαρμόζονται τελευταία όλο και πιο συχνά για το χαρακτηρισμό της πολύπλοκης φαρμακοκινητικής των θεραπευτικών mAbs. Σκοπός αυτών των PBPK μοντέλων είναι να επεκταθεί η μοντελοποίηση των mAbs από την απλή περιγραφή του φαρμακοκινητικού προφίλ του φαρμάκου στο πλάσμα ως προς το χρόνο στο προφίλ του φαρμάκου στους ιστούς τις διάφορες χρονικές στιγμές καθώς επίσης και να διευκολυνθεί μία πιο μηχανιστική κατανόηση της επιρροής της διάθεσης των mAbs.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Κάποιες διαδικασίες που αφορούν την πολύπλοκη διάθεση των mAbs είναι η διαπέρασή τους από το αιμοφόρο αγγείο στον ιστό μέσω συναγωγής, η ανακύκλωσή τους από τους υποδοχείς FcRn και η πρωτεολυτική αποδόμησή τους (Wong & Chow, 2017). Ένα πρόσφατο παράδειγμα ενός πλήρους PBPΚ μοντέλου περιλαμβάνει 16 διαμερίσματα ιστών (παρουσία της λέμφου), καθένα από τα οποία διαιρείται περαιτέρω σε αγγειακό, ενδοσωματικό, ενδιάμεσο και κυτταρικό υποδιαμέρισμα. Επίσης, το μοντέλο περιλαμβάνει φυσιολογικές παραμέτρους για τέσσερα είδη (ποντικό, αρουραίο, πίθηκο και άνθρωπο) και διαφορετικούς αγγειακούς συντελεστές ανάκλασης για τους ιστούς. Ακόμη χρησιμοποιεί μία σταθερά σύνδεσης και σταθερές αποσύνδεσης μεταξύ του αντισώματος και του υποδοχέα FcRn, ρυθμούς αποδόμησης για το μη συνδεδεμένο αντίσωμα με τον FcRn υποδοχέα, καθώς και πινοκυτταρική κάθαρση (Shah & Betts, 2012).

Η ελάχιστη δυνατή φυσιολογική φαρμακοκινητική (minimal PBPΚ) μοντελοποίηση μπορεί να θεωρηθεί ως ένα ενδιάμεσο έδαφος ανάμεσα στην κλασική διαμερισματική μοντελοποίηση και την πλήρη PBPΚ μοντελοποίηση. Τα minimal PBPΚ μοντέλα επιτρέπουν την ενσωμάτωση μηχανιστικών στοιχείων κλειδιών της διάθεσης των φαρμάκων χωρίς να υπάρχει η ανάγκη για εκτεταμένες συλλογές φυσιολογικών και θεωρητικών παραμέτρων. Στην επόμενη παράγραφο 1.4 αναλύεται το minimal PBPΚ μοντέλο δεύτερης γενιάς, το οποίο έχει προταθεί για την γκεβοκιζουμάμπη (Cao et al., 2013), καθώς αυτό είναι που θα χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια στην παρούσα εργασία.

1.3.7 Πληθυσμιακή Μεταβλητότητα Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Παρόλο που υπάρχει ουσιαστική ετερογένεια στη διάθεση και τη ΦΚ των mAbs, ιδιαίτερα αν περιλαμβάνονται διεργασίες κορεσμού της κατανομής και της απέκκρισης του φαρμάκου, πολλά mAbs που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη έχουν παρόμοια ΦΚ συμπεριφορά η οποία είναι ανάλογη των ενδογενών μορίων IgG. Στην περίπτωση του δι-διαμερισματικού μοντέλου οι πληθυσμιακές εκτιμήσεις των όγκων κατανομής στα κεντρικά (V_c) και τα περιφερικά διαμερίσματα (V_p) έχουν συνήθως μικρές τιμές, με διάμεσες τιμές ίσες με 3.1 (εύρος: 2.4-5.5) L και 2.8 (εύρος: 1.3-6.8) L αντιστοίχως, δηλώνοντας την περιορισμένη ικανότητα που έχουν τα mAbs, ως μεγάλα πρωτεϊνο-μόρια που είναι, να φύγουν από τον αγγειακό χώρο (Dirks & Meibohm, 2010). Η εκτιμώμενη δι-ατομική μεταβλητότητα του όγκου κατανομής στο κεντρικό διαμέρισμα V_c είναι συνήθως μέτρια, με το συντελεστή μεταβλητότητας να έχει διάμεση τιμή 26% (Dirks & Meibohm, 2010). Ακόμη πιο περιορισμένη είναι η διαθέσιμη πληροφορία για τη δι-ατομική μεταβλητότητα σε άλλες-σχετιζόμενες με την κατανομή του φαρμάκου- παραμέτρους, όπως είναι ο όγκος κατανομής

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

στο περιφερικό διαμέρισμα V_p . Η κάθαρση των mAbs με γραμμική κινητική απομάκρυνσης κυμαίνεται από 0.2 έως 0.5 L/ημέρα, τιμές που είναι σχετικά κοντά με την εκτιμώμενη τιμή της κάθαρσης της ενδογενούς IgG (0.21 L/ημέρα). Η δι-ατομική μεταβλητότητα της κάθαρσης έχει βρεθεί πως είναι μέτρια με τον αντίστοιχο συντελεστή μεταβλητότητας να έχει διάμεση τιμή 33% και εύρος: 20% - 59% (*Dirks & Meibohm, 2010*). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και με μία πληθυσμιακή φαρμακοκινητική μετα-ανάλυση τεσσάρων mAbs (*Davda et al., 2014*). Ωστόσο, αυτές οι τιμές μπορούν να τροποποιηθούν περαιτέρω ανάλογα με τους διάφορους παράγοντες που σχετίζονται είτε με το αντίσωμα που χορηγείται είτε με την κατάσταση του ασθενούς στον οποίο χορηγείται το φάρμακο.

1.4 Δεύτερης Γενιάς Ελάχιστα Δυνατά Φυσιολογικά Φαρμακοκινητικά (Second generation mPBPK) Μοντέλα

1.4.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Οι φαρμακοκινητικές μελέτες είναι πολύ σημαντικές σχεδόν σε κάθε στάδιο ανάπτυξης των φαρμάκων και ένα κατάλληλο ΦΚ μοντέλο μπορεί να βοηθήσει στην ποσοτικοποίηση και την πρόβλεψη των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών ενός φαρμάκου (*Lin & Lu, 1997*). Είναι τεκμηριωμένο πως τα mAbs επιδεικνύουν πολλές διαφορετικές ΦΚ συμπεριφορές συγκριτικά με μικρά μόρια (*Wang et al., 2008*), όπως είναι η περιορισμένη διαπερατότητα των αγγείων, η πολύ λιγότερη νεφρική διήθηση, ο μικρότερος ηπατικός μεταβολισμός και πολύ συχνά η μη γραμμικότητα μεσολαβούμενη από υποδοχείς. Μοντέλα που ικανοποιούν αυτά τα συγκεκριμένα ΦΚ χαρακτηριστικά θα ήταν πολύ βοηθητικά. Αν και ένα τυπικό δι-εκθετικό (bi-exponential) ΦΚ προφίλ συχνά παρατηρείται σε πολλά mAbs (δι-διαμερισματικό μοντέλο), οι υποκείμενες διαδικασίες είναι εγγενώς διαφορετικές από εκείνες των μικρών μορίων. Συνεπώς, στις ΦΚ αναλύσεις των mAbs, οι κλασικές ΦΚ προσεγγίσεις (Μη Διαμερισματική Ανάλυση-NCA, δι-διαμερισματικά μοντέλα-2CM) θα πρέπει να εφαρμόζονται με προσοχή, καθώς η ανάλυση μερικές φορές καταλήγει να περιλαμβάνει προβλήματα προς ερμηνεία (*Richter et al., 2011; Garzone & Atkinson, 2012*), ιδιαίτερα για εκείνα τα mAbs με δράση μέσα σε περιφερικούς ιστούς ή με κάθαρση από ιστούς που δεν είναι σε ταχεία εξισορρόπηση με το πλάσμα.

Τα mPBPK μοντέλα προσφέρουν μία απλή και λογική προσέγγιση μοντελοποίησης ώστε να ενσωματώσουν φυσιολογικά χαρακτηριστικά στη ΦΚ ανάλυση όταν είναι διαθέσιμα μόνο

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

δεδομένα πλάσματος (Cao & Jusko, 2012). Έχει προταθεί (Cao et al., 2013) ένα mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς, το οποίο αναπτύχθηκε λαμβάνοντας υπόψη τη μοναδική ΦΚ συμπεριφορά των mAbs. Πιο συγκεκριμένα, το μοντέλο διαιρεί τους ιστούς του συστήματος σε δύο ομάδες με βάση τη δομή του αγγειακού ενδοθηλίου, συνεχείς και διακεκομμένους ή πορώδεις. Η λέμφος θεωρήθηκε ως ένα ξεχωριστό διαμέρισμα σε αυτό το μοντέλο και η συναγωγή θεωρήθηκε ο πρωταρχικός μηχανισμός μετακίνησης των mAbs από το πλάσμα στους ιστούς και επιστροφής τους στο πλάσμα. Σημειώνεται πως το ενδιάμεσο υγρό (interstitial fluid-ISF) θεωρήθηκε ο κύριος χώρος εξωαγγειακής κατανομής των αντισωμάτων. Δεδομένου του ότι η εξωαγγειακή κατανομή εμφανίζεται να καθορίζεται κυρίως από το αντίσωμα στο ενδιάμεσο υγρό, με μικρή μόνο συνεισφορά της μάζας του μέσα στα ενδοθηλιακά ενδοσώματα, το συγκεκριμένο μοντέλο λαμβάνει υπόψη μόνο το ενδιάμεσο υγρό (ISF) ως εξωαγγειακό χώρο κατανομής (Cao et al., 2013).

Το mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς παρέχει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ως γενική προσέγγιση αν είναι διαθέσιμα προς ανάλυση μόνο δεδομένα συγκέντρωσης του mAb στο πλάσμα ως προς το χρόνο και παράγει παραμέτρους προσφέροντας καλύτερη ΦΚ εικόνα από τη Μη Διαμερισματική Ανάλυση και από το Δι-Διαμερισματικό μοντέλο. Ένα χαρακτηριστικό του μοντέλου αυτού είναι η δυνατότητα πρόβλεψης της συγκέντρωσης των αντισωμάτων στο ενδιάμεσο υγρό δύο ομαδοποιημένων κατηγοριών ιστών, το οποίο είναι πάντα ένα απαιτητικό καθήκον για τις πειραματικές μετρήσεις. Αυτό είναι πάρα πολύ σημαντικό για αντισώματα με στόχους στο ενδιάμεσο υγρό (ISF) των ιστών, εφόσον οι προβλεπόμενες συγκεντρώσεις των αντισωμάτων στο ISF μπορεί να παρέχουν εκτιμήσεις της χωρητικότητας των υποδοχέων καθώς και εκτιμήσεις των επακόλουθων φαρμακοδυναμικών αποτελεσμάτων στο σημείο δράσης, το οποίο διαφορετικά θα πρέπει να βασίζεται στις συγκεντρώσεις των mAbs στο πλάσμα.

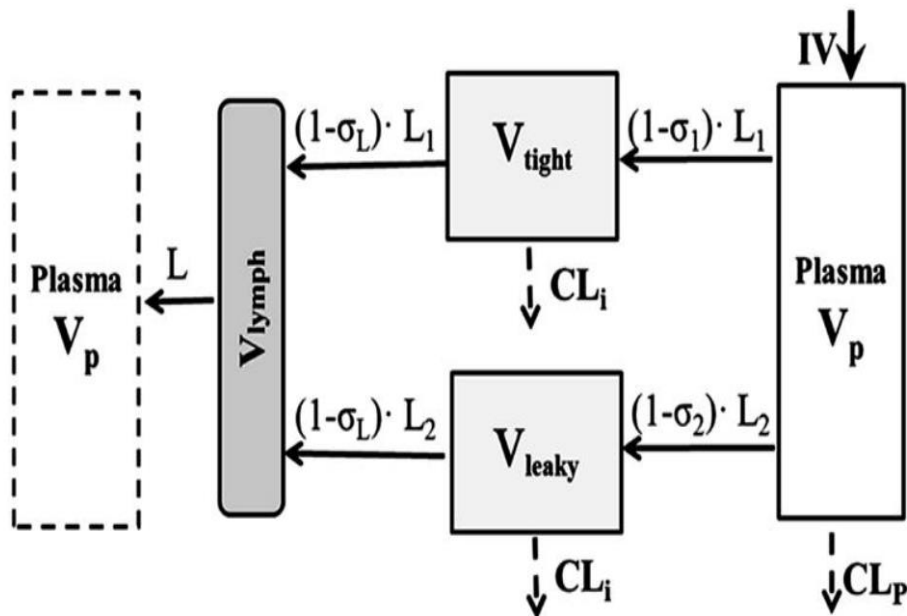
Συμπερασματικά, το συγκεκριμένο mPBPK μοντέλο προσφέρει μία πιο μηχανιστική προσέγγιση για την ανάλυση της ΦΚ των mAbs στο πλάσμα σε σύγκριση με τα διαμερισματικά μοντέλα και εκτιμά παραμέτρους παρέχοντας χρήσιμη εγγενή γνώση της κατανομής και της απομάκρυνσης των αντισωμάτων που χορηγούνται στον άνθρωπο. Τέλος, το μοντέλο χρησιμοποιεί τα κυρίαρχα δομικά χαρακτηριστικά των πλήρων PBPK μοντέλων για τα mAbs και αποτελεί μία ενδιάμεση μέθοδο εάν ένα πλήρες PBPK μοντέλο δεν είναι διαθέσιμο.

1.4.2 Θεωρητικό Κομμάτι των mPBPK μοντέλων Δεύτερης Γενιάς

Το mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς αναπτύχθηκε ειδικά για τη ΦΚ ανάλυση mAbs με γραμμική κινητική (Cao *et al.*, 2013). Η δομή του μοντέλου φαίνεται στο σχήμα 1.4-1. Παρομοίως με το mPBPK μοντέλο πρώτης γενιάς, το μοντέλο δεύτερης γενιάς χρησιμοποιεί τον όγκο του πλάσματος ως αρχικό χώρο κατανομής όπως γίνεται και στα πλήρη PBPK μοντέλα, γεγονός που υποστηρίζεται από το ότι αρχικώς το mAb μόνο ρέει στο αίμα χωρίς να κατανέμεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια (Garg & Balthasar, 2007; Shah & Betts, 2012).

Δύο ομάδες ιστών ορίστηκαν σε αυτό το μοντέλο ως όγκοι ενδιάμεσου υγρού (V_{tight} και V_{leaky} ως ISF volumes) σύμφωνα με την ενδοθηλιακή δομή των αγγείων: ιστοί που έχουν συνεχή τριχοειδή αγγεία και ιστοί με πορώδη τριχοειδή (Sarin, 2010).

Ο όγκος V_{tight} περιλαμβάνει τους μύες, το δέρμα, το λιπώδη ιστό καθώς και τον εγκέφαλο, ενώ ο όγκος V_{leaky} αφορά όλους τους υπόλοιπους ιστούς (ήπαρ, νεφρούς, καρδιά κ.α.). Θεωρήθηκαν δύο μοντέλα στο mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς: το μοντέλο A στο οποίο η κάθαρση του mAb γίνεται από το πλάσμα και το μοντέλο B στο οποίο η κάθαρση γίνεται από το ενδιάμεσο υγρό των ιστών. Σημειώνεται πως το διαμέρισμα του πλάσματος στο αριστερό κουτί του σχήματος 1.4-1 αναπαριστά το φλεβικό αίμα όπως και στα πλήρη Φυσιολογικά-Φαρμακοκινητικά μοντέλα αλλά δεν εφαρμόζεται στο συγκεκριμένο μοντέλο.



Σχήμα 1.4-1: Δεύτερης Γενιάς mPBPK μοντέλο για τη ΦΚ συμπεριφορά των mAbs.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

Οι διαφορικές εξισώσεις για το μοντέλο A (κάθαρση από το πλάσμα CL_p) είναι:

$$\frac{dC_p}{dt} = \frac{Input}{V_p} + [C_{lymph} \cdot L - C_p \cdot L_1 \cdot (1 - \sigma_1) - C_p \cdot L_2 \cdot (1 - \sigma_2) - C_p \cdot CL_p] / V_p \quad 1.4-1$$

$$\frac{dC_{tight}}{dt} = [L_1 \cdot (1 - \sigma_1) \cdot C_p - L_1 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{tight}] / V_{tight} \quad 1.4-2$$

$$\frac{dC_{leaky}}{dt} = [L_2 \cdot (1 - \sigma_2) \cdot C_p - L_2 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{leaky}] / V_{leaky} \quad 1.4-3$$

$$\frac{dC_{lymph}}{dt} = [L_1 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{tight} + L_2 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{leaky} - C_{lymph} \cdot L] / V_{lymph} \quad 1.4-4$$

όπου C_p και C_{lymph} είναι οι συγκεντρώσεις του αντισώματος στον όγκο του πλάσματος (V_p) και το συνολικό όγκο της λέμφου V_{lymph} αντίστοιχα, ο οποίος όγκος της λέμφου θεωρείται ίσος με τον όγκο του αίματος (*Warren, 1940*). Επιπλέον, C_{tight} και C_{leaky} είναι οι συγκεντρώσεις του αντισώματος στους ιστούς με συνεχές ενδοθήλιο (V_{tight}) και με μη συνεχές ενδοθήλιο ή με ενδοθήλιο που φέρει πόρους (V_{leaky}). Ακόμη, L είναι η συνολική ροή της λέμφου και ισούται με το άθροισμα των L_1 και L_2 , όπου $L_1 = 0.33 \cdot L$ και $L_2 = 0.67 \cdot L$. Αυτά τα κλάσματα προήλθαν από τιμές της ροής της λέμφου που έχουν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως σε πλήρη PBPK μοντέλα (*Garg & Balthasar, 2007; Shah & Betts, 2012*) με εξαίρεση τον εγκέφαλο που δεν έχει μετρήσιμη ροή της λέμφου (*Wagshul & Johnston, 2013*). Τα σ_1 και σ_2 είναι οι αγγειακοί συντελεστές ανάκλασης για τους όγκους V_{tight} και V_{leaky} αντίστοιχα. Το σ_L είναι ο συντελεστής ανάκλασης των λεμφικών τριχοειδών, ο οποίος θεωρείται ίσος με 0.2 (*Garg & Balthasar, 2007*). Το CL_p είναι η κάθαρση από το πλάσμα. Όλες οι αρχικές συνθήκες είναι συγκεντρώσεις ίσες με 0.

Σημειώνεται πως το μοντέλο B έχει κάθαρση CL_i από τους όγκους V_{tight} και V_{leaky} .

Οι φυσιολογικοί περιορισμοί αυτού του mPBPK μοντέλου είναι οι εξής δύο:

$$1. \quad \sigma_1 < 1 \quad \text{και} \quad \sigma_2 < 1 \quad 1.4-5a \quad \text{και} \quad 1.4-5b$$

Το γεγονός ότι οι συντελεστές ανάκλασης σ_1 και σ_2 είναι μικρότεροι της μονάδας κάνουν το ρυθμό διαπέρασης του mAb από τα αιμοφόρα αγγεία στους ιστούς να μην υπερβαίνει τη συνολική ροή της λέμφου (L). Ακόμη μία υπόθεση του μοντέλου είναι πως θεωρεί το σ_1 πάντα μεγαλύτερο του σ_2 , εφόσον το σφιχτό αγγειακό ενδοθήλιο αναμένεται να έχει υψηλότερη ανάκλαση συγκριτικά με το πορώδες αγγειακό ενδοθήλιο. Συνεπώς, οι διαρρέοντες ιστοί έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις από τους ιστούς με σφιχτά ενδοθήλια, γεγονός που

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

υποδεικνύεται από τις μεγαλύτερες τιμές των σ_1 σε σύγκριση με τις τιμές των σ_2 (Cao et al., 2013).

$$2. \quad V_{\text{tight}} = 0.65 \cdot \text{ISF} \cdot K_p \quad \text{και} \quad V_{\text{leaky}} = 0.35 \cdot \text{ISF} \cdot K_p \quad 1.4-6a \text{ και } 1.4-6b$$

όπου ISF είναι το συνολικό ενδιάμεσο υγρό των ιστών ISF όλου του συστήματος και K_p είναι το διαθέσιμο κλάσμα του ISF για κατανομή των αντισωμάτων, το οποίο καθορίζεται κατά το μεγαλύτερο βαθμό από το μέγεθος, το φορτίο, τη δομή του αντισώματος και από άλλα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά. Δεδομένων των παρόμοιων μεγεθών και δομής των περισσότερων mAbs, το φορτίο θα είναι ο πρωταρχικός παράγοντας που θα επηρεάσει το K_p . Το K_p σχεδιάστηκε 0.8 για την ενδογενή ανασοσφαιρίνη IgG₁ και 0.4 για την ενδογενή ανασοσφαιρίνη IgG₄ σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες (Wiig & Tenstad, 2001; Wiig et al., 1994). Οι φυσιολογικές παράμετροι (Davies & Morris, 1993; Stucker et al., 2008) για ένα άτομο που ζυγίζει 70 kg είναι: $L=2.9$ L/ημέρα, $\text{ISF}=15.6$ L, $V_{\text{lymph}}=5.2$ L και $V_{\text{plasma}}=2.6$ L.

Συνεπώς, μόνο τρεις παράμετροι πρέπει να εκτιμηθούν σε αυτό το μοντέλο: σ_1 , σ_2 και CL_p (ή CL_i). Έτσι, οι ΦΚ παράμετροι του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς είναι λίγοι σε αριθμό και μπορούν να ερμηνευθούν με ευκολία. Επισημαίνεται πως οι δύο καθάρσεις δεν μπορούν να εκτιμηθούν ταυτόχρονα, αλλά το μοντέλο εξετάζει ποια από τις δύο καθάρσεις δουλεύει καλύτερα. Τονίζεται ακόμη ότι το συγκεκριμένο μοντέλο δε συμπεριλαμβάνει τη λειτουργία των υποδοχέων FcRn (Cao et al., 2013). Η ανάλυση έδειξε πως οι υποδοχείς αυτοί μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στη συστημική διατήρηση των αντισωμάτων αλλά δε συνεισφέρουν ουσιαστικά στην κατανομή τους στους ιστούς.

Ο ρυθμός διαφυγής των mAbs από το αίμα διαμέσω των τοιχωμάτων των τριχοειδών αγγείων (Transcapillary Escape Rate - TER) αποτελεί το άθροισμα δύο πορειών:

$$\text{TER} = L_1 \cdot (1 - \sigma_1) + L_2 \cdot (1 - \sigma_2) \quad 1.4-7$$

Οι αναλογίες των συγκεντρώσεων σε ισορροπία μεταξύ του ενδιάμεσου υγρού των ιστών (ISF) και του πλάσματος μπορεί να υπολογιστεί για το μοντέλο A ως εξής:

$$(1 - \sigma_1)/(1 - \sigma_L) \text{ για το } V_{\text{tight}} \text{ και } (1 - \sigma_2)/(1 - \sigma_L) \text{ για το } V_{\text{leaky}} \quad 1.4-8a \text{ και } 1.4-8b$$

Όπως φαίνεται στις εξισώσεις 1.4-7 και 1.4-8, οι αγγειακοί συντελεστές ανάκλασης (σ_1 και σ_2) είναι παράμετροι οι οποίες όχι μόνο καθορίζουν το ρυθμό διαφυγής των mAbs από το αίμα διαμέσω των τοιχωμάτων των τριχοειδών αγγείων (σχέση 1.4-7) αλλά, επιπλέον, προβλέπουν και την έκταση της κατανομής τους (σχέση 1.4-8). Συνεπώς, όταν ο αγγειακός συντελεστής ανάκλασης σ του mAb είναι μικρός, τότε ο ρυθμός διαφυγής του θα είναι ταχύς, οδηγώντας σε υψηλότερη συγκέντρωση του mAb στο ομαδοποιημένο ISF διαμέρισμα των ιστών και, επιπλέον, η ανώτατη τιμή αυτής της συγκέντρωσης θα επέλθει γρηγορότερα.

1.4.3 Εφαρμογή του μοντέλου στην Γκεβοκιζουμάμπη

Το mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς εφαρμόστηκε στο φαρμακοκινητικό προφίλ της γκεβοκιζουμάμπης για τον άνθρωπο, όπως αυτό βρέθηκε στη βιβλιογραφία (Cavelti-Weder *et al.*, 2012). Το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα παρουσιάζει γραμμική ΦΚ στο υπό μελέτη εύρος δόσεων και στις συνθήκες της μελέτης. Εφόσον, η γκεβοκιζουμάμπη εμφανίζει παρόμοιο ισοηλεκτρικό σημείο (8-9) με την ενδογενή ανοσοσφαιρίνη IgG₁ - το ισοηλεκτρικό σημείο της IgG₁ ισούται με 8.7 (Boswell *et al.*, 2010) - το K_p ορίστηκε ίσο με 0.8 στην ανάλυση για την γκεβοκιζουμάμπη.

Ένα συμπέρασμα που προκύπτει για τα mAbs στα οποία εφαρμόστηκε το συγκεκριμένο μοντέλο είναι πως ο τύπος της ανοσοσφαιρίνης δε φαίνεται να επηρεάζει τις τιμές TER ή CL_p. Σημειώνεται πως ο τύπος της ανοσοσφαιρίνης της γκεβοκιζουμάμπης είναι IgG₂. Επίσης, το μοντέλο έχει την ικανότητα να εκτιμήσει: 1) την κυρίαρχη θέση κάθαρσης, στο πλάσμα ή στο ενδιάμεσο υγρό των ιστών, 2) τις συγκεντρώσεις του αντισώματος στο ενδιάμεσο υγρό σε δύο κατηγορίες ομαδοποιημένων ιστών με συνεχές ενδοθήλιο (V_{tight}) ή ενδοθήλιο με σπές (V_{leaky}), 3) το ρυθμό διαφυγής TER, που αποτελεί μία ένδειξη της συστημικής αγγειακής διαπερατότητας. Για την γκεβοκιζουμάμπη τα αντίστοιχα μεγέθη παρουσιάζονται στο σχήμα 1.4-2 (Cao & Jusko, 2014):

Name	Type	Ref	Model with CL _p (L/hr/70 kg)				Model with CL _i (L/hr/70 kg)				Preference for CL _p
			σ ₁	σ ₂	CL _p	Obj	σ ₁	σ ₂	CL _i	Obj	
Gevokizumab	IgG ₂	[S36]	0.931	0.837	0.0067	-20.1	0.757	0.834	0.0193	-20.0	Yes

Σχήμα 1.4-2: Χαρακτηριστικά των ΦΚ παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης, όπως προέκυψαν με το mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς (Obj είναι η τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης στο πρόγραμμα ADAPT-V που χρησιμοποιήθηκε)

Όπως φαίνεται το μοντέλο που θεωρεί πως η γκεβοκιζουμάμπη καθαίρεται κυρίαρχα από το πλάσμα παρήγαγε καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με το μοντέλο με κάθαρση του φαρμάκου από τους ιστούς. Σημειώνεται πως η γραμμική κάθαρση στο πλαίσιο αυτού του μοντέλου κυρίως αντιπροσωπεύει τη μη ειδική κάθαρση και μία τέτοια προτίμηση για την κάθαρση μπορεί να μη σχετίζεται άμεσα με τη θέση του στόχου (Cao, 2013). Επιπλέον, πρέπει

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

να διευκρινιστεί πως η προτίμηση για κάθαρση από το πλάσμα ή από τους ιστούς που προτείνεται από το μοντέλο, όπως είδαμε προηγουμένως, δεν αποκλείει απαραίτητως και την ταυτόχρονη ύπαρξη και της άλλης. Και οι δύο διαδικασίες κάθαρσης μπορούν να συνυπάρχουν περισσότερο ή λιγότερο. Η μοντελοποίηση συχνά είναι ανεπαρκής για να διακρίνει τους δύο μηχανισμούς κάθαρσης και μόνο η πειραματική επαλήθευση με άμεσες μετρήσεις μπορεί τότε να κάνει αυτή την πολύτιμη διάκριση.

Επίσης η ανάλυση των δεδομένων της γκεβοκιζουμάμπης έδειξε ότι υπάρχει μία θετική συσχέτιση ανάμεσα στην κάθαρση του πλάσματος και το ρυθμό TER του αντισώματος, υπονοώντας πως υπάρχουν κοινοί καταλυτικοί παράγοντες που επηρεάζουν παρόμοια και τις δύο αυτές παραμέτρους. Έχουν βρεθεί πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την κατανομή των mAbs στους ιστούς και τη συστηματική κάθαρση (*Bumbaca et al., 2012*), όπως το μέγεθος, το σχήμα, η υδροφοβικότητα και το φορτίο. Ωστόσο, ο τύπος (isotype) των ανοσοσφαιρινών δεν αποτελεί έναν τέτοιο παράγοντα. Αυτή η θετική συσχέτιση ανάμεσα στα TER και CL_p θέτει μία πρόκληση όσον αφορά την επιλογή στρατηγικών για τη βελτίωση της κατανομής στους ιστούς ώστε να αυξηθεί η έκθεση του αντισώματος στο σημείο-στόχο καθώς η συστηματική κάθαρση προφανώς θα αυξηθεί αντιστοίχως και θα μετατοπίσει τη βελτιωμένη κατανομή. Πιο συγκεκριμένα, μία αύξηση στο συνολικό θετικό φορτίο έχει δείξει πως αυξάνει τόσο τη συγκράτηση στους ιστούς όσο και τη συστηματική κάθαρση (*Boswell et al., 2010*). Ακόμη, ένα μεγαλύτερο μόριο γενικά θα οδηγήσει σε μικρότερη διαπέρασή του στους ιστούς με μειωμένη συστηματική κάθαρση (*Schmidt & Wittrup, 2009*). Προφανώς, όταν όλοι αυτοί οι παράγοντες τοποθετηθούν μαζί για να θεωρηθεί μία γενική ισορροπία ανάμεσα στην κατανομή και την κάθαρση του φαρμάκου, τότε θα προκύψει το βέλτιστο αποτέλεσμα.

Σκοπός

Πολύ συχνά υπάρχουν δημοσιευμένα γραφήματα με συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης – χρόνου τα οποία περιέχουν μόνο τις μέσες συγκεντρώσεις του πλάσματος ενός φαρμάκου και τις τυπικές αποκλίσεις αυτών. Είναι, συνεπώς, επιθυμητό να αναπτυχθεί μία μεθοδολογία, στα πλαίσια της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής, για την εκτίμηση πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες από αυτά τα δημοσιευμένα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου που θα περιγράφει ικανοποιητικά το φαρμακοκινητικό προφίλ του αντίστοιχου φαρμάκου, ανακτώντας έτσι την απώλεια της πληροφορίας από τη συγκεντροποίηση των δεδομένων. Η μέθοδος που αναπτύχθηκε στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης, ενός καινοτόμου μονοκλωνικού αντισώματος, με σκοπό να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές φαρμακοκινητικές παράμετροι. Για την περιγραφή της φαρμακοκινητικής της γκεβοκιζουμάμπης έχει προταθεί ένα ελάχιστο δυνατό φυσιολογικό φαρμακοκινητικό (mPBPK) μοντέλο δεύτερης γενιάς, το οποίο και χρησιμοποιήθηκε στην εργασία αυτή.

Κεφάλαιο 2

Μέθοδος

Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο περιγράφεται η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε κατά την πραγματοποίηση της εργασίας. Αρχικά παρουσιάζεται η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε για την εκτίμηση των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες από συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου και η αξιολόγηση αυτής. Για την αξιολόγηση της μεθόδου προσομοιώσεις και εκτιμήσεις πραγματοποιήθηκαν ώστε να εκτιμηθούν η ορθότητα και η πιστότητα των εκτιμήσεων από 1000 προσομοιωμένα σετ δεδομένων. Ακόμη, δημιουργήθηκαν αντιπροσωπευτικά διαγράμματα VPCs από αυτά τα προσομοιωμένα σετ. Τέλος, αναφέρεται η εφαρμογή της μεθόδου σε βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης με σκοπό να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές φαρμακοκινητικές παράμετροι ενός ελάχιστου δυνατού φυσιολογικού φαρμακοκινητικού μοντέλου για το συγκεκριμένο φάρμακο. Η καλή προσαρμογή του τελικού μοντέλου αξιολογήθηκε με τη βοήθεια διαγνωστικών διαγραμμάτων. Ολόκληρη η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό της γλώσσας προγραμματισμού R (Rstudio), με τη βοήθεια των πακέτων που προσφέρει η συγκεκριμένη γλώσσα (*cran.r-project.org*, 2019) και παρουσιάζεται στο Παράτημα.

2.1 Ανάπτυξη Μεθόδου για την Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων από Συγκεντρωτικά Δεδομένα Συγκέντρωσης-Χρόνου

Η μέθοδος επιτρέπει την ανάλυση συγκεντρωτικών δεδομένων συγκέντρωσης-χρόνου, πιο συγκεκριμένα, μέσω των τιμών συγκεντρώσεων και αντίστοιχων τυπικών αποκλίσεων του φαρμάκου στο πλάσμα ως προς το χρόνο, για την εκτίμηση των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες. Στη συγκεκριμένη περίπτωση θεωρήθηκε το δεύτερης γενιάς mPBPK μοντέλο για την γκεβοκιζουμάμπη, καθώς αυτό έχει προταθεί για την περιγραφή της κινητικής της.

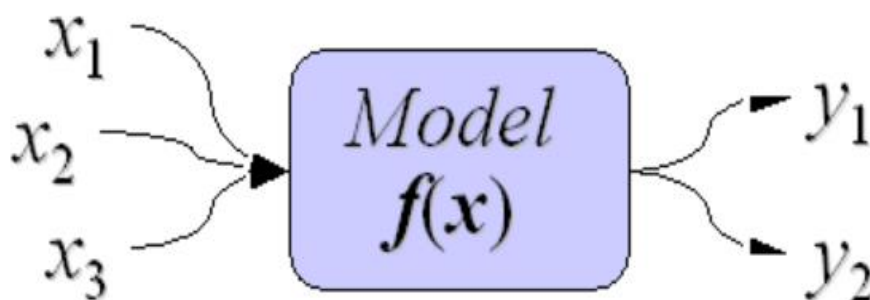
Ως δεδομένα-παρατηρήσεις χρησιμοποιούνται οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων στο πλάσμα του φαρμάκου και οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις αυτών ως προς το χρόνο. Σκοπός, όπως προαναφέρθηκε, είναι να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές τιμές των φαρμακοκινητικών

παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες για το φάρμακο. Αυτές οι πληθυσμιακές τιμές εκτιμώνται σε ένα στάδιο χρησιμοποιώντας τις παρατηρήσεις με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας.

2.1.1 Κατασκευή της Συνάρτησης – Monte Carlo Προσομοίωσης

Αρχικά ορίστηκε το δομικό μοντέλο για τα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου. Ουσιαστικά δηλαδή ορίστηκε μία συνάρτηση στη γλώσσα προγραμματισμού R βασισμένη στο δεύτερης γενιάς mPBPK μοντέλο που προβλέπει (output) τις μέσες συγκεντρώσεις και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις από μία Monte Carlo (MC) προσομοίωση από έναν αριθμό ασθενών που παράχθηκαν από τις κατανομές των παραμέτρων του mPBPK μοντέλου συμπεριλαμβανομένων των δι-ατομικών μεταβλητοτήτων για κάποιες από αυτές (input).

Η μέθοδος Monte Carlo είναι μία τεχνική που περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση τυχαίων αριθμών και πιθανοτήτων για την επίλυση προβλημάτων. Ο όρος μέθοδος Monte Carlo επινοήθηκε από τους Stanislaw Ulam και Nicholas Metropolis αναφορικά με τα παιχνίδια τύχης στην πόλη Monte Carlo του Μονακό, έναν πολύ δημοφιλή πόλο έλξης τέτοιων παιχνιδιών (Hoffman, 1998; Metropolis and Ulam, 1949). Η προσομοίωση Monte Carlo έχει να κάνει με υπολογιστικά μοντέλα που αντιγράφουν την πραγματική ζωή ή κάνουν προβλέψεις. Η εν λόγω προσομοίωση παρουσιάζει την εξής εικόνα: οι εισακτέες τιμές των παραμέτρων (inputs) εισάγονται σε μία συνάρτηση που τις χρησιμοποιεί για την εξαγωγή των μεταβλητών απόκρισης (outputs). Χρησιμοποιώντας, λοιπόν, για παράδειγμα ένα σετ τυχαίων αριθμών ως inputs (x_1, x_2, x_3) η συνάρτηση $f(x)$ εξάγει τις μεταβλητές απόκρισης y_1, y_2 , όπως φαίνεται στο σχήμα 2.1 (Wittwer, 2004).



Σχήμα 2.1: Παράδειγμα προσομοίωσης Monte Carlo

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

Η προσομοίωση Monte Carlo κατηγοριοποιείται ως μία μέθοδος δειγματοληψίας επειδή τα inputs μπορούν να παράγονται τυχαία από κατανομές πιθανότητας ώστε να προσομοιωθεί η διαδικασία δειγματοληψίας από έναν πραγματικό πληθυσμό. Κατά συνέπεια, γίνεται η προσπάθεια να επιλεχθούν κατανομές για τις μεταβλητές-inputs που ταιριάζουν περισσότερο στα ήδη υπάρχοντα δεδομένα ή που αναπαριστούν καλύτερα την τρέχουσα γνώση μας (Wittwer, 2004).

Το δεύτερης γενιάς mPBPK μοντέλο για την γκεβοκιζουμάμπη παραμετροποιήθηκε, σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν στις παραγράφους 1.3.7 και 1.4.3, όσον αφορά τους συντελεστές ανάκλασης σ_1 και σ_2 για τους «στεγανούς» και τους «διαρρέοντες» ιστούς, αντίστοιχα, την κάθαρση του φαρμάκου από το πλάσμα CL_p και τους όρους δι-ατομικής μεταβλητότητας ω_{CL_p} και ω_V , για την τυπική απόκλιση των κανονικών κατανομών των λογαριθμοποιημένων τιμών της κάθαρσης από το πλάσμα και του όγκου του ανθρωπίνου σώματος αντίστοιχως. Σημειώνεται πως χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο που θεωρεί πως το φάρμακο καθαίρεται κυρίως από το πλάσμα, καθώς το μοντέλο αυτό έχει βρεθεί πως παράγει καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με το μοντέλο με κάθαρση από τους ιστούς, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.4.3.

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά τους όρους δι-ατομικής μεταβλητότητας ω_{CL_p} και ω_V , η μεταβλητότητα στις μέσες πληθυσμιακές τιμές της κάθαρσης από το πλάσμα και του όγκου του ανθρωπίνου σώματος μοντελοποιήθηκε με το εκθετικό μοντέλο. Κατ' αντιστοιχία με όσα αναφέρονται στην ενότητα 1.1.2.1, θεωρήθηκε πως οι παράμετροι ξ_i , εδώ η κάθαρση από το πλάσμα και ο όγκος του ανθρωπίνου σώματος, ακολουθούν τη λογαριθμο-κανονική κατανομή, οπότε:

$$\xi_i = \theta_i * \exp(\eta_i) \quad 1.1.2-4$$

όπου θ_i είναι η πληθυσμιακή τιμή της παραμέτρου ξ_i , ενώ τα η_i είναι η στοχαστική μεταβλητή της δι-ατομικής μεταβλητότητας για κάθε παράμετρο ξ_i .

Συγκεκριμένα για την γκεβοκιζουμάμπη, η στοχαστική μεταβλητή η_{CL_p} της δι-ατομικής μεταβλητότητας για την κάθαρση από το πλάσμα ακολουθεί την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση ω_{CL_p} , οπότε έχουμε: $\eta_{CL_p} \sim N(0, \omega_{CL_p})$. Αντιστοίχως, η στοχαστική μεταβλητή η_V της δι-ατομικής μεταβλητότητας για τον όγκο του ανθρωπίνου σώματος ακολουθεί την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση ω_V , οπότε έχουμε: $\eta_V \sim N(0, \omega_V)$.

Σημειώνεται πως στις εξισώσεις του mPBPK μοντέλου που θα χρησιμοποιηθούν στη συνέχεια δε χρησιμοποιείται ο όγκος του ανθρωπίνου σώματος, αλλά οι τέσσερις όγκοι του

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

πλάσματος, της λέμφου, των ομαδοποιημένων «στεγανών» ιστών, καθώς και ο όγκος των «διαρρεόντων» ιστών. Στο πλαίσιο του συγκεκριμένου μοντέλου θεωρήθηκε πως ένας πιο μεγαλόσωμος άνθρωπος θα έχει τιμές αυτών των τεσσάρων όγκων μεγαλύτερες συγκριτικά με έναν πιο μικρόσωμο άνθρωπο. Συνεπώς θεωρήθηκε πως οι τέσσερις αυτοί όγκοι V_i θα ισούνται με $V_{literature_i} * exp(\eta_V)$, όπου $V_{literature_i}$ θα είναι η βιβλιογραφική μέση τιμή για καθένα όγκο και $\eta_V \sim N(0, \omega_V)$, όπως ορίστηκε προηγουμένως.

Αφού λοιπόν παραχθούν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι του μοντέλου, δηλαδή τα σ_1 , σ_2 , CL_p , ω_{CL_p} και ω_V , για έναν αριθμό ασθενών (ο αριθμός των ασθενών αναλύεται στη επόμενη παράγραφο), αυτές οι παράμετροι εισάγονται στις τέσσερις διαφορικές εξισώσεις του μοντέλου mPBPK δεύτερης γενιάς, όπως αναφέρονται στην παράγραφο 1.4.2:

$$\frac{dC_p}{dt} = \frac{Input}{V_p} + [C_{lymph} \cdot L - C_p \cdot L_1 \cdot (1 - \sigma_1) - C_p \cdot L_2 \cdot (1 - \sigma_2) - C_p \cdot CL_p] / V_p \quad 1.4-1$$

$$\frac{dC_{tight}}{dt} = [L_1 \cdot (1 - \sigma_1) \cdot C_p - L_1 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{tight}] / V_{tight} \quad 1.4-2$$

$$\frac{dC_{leaky}}{dt} = [L_2 \cdot (1 - \sigma_2) \cdot C_p - L_2 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{leaky}] / V_{leaky} \quad 1.4-3$$

$$\frac{dC_{lymph}}{dt} = [L_1 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{tight} + L_2 \cdot (1 - \sigma_L) \cdot C_{leaky} - C_{lymph} \cdot L] / V_{lymph} \quad 1.4-4$$

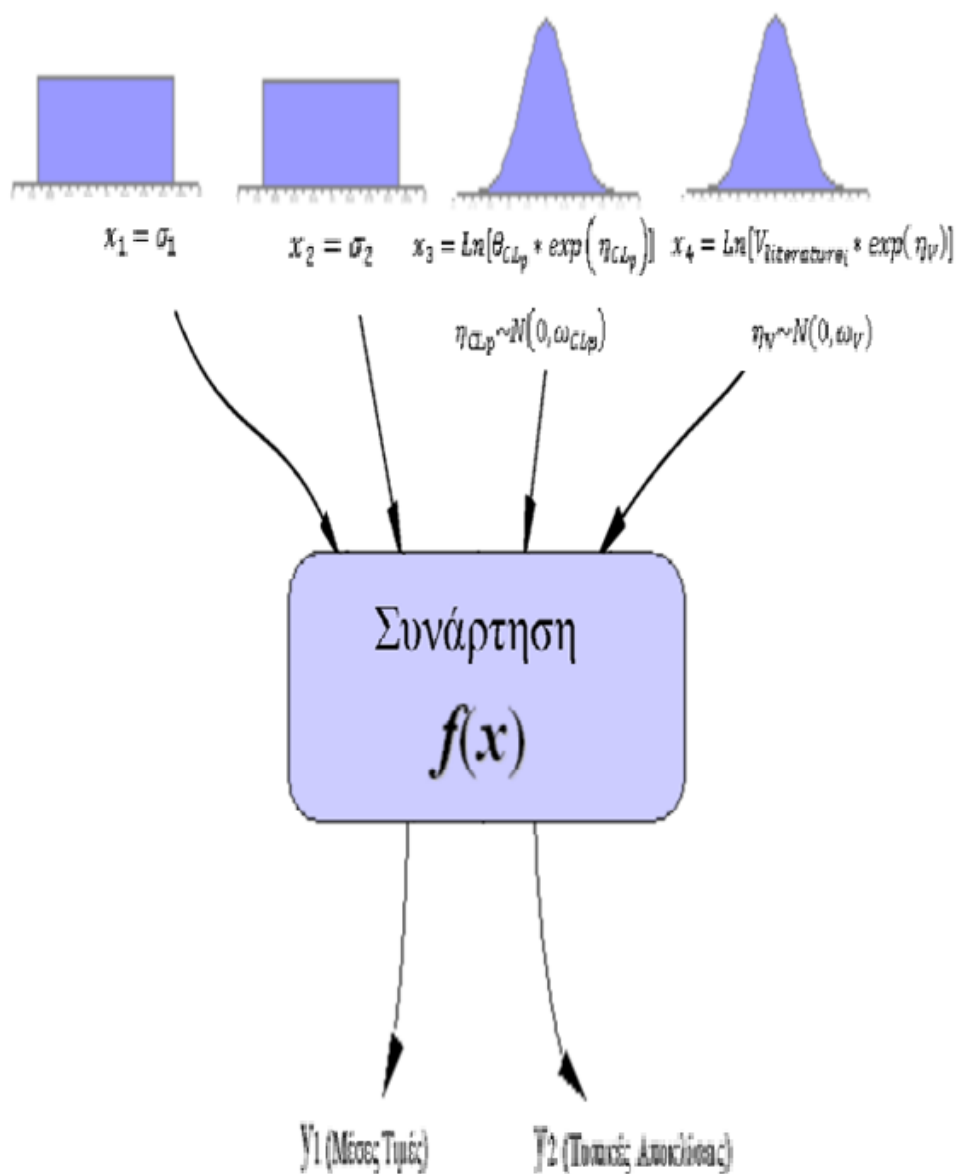
Η δόση που χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα των τεσσάρων αυτών εξισώσεων ήταν αυτή των 0.1mg/kg. Συνεπώς για έναν άνθρωπο 70kg, όπως χρησιμοποιείται στο μοντέλο mPBPK δεύτερης γενιάς (Cao et al., 2013), η δόση που χρησιμοποιήθηκε ήταν 7mg. Σημειώνεται πως αυτή είναι μία ενδιάμεση δόση εκείνων που χρησιμοποιήθηκαν στην κλινική μελέτη της γκεβοκιζουμάμπης από την οποία προήλθαν τα βιβλιογραφικά δεδομένα μας. Επίσης, καθώς έχει βρεθεί πως υπάρχει γραμμικότητα στο εύρος των δόσεων που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη κλινική μελέτη επιλέχθηκε αυτή η μία ενδιάμεση δόση για την εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων (Cavelti-Weder et al., 2012).

Κατ' αυτόν τον τρόπο υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις του πλάσματος κάθε χρονική στιγμή για κάθε ασθενή. Επισημαίνεται πως οι χρόνοι δειγματοληψίας τέθηκαν ίδιοι με εκείνους που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη συλλογή των δεδομένων στην κλινική μελέτη για την γκεβοκιζουμάμπη. Σε αυτές τις συγκεντρώσεις του πλάσματος των ασθενών προστίθεται υπολειπόμενη μεταβλητότητα (residual variability), για την οποία χρησιμοποιήθηκε το

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

εκθετικό μοντέλο σφάλματος. Τέλος, για κάθε χρόνο δειγματοληψίας υπολογίζονται η μέση συγκέντρωση πλάσματος των ασθενών καθώς και η αντίστοιχη τυπική απόκλιση.

Στην επόμενη εικόνα (σχήμα 2.2) παρουσιάζονται σχηματικά τα βασικά στάδια που ακολουθεί η συνάρτηση, η οποία βασίζεται στο δεύτερης γενιάς mPBPK μοντέλο, και προβλέπει (output) τις μέσες συγκεντρώσεις και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις από μία Monte Carlo (MC) προσομοίωση από έναν αριθμό ασθενών που παράχθηκαν από τις κατανομές των παραμέτρων του mPBPK μοντέλου συμπεριλαμβανομένων των δι-ατομικών μεταβλητοτήτων για κάποιες από αυτές (input). Σημειώνεται πως εφόσον τα ξ_{CL_p} και ξ_{V_i} ($\xi_{CL_p} = \theta_{CL_p} * \exp(\eta_{CL_p})$ και $\xi_{V_i} = V_{literature_i} * \exp(\eta_V)$ με $\eta_{CL_p} \sim N(0, \omega_{CL_p})$ και $\eta_V \sim N(0, \omega_V)$) ακολουθούν τη λογαριθμο-κανονική κατανομή, οι αντίστοιχοι λογάριθμοι $\text{Ln}(\xi_{CL_p}) = \text{Ln}(\theta_{CL_p} * \exp(\eta_{CL_p}))$ και $\text{Ln}(\xi_{V_i}) = \text{Ln}(V_{literature_i} * \exp(\eta_V))$ θα ακολουθούν την κανονική κατανομή. Στο Παράρτημα (Παράρτημα-A και Παράρτημα-B) παρουσιάζεται ο κώδικας της συνάρτησης αυτής.



Σχήμα 2.2: Συνάρτηση για τη Monte Carlo προσομοίωση που χρησιμοποιήθηκε

2.1.2 Αριθμός των Ασθενών για την Προσομοίωση Monte Carlo

Αρχικά, μέσω της συνάρτησης που κατασκευάστηκε προηγουμένως παρήχθησαν οι μέσες συγκεντρώσεις τις διάφορες χρονικές στιγμές και οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις (output) από τις κατανομές των παραμέτρων του mPBPK μοντέλου από 24 ασθενείς (input). Αυτές οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις θεωρήθηκαν ως παρατηρήσεις. Ο αριθμός των 24 ασθενών επιλέχθηκε καθώς αποτελεί έναν τυπικό αριθμό ασθενών στις κλινικές μελέτες.

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

Κατά αντίστοιχο τρόπο παρήχθησαν και οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις από τις κατανομές των παραμέτρων του mPBPK μοντέλου από 1000 ασθενείς ώστε αυτές οι τιμές να αποτελούν τις προβλέψεις του μοντέλου. Οι 1000 ασθενείς θεωρήθηκε πως είναι αρκετά μεγάλο δείγμα για επαναλήψιμα αποτελέσματα. Σημειώνεται πως στην περίπτωση των 1000 ασθενών δεν προστέθηκε υπολειπόμενη μεταβλητότητα (residual variability) στις συγκεντρώσεις πλάσματος, όπως έγινε στην περίπτωση των 24 ασθενών.

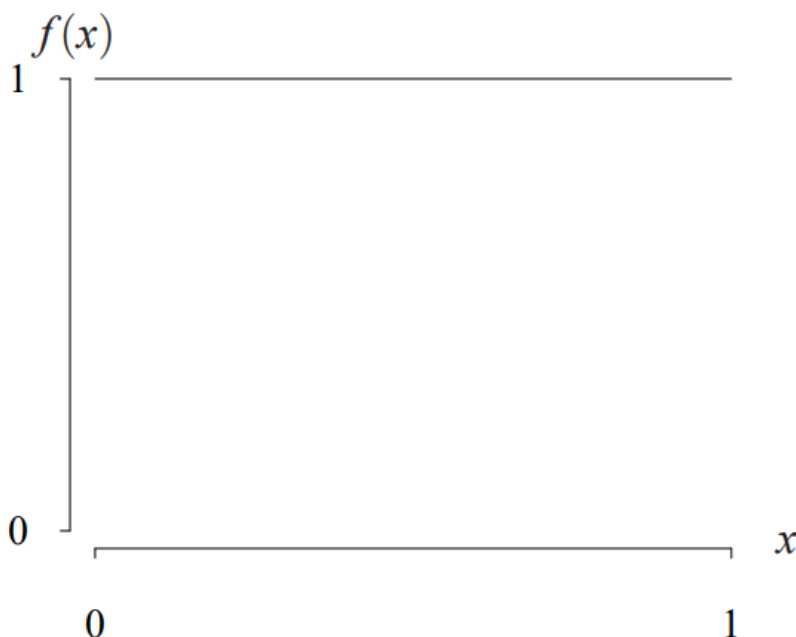
Ωστόσο η ύπαρξη τεσσάρων διαφορετικών εξισώσεων στο mPBPK μοντέλο βρέθηκε πως αυξάνει πολύ το χρόνο εκτέλεσης του πειράματος. Ο χρόνος αυξάνεται ακόμη περισσότερο κατά τη λειτουργία του επαναληπτικού αλγορίθμου που χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων και αυξάνεται δραματικά κατά την αξιολόγηση της μεθόδου με τη μελέτη προσομοίωσης, όπου ο αλγόριθμος χρησιμοποιείται 1000 φορές.

Κρίθηκε, λοιπόν, σκόπιμο να χρησιμοποιηθεί η δειγματοληψία Latin Hypercube για το βήμα της Monte Carlo προσομοίωσης και να αντικατασταθούν οι 1000 ασθενείς με αρκετά λιγότερους. Η δειγματοληψία Latin Hypercube αποτελεί μία στατιστική μέθοδο για την παραγωγή μίας σχεδόν-τυχαίας κατανομής τιμών παραμέτρων από μία πολυδιάστατη κατανομή. Η μέθοδος δειγματοληψίας αυτή χρησιμοποιείται συχνά σε προσομοιώσεις Monte Carlo και προτάθηκε από τον τον McKay το 1979 (McKay et al., 1979). Στο πλαίσιο της στατιστικής δειγματοληψίας, ένα τετράγωνο πλέγμα που περιέχει πιθανές θέσεις δειγμάτων είναι ένα λατινικό τετράγωνο (Latin square) αν και μόνο αν υπάρχει ένα μόνο δείγμα σε κάθε σειρά και κάθε στήλη. Ένας λατινικός υπερκύβος (Latin hypercube) αποτελεί τη γενίκευση αυτής της έννοιας σε έναν οποιοδήποτε αριθμό διαστάσεων.

Κατά τη Latin Hypercube δειγματοληψία, όταν δειγματοληπτούμε από μία συνάρτηση N μεταβλητών, τότε το εύρος της κάθε μεταβλητής διαιρείται σε εξίσου πιθανά M μεσοδιαστήματα. M δειγματικά σημεία δειγματοληπτούνται στη συνέχεια έτσι ώστε να δημιουργείται ένας Latin Hypercube. Κατ' αυτόν τον τρόπο ο αριθμός των διαστημάτων M είναι ο ίδιος για κάθε μεταβλητή.

Πιο συγκεκριμένα, στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία το δείγμα Latin Hypercube παράχθηκε με τη δημιουργία τυχαίων μεταθέσεων των πρώτων M ακέραιων σε καθεμία από τις N στήλες και έπειτα έγινε η μετατροπή των M αυτών ακεραίων σε M τμήματα μίας πρότυπης ομοιόμορφης κατανομής. Σημειώνεται πως μία τυχαία μεταβλητή X ακολουθεί την πρότυπη ομοιόμορφη κατανομή, $X \sim U(0,1)$ (σχήμα 2.3), αν η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητάς της $f(x)$, δηλαδή η πιθανότητα να παίρνει το X τιμή από x έως $x+dx$, δίνεται από τον τύπο (<http://www.math.wm.edu/~leemis/chart/UDR/UDR.html>, 2019):

$$f(x) = 1, \text{ με } 0 < x < 1 \quad 2.1-1$$



Σχήμα 2.3: Πρότυπη ομοιόμορφη κατανομή

Στη συνέχεια, τυχαίες τιμές δειγματοληπτούνται από καθένα από αυτά τα εξίσου πιθανά M τμήματα. Μόλις παραχθεί το ομοιόμορφο δείγμα καθεμίας στήλης μετατρέπεται στην επιθυμητή κατανομή χρησιμοποιώντας τις αντίστροφες συναρτήσεις της αθροιστικής συνάρτησης κατανομής (quantile functions). Οι συναρτήσεις αυτές σχετίζονται με τη συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητάς μιας τυχαίας μεταβλητής και ειδικότερα προσδιορίζουν την τιμή της τυχαίας μεταβλητής ώστε η πιθανότητα αυτής να είναι μικρότερη ή ίση της τιμής εκείνης της μεταβλητής που δίνει τη συγκεκριμένη πιθανότητα. Επισημαίνεται πως διαφορετικές στήλες μπορούν να έχουν διαφορετικές κατανομές.

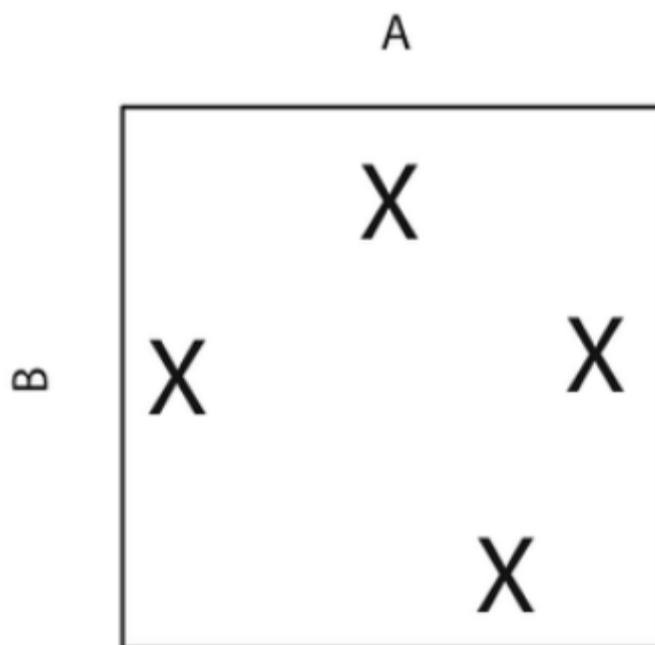
Συμπερασματικά, αυτή η μέθοδος δειγματοληψίας δεν απαιτεί περισσότερα δείγματα για περισσότερες διαστάσεις (μεταβλητές). Αυτή η ανεξαρτησία αποτελεί ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου. Άλλο ένα πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι πως τα τυχαία δείγματα επιλέγονται ένα τη φορά ώστε η μέθοδος να «θυμάται» ποια δείγματα έχουν επιλεγεί προτού να επιλέξει το επόμενο δείγμα. Ουσιαστικά δηλαδή η μέθοδος δειγματοληψίας Latin Hypercube διαθέτει «μνήμη» και, τελικώς, διασφαλίζει ότι το σετ των τυχαίων αριθμών που προκύπτουν από τη δειγματοληψία είναι αντιπροσωπευτικό της αληθινής μεταβλητότητας. Συνεπώς, η Latin Hypercube δειγματοληψία παράγει πιο

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

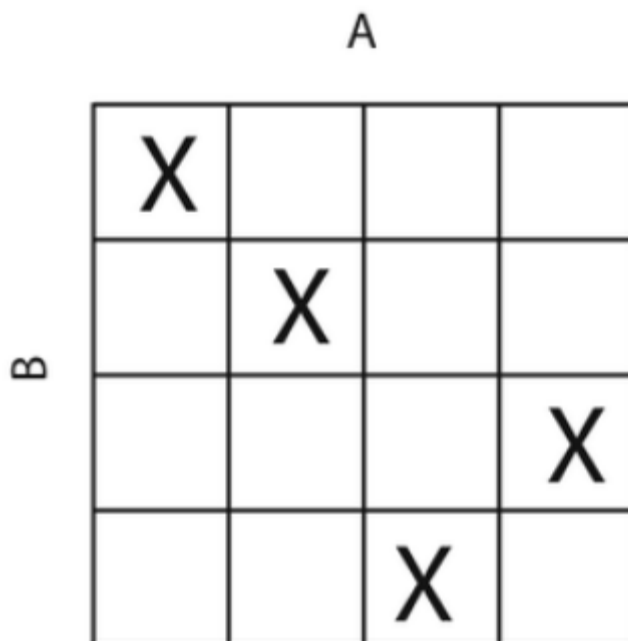
αποδοτικές εκτιμήσεις των επιθυμητών παραμέτρων από την απλή Monte Carlo δειγματοληψία.

Σε δύο διαστάσεις ($N = 2$), δηλαδή στην περίπτωση δύο μεταβλητών A και B, η διαφορά ανάμεσα στην τυχαία δειγματοληψία και τη δειγματοληψία Latin Hypercube μπορεί να εξηγηθεί ως ακολούθως:

- I. Στην τυχαία δειγματοληψία νέα δειγματοληπτικά σημεία παράγονται χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τα δειγματοληπτικά σημεία που έχουν ήδη παραχθεί. Ακόμη, κάποιος δε χρειάζεται να γνωρίζει από πριν πόσα σημεία χρειάζονται (Σχήμα 2.4).
- II. Στη δειγματοληψία Latin Hypercube κάποιος πρέπει πρώτα να αποφασίσει πόσα δειγματοληπτικά σημεία θα χρησιμοποιηθούν και για καθένα από αυτά να θυμάται σε ποια σειρά και σε ποια στήλη τοποθετήθηκε. Η αντίστοιχη διαμόρφωση, όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 2.5, είναι παρόμοια με την ύπαρξη M πύργων σε μία σκακιέρα με $(M * M)$ τετράγωνα, οι οποίοι δεν απειλούν ο ένας τον άλλον.



Σχήμα 2.4: Τυχαία δειγματοληψία σε δύο διαστάσεις



Σχήμα 2.5: Δειγματοληψία Latin Hypercube σε δύο διαστάσεις

Επίσης, οι ασθενείς στις προσομοιώσεις για την εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων έπρεπε να είναι οι ίδιοι σε κάθε επανάληψη του αλγορίθμου ώστε να αποφευχθούν ασυνέχειες στην αντικειμενική συνάρτηση που θα μπορούσε να προκαλέσει προβλήματα στη χρησιμοποιούμενη μέθοδο βελτιστοποίησης, όπως αναφέρεται στην επόμενη παράγραφο. Συνεπώς οι παράμετροι ξ_{CL_p} και ξ_{V_i} (παράγραφος 2.1.1) ορίστηκαν ως εξής:

$$\xi_{CL_p} = \theta_{CL_p} * \exp(\eta'_{CL_p} * \omega_{CL_p}) \quad \text{με } \eta'_{CL_p} \sim N(0,1) \quad 2.1-2$$

$$\xi_{V_i} = V_{literature_i} * \exp(\eta'_V * \omega_V) \quad \text{με } \eta'_V \sim N(0,1) \quad 2.1-3$$

Επισημαίνεται πως εφόσον $\eta'_{CL_p} \sim N(0,1)$ θα ισχύει και $\eta'_{CL_p} * \omega_{CL_p} \sim N(0, \omega_{CL_p})$, ακριβώς όπως και $\eta_{CL_p} \sim N(0, \omega_{CL_p})$. Αντιστοίχως και για τα η'_V .

Σκοπός μας, επομένως, είναι να παραγάγουμε 1000 τυχαίες τιμές που ακολουθούν την κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση 1 για τα η'_{CL_p} και 1000 τυχαίες τιμές που ακολουθούν την κανονική κατανομή πάλι με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση 1 για τα η'_V . Ή καλύτερα να παραγάγουμε μικρότερο αριθμό τυχαίων τιμών με δειγματοληψία Latin Hypercube που θα είναι αντιπροσωπευτικές των προηγούμενων τιμών για να αυξήσουμε την

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

ταχύτητα του υπολογιστικού χρόνου. Για να βρεθεί ο ακριβής αυτός μικρότερος αριθμός χρησιμοποιήθηκε η έννοια του τυπικού σφάλματος της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης, όπως περιγράφεται στη συνέχεια.

Το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής (Standard Error of the Mean - SEM) είναι η τυπική απόκλιση της δειγματοληπτικής κατανομής (sampling distribution) των μέσων τιμών ή μία εκτίμηση της συγκεκριμένης τυπικής απόκλισης (Everitt, 2003). Η δειγματοληπτική κατανομή ενός πληθυσμιακού μέσου παράγεται από την επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία και την απόκτηση των μέσων που καταγράφονται. Αυτοί οι αποκτηθέντες διαφορετικοί μέσοι σχηματίζουν μία κατανομή η οποία έχει το δικό της μέσο και τη δική της διασπορά. Μαθηματικά, η διασπορά της δειγματοληπτικής κατανομής ισούται με την πληθυσμιακή διασπορά δια το μέγεθος του δείγματος. Έτσι, όσο το μέγεθος του δείγματος αυξάνει, οι δειγματικοί μέσοι όλο και πλησιάζουν πιο πολύ στον πληθυσμιακό μέσο.

Συνεπώς, για ένα δεδομένο μέγεθος δείγματος n το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής SEM ισούται με την πληθυσμιακή τυπική απόκλιση σ διά την τετραγωνική ρίζα του μεγέθους του δείγματος:

$$SEM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad 2.1-4$$

Με άλλα λόγια, το τυπικό σφάλμα του δειγματικού μέσου αποτελεί μία εκτίμηση του πόσο μακριά είναι πιθανό να βρίσκεται ο δειγματικός μέσος από τον πληθυσμιακό μέσο. Με αντίστοιχο τρόπο ορίζεται και το τυπικό σφάλμα των τυπικών αποκλίσεων.

Αρχικά, λοιπόν, βρέθηκε το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης των η'_{CLp} και η'_V στην περίπτωση της τυχαίας δειγματοληψίας 1000 ατόμων. Για κάθε 1000 τιμές που παρήχθησαν για κάθε μία από αυτές τις δύο μεταβλητές βρέθηκαν η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση. Αυτό έγινε επαναληπτικά πολλές φορές (100000) και συνεπώς προέκυψαν οι δειγματοληπτικές κατανομές (sampling distributions) για τις μέσες τιμές και τις τυπικές αποκλίσεις. Η τυπική απόκλιση της δειγματοληπτικής κατανομής των μέσων τιμών ισούται, όπως προαναφέρθηκε, με το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής, ενώ η τυπική απόκλιση της δειγματοληπτικής κατανομής των τυπικών αποκλίσεων ισούται με το τυπικό σφάλμα της τυπικής απόκλισης. Επισημαίνεται πως το τυπικό σφάλμα μέσης τιμής που βρέθηκε είναι περίπου ίσο με την πληθυσμιακή τυπική απόκλιση ($\sigma=1$) διά την τετραγωνική ρίζα του μεγέθους του δείγματος ($\sqrt{1000}$).

Κατά τον ίδιο τρόπο βρίσκονται και τα αντίστοιχα τυπικά σφάλματα στην περίπτωση της Latin Hypercube δειγματοληψίας. Σε αυτήν την περίπτωση βρέθηκε πως απαιτούνται 60 άτομα ώστε τα τυπικά σφάλματα της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης να είναι

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

μικρότερα ή ίσα των αντιστοιχών τυπικών σφαλμάτων της τυχαίας δειγματοληψίας. Οπότε ο υπολογιστικός χρόνος μειώνεται περίπου 17 φορές (1000/60) διατηρώντας παράλληλα ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα ασθενών.

2.1.3 Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων μαζί με τις Δι-ατομικές Μεταβλητότητες

Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση που περιγράφηκε στην ενότητα 2.1.1 για να παραχθούν οι μέσες τιμές ως προς το χρόνο και οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις 24 ασθενών. Αυτές οι μέσες τιμές καθώς και οι τυπικές αποκλίσεις θεωρήθηκαν οι παρατηρήσεις-δεδομένα κατά την προσαρμογή του μοντέλου. Οι τιμές των παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν ως input της εν λόγω συνάρτησης ορίστηκαν οι εξής (Πίνακας 2.1.):

Πίνακας 2.1: Οι τιμές των παραμέτρων για τη δημιουργία των συγκεντρωτικών δεδομένων-παρατηρήσεων της μεθόδου

Παράμετρος	Τιμή
σ_1	0.931
σ_2	0.837
CL_p (L/hr)	0.00668
ω_{CLp}	20%
ω_V	20%
Residual Variability (rv)	5%

Οι ΦΚ παράμετροι σ_1 , σ_2 και CL_p πήραν τις αντίστοιχες δημοσιευμένες τιμές που προέκυψαν κατά την προσαρμογή του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς στις μέσες τιμές των συγκεντρώσεων του πλάσματος ως προς τις χρονικές στιγμές δειγματοληψίας για την γκεβοκιζουμάμπη (Cao et al., 2013). Ακόμη, η υπολειπόμενη μεταβλητότητα (rv) ορίστηκε 5%. Η τιμή αυτή της υπολειπόμενης μεταβλητότητας μελετήθηκε, όπως παρουσιάζεται στη συνέχεια, κατά την αξιολόγηση της μεθόδου.

Επίσης, τα ω_{CLp} και ω_V ορίστηκαν 20% καθώς θεωρήθηκε πως ο συντελεστής μεταβλητότητας της κάθαρσης από το πλάσμα και ο συντελεστής μεταβλητότητας του όγκου

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

του ανθρωπίνου σώματος είναι ίσοι με 20%. Επισημαίνεται πως αν μία μεταβλητή Z ακολουθεί την κανονική κατανομή (όπως οι λογαριθμοποιημένες τιμές της κάθαρσης από το πλάσμα και του όγκου του ανθρωπίνου σώματος) με μέση τιμή μ και διασπορα σ^2 , τότε η μεταβλητή $X = \exp(Z)$ (όπως η κάθαρση από το πλάσμα και ο όγκος του ανθρωπίνου σώματος) θα ακολουθεί τη λογαριθμο-κανονική κατανομή με συντελεστή μεταβλητότητας $CV(X) = \sqrt{\exp(\sigma^2) - 1}$ (Aitchinson & Brown, 1957). Για μικρές τιμές, τα $CV(X)$ και σ είναι περίπου ίσα. Τέλος, σημειώνεται πως στο τελικό μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης, από τα ψηφιοποιημένα βιβλιογραφικά δεδομένα του φαρμάκου, οι παράμετροι ω_{CL_p} και ω_V βρέθηκαν μικρότεροι από 20%, γεγονός που επιτρέπει τη χρησιμοποίηση αυτής της τιμής κατά την ανάπτυξη της μεθόδου.

Επιπλέον, ακολουθήθηκε το ίδιο δειγματοληπτικό σχήμα της κλινικής μελέτης και η δόση που χρησιμοποιήθηκε ήταν 7mg, όπως προαναφέρθηκε. Οι υπόλοιπες σταθερές-φιξαρισμένες τιμές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ίδιες με εκείνες του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς (Cao *et al.*, 2013). Τονίζεται πως οι βιβλιογραφικές τιμές όγκων που χρησιμοποιήθηκαν για το πλάσμα, τη λέμφο, τους «στεγανούς» ιστούς και τους «διαρρέοντες» ιστούς ήταν αντιστοίχως: 2.6 L, 5.2 L, 8.112 L και 4.368 L.

Προσαρμόζοντας το μοντέλο στα δεδομένα, δηλαδή τις μέσες τιμές της συγκέντρωσης στο πλάσμα και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις, όπως υπολογίστηκαν προηγουμένως, μπορούν να εκτιμηθούν οι τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες (σ_1 , σ_2 , CL_p , ω_{CL_p} , ω_V). Συνοπτικά το μοντέλο πραγματοποιεί τα εξής βήματα:

1. Προσομοιώνονται $N=60$ τιμές των ΦΚ παραμέτρων σύμφωνα με τις κατανομές που καθεμία ακολουθεί με δειγματοληψία Latin Hypercube. Οι τιμές των ΦΚ παραμέτρων παραμένουν ίδιες για κάθε επανάληψη της διαδικασίας προσαρμογής.
2. Υπολογισμός των συγκεντρώσεων του πλάσματος για κάθε έναν από τους N ασθενείς συναρτήσει των ΦΚ παραμέτρων στους ίδιους χρόνους δειγματοληψίας που ακολουθήθηκαν και στην κλινική μελέτη.
3. Υπολογισμός των μέσων τιμών των προηγούμενων συγκεντρώσεων του πλάσματος των N ατόμων καθώς και των αντίστοιχων τυπικών αποκλίσεων ως συνάρτηση των ΦΚ παραμέτρων.
4. Οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις που υπολογίζονται προσαρμόζονται στις παρατηρήσεις, όπως αυτές βρέθηκαν προηγουμένως, ώστε να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες.

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

Όσον αφορά το βήμα 4, η προσαρμογή του μοντέλου έγινε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των εκτεταμένων ελαχίστων τετραγώνων (Extended Least Squares-ELS) για μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων, όπως περιγράφονται στις παραγράφους 1.1.1.2 και 1.1.2.1. Ακόμη, χρησιμοποιήθηκε το εκθετικό μοντέλο σφάλματος για την υπολειπόμενη μεταβλητότητα, με έναν όρο για τις μέσες τιμές και έναν για τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις. Σημειώνεται πως στο μοντέλο μας υπάρχουν δύο εξαρτημένες μεταβλητές - οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις - και χρησιμοποιήθηκε η ταυτόχρονη ανάλυση των δεδομένων, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 1.1.1.6. Πιο συγκεκριμένα, η αντικειμενική συνάρτηση που χρησιμοποιήθηκε ήταν το άθροισμα των επιμέρους αντικειμενικών συναρτήσεων, δηλαδή:

$$OF_{total} = OF_1 + OF_2 \quad 1.1.1 - 33$$

Αυτό στηρίζεται στο γεγονός ότι οι πιθανοφάνειες των μέσων τιμών κάθε χρονική στιγμή και οι πιθανοφάνειες των αντιστοίχων τυπικών αποκλίσεων είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους και συνεπώς η πιθανοφάνεια για όλα τα σημεία θα είναι το γινόμενο τους.

Τέλος, ο επαναληπτικός αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε κατά την προσαρμογή του μοντέλου ήταν ο L-BFGS-B (Limited memory-BFGS-Bound constrained), ένας quasi-Newton αλγόριθμος βελτιστοποίησης (Byrd *et al.*, 1995). Οι μέθοδοι quasi-Newton χρησιμοποιούνται είτε για να βρουν ρίζες είτε για να βρουν τοπικά μέγιστα και ελάχιστα συναρτήσεων, ως εναλλακτική επιλογή της μεθόδου Newton. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν όταν το Hessian matrix (τετραγωνικός πίνακας των δεύτερων μερικών παραγώγων της αντικειμενικής συνάρτησης ως προς τις παραμέτρους) είναι μη διαθέσιμο ή όταν είναι πολύ χρονοβόρο για να υπολογιστεί σε κάθε επανάληψη, καθώς η μέθοδος Newton απαιτεί το Hessian matrix για την εύρεση των ακροτάτων. Οι μέθοδοι quasi-Newton εκμεταλλεύονται το ότι η εύρεση των ακροτάτων μίας συνάρτησης που δέχεται πολλές παραμέτρους ως εισακτές τιμές και υπολογίζει μία μόνο τιμή (scalar-valued function) δεν είναι τίποτε άλλο από την εύρεση των μηδενικών της κλίσης (πρώτης παραγώγου) αυτής της συνάρτησης.

Με άλλα λόγια αν \mathbf{g} είναι η κλίση της scalar-valued συνάρτησης \mathbf{f} - στην περίπτωσή μας η \mathbf{f} είναι η αντικειμενική συνάρτηση - τότε η εύρεση των μηδενικών της συνάρτησης \mathbf{g} ισοδυναμεί με την εύρεση των ακροτάτων της συνάρτησης \mathbf{f} . Στις μεθόδους quasi-Newton το Hessian matrix δεν υπολογίζεται άμεσα, αλλά αναnevώνεται αναλύοντας διαδοχικά διανύσματα των πρώτων παραγώγων της συνάρτησης \mathbf{f} , και οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούνται σε πολυδιάστατα προβλήματα. Ένας πολύ συνηθισμένος quasi-Newton αλγόριθμος είναι ο BFGS, ο οποίος προτάθηκε ανεξάρτητα από τους Broyden, Fletcher, Goldfarb και Shanno το 1970 (Broyden, 1970; Fletcher, 1970; Goldfarb, 1970; Shanno, 1970). Πιο συγκεκριμένα, για την εύρεση του ελαχίστου της αντικειμενικής συνάρτησης αρχικά ο αλγόριθμος, με βάση

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

αρχικές τιμές που ορίζονται εξ αρχής στις παραμέτρους, προσεγγίζει το Hessian matrix. Έπειτα, επαναλαμβάνει τη διαδικασία ανανεώνοντας τη θέση των παραμέτρων μέχρι την εύρεση του ελαχίστου της αντικειμενικής συνάρτησης.

Τονίζεται, ακόμη, πως ο αλγόριθμος L-BFGS-B επιτρέπει τη χρήση ορίων στις τιμές που θα λάβουν οι παράμετροι κατά την επαναληπτική διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως, εξ ου και ο όρος Bound constrained στο όνομα του αλγορίθμου. Είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν όρια στις παραμέτρους σ_1 και σ_2 καθώς οι παράμετροι αυτοί αποτελούν ποσοστά και συνεπώς μπορούν να λάβουν τιμές από 0 έως 1. Αλλιώς η βιολογική-φυσιολογική τους σημασία παύει να υφίσταται. Συνεπώς στον αλγόριθμο ορίστηκαν ανώτερα και κατώτερα όρια για κάθε παράμετρο. Είναι απαραίτητο βεβαίως και οι αρχικές τιμές που ορίζονται να είναι εντός αυτών των ορίων.

Επίσης προκειμένου να εξασφαλιστεί πως ο αλγόριθμος εντοπίζει το ολικό ελάχιστο της αντικειμενικής συνάρτησης και όχι κάποιο τοπικό ελάχιστο, ώστε να προκύπτει ολική προσδιορισιμότητα όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 1.1.1.5, χρησιμοποιήθηκε η εντολή `parscale = abs(unlist(starta))` στο εσωτερικό του αλγορίθμου. Η συγκεκριμένη εντολή εξασφαλίζει πως η βελτιστοποίηση θα πραγματοποιηθεί στο λόγο των αρχικών τιμών των παραμέτρων ως προς τις εκάστοτε τιμές των παραμέτρων που θα χρησιμοποιηθούν στις επαναλήψεις. Ως αποτέλεσμα, δεν προκύπτουν προβλήματα κατά τη βελτιστοποίηση λόγω της διαφορετικής τάξης μεγέθους που έχουν οι τιμές των παραμέτρων. Σημειώνεται, ωστόσο, ότι οι αρχικές τιμές που ορίζονται στις παραμέτρους θα πρέπει να είναι λογικές. Κατ' αυτόν τον τρόπο, οι βέλτιστες τιμές που θα μας δώσει το μοντέλο καθίστανται πρακτικά ανεξάρτητες από τις αρχικές τιμές που θα ορίσουμε εμείς. Όλος ο κώδικας του μοντέλου για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες από τα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου παρουσιάζεται στο Παράρτημα-Γ.

2.2 Αξιολόγηση της Μεθόδου Εκτίμησης των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων από Συγκεντρωτικά Δεδομένα Συγκέντρωσης-Χρόνου

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων, μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες, από συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου αξιολογήθηκε με τη διεξαγωγή μελέτης προσομοίωσης. Η μέθοδος, ακριβώς όπως παρουσιάζεται στην παράγραφο 2.1, εφαρμόστηκε σε 1000 προσομοιωμένα σετ δεδομένων και εκτιμήθηκαν οι τιμές των ΦΚ παραμέτρων από τα συγκεντρωτικά δεδομένα. Η αξιοπιστία της μεθόδου κρίθηκε από τη διαφοροποίηση μεταξύ των γνωστών τιμών των ΦΚ παραμέτρων που χρησιμοποιήθηκαν στις προσομοιώσεις και αυτών που εκτιμήθηκαν. Πιο συγκεκριμένα,

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

η αξιολόγηση της μεθόδου στηρίχτηκε στον υπολογισμό της ορθότητας και της πιστότητας των εκτιμήσεων που προέκυψαν από αυτά τα προσομοιωμένα σετ δεδομένων. Ακόμη, η απόδοση και η σταθερότητα της μεθόδου ελέγχθηκε πραγματοποιώντας Visual Predictive Check (VPC).

2.2.1 Προσομοιώσεις

Για τη δημιουργία ενός σετ δεδομένων προς ανάλυση, δηλαδή για τη δημιουργία των μέσων τιμών συγκεντρώσεων στο πλάσμα ως προς το χρόνο καθώς και των αντίστοιχων τυπικών αποκλίσεων (δεδομένα-παρατηρήσεις), ακολουθήθηκε ακριβώς η ίδια διαδικασία που περιγράφεται στην παράγραφο 2.1.1. Στη συνέχεια σε αυτά τα συγκεντρωτικά δεδομένα προσαρμόζεται το μοντέλο, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 2.1.3, ώστε να εκτιμηθούν οι τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες (σ_1 , σ_2 , CL_p , ω_{CL_p} και ω_N). Για να είναι στατιστικά σημαντικά τα αποτελέσματα, δημιουργήθηκαν 1000 σετ δεδομένων και εκτιμήθηκαν οι τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων σε κάθε σετ. Σημειώνεται πως σε κάθε σετ δεδομένων οι τιμές των ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες των 24 ασθενών που προσομοιώνονται κάθε φορά είναι διαφορετικές και αυτό είναι που οδηγεί στην απόκτηση διαφορετικών τιμών των ΦΚ παραμέτρων σε κάθε σετ.

Σκοπός μας είναι να δούμε αν οι βέλτιστες τιμές των ΦΚ παραμέτρων που δίνει το μοντέλο κάθε φορά που προσαρμόζεται στα δεδομένα είναι κοντά μεταξύ τους και, επιπλέον, αν αυτές οι τιμές προσεγγίζουν τις εκάστοτε προσομοιωμένες τιμές των ΦΚ παραμέτρων (από τους 24 ασθενείς). Δηλαδή, επιθυμούμε να δούμε εάν οι εκτιμήσεις των ΦΚ παραμέτρων κατά την προσαρμογή του μοντέλου εμφανίζουν πιστότητα (precision) και ορθότητα (accuracy) αντιστοίχως.

2.2.2 Ορθότητα και Πιστότητα των Εκτιμήσεων

Η ορθότητα στην εκτίμηση των παραμέτρων αξιολογήθηκε υπολογίζοντας το επί τοις εκατό μέσο σχετικό συστηματικό σφάλμα (percent mean Relative BIAS - % RBIAS), ενώ η πιστότητα στην εκτίμηση των παραμέτρων αξιολογήθηκε υπολογίζοντας την επί τοις εκατό σχετική ρίζα του μέσου τετραγωνισμένου σφάλματος (percent Relative root Mean Squared Error - % RMSE) καθώς και το επί τοις εκατό σχετικό απόλυτο σφάλμα (percent Relative Absolute Error - % RAE). Τα αντίστοιχα μεγέθη ορίζονται ως εξής:

$$\% \text{ RBIAS} = \frac{100}{n} * \sum_{i=1}^n \frac{\theta_{E_i} - \theta_{T_i}}{\theta_{T_i}} \quad 2.2-1$$

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

$$\% \text{ RMSE} = 100 * \sqrt{\frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n \left(\frac{\theta_{E_i} - \theta_{T_i}}{\theta_{T_i}}\right)^2} \quad 2.2-2$$

$$\% \text{ RAE} = \frac{100}{n} * \sum_{i=1}^n \frac{|\theta_{E_i} - \theta_{T_i}|}{\theta_{T_i}} \quad 2.2-3$$

Στις εξισώσεις αυτές n είναι το πλήθος των σετ δεδομένων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη προσομοίωσης, δηλαδή $n = 1000$, θ_{E_i} είναι η τιμή κάθε πληθυσμιακής ΦΚ παραμέτρου που εκτιμήθηκε για το i σετ δεδομένων και θ_{T_i} είναι η τιμή της ίδιας ΦΚ παραμέτρου που χρησιμοποιήθηκε στην αντίστοιχη προσομοίωση του i - σετ δεδομένων για την εύρεση των αρχικών συγκεντρωτικών δεδομένων συγκέντρωσης-χρόνου.

Τονίζεται πως η μελέτη προσομοίωσης έχει αμφίσημο ρόλο. Από τη μία χρησιμοποιείται για να διερευνήσει πιθανά σενάρια χορήγησης του φαρμάκου σε ασθενείς (διερευνητικός χαρακτήρας) και από την άλλη χρησιμοποιείται για να αξιολογήσει τη μέθοδο που αναπτύχθηκε κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες που χορηγήθηκε το φάρμακο (ρόλος αξιολόγησης της μεθόδου). Υπό αυτό το πρίσμα πραγματοποιήθηκαν τρεις μελέτες αξιολόγησης. Στην πρώτη μελέτη αξιολόγησης για την απόκτηση των συγκεντρωτικών δεδομένων συγκέντρωσης-χρόνου από τους 24 ασθενείς χρησιμοποιήθηκε ως υπολειπόμενη μεταβλητότητα-residual variability (rv) 5%, ενώ στη δεύτερη μελέτη αξιολόγησης η υπολειπόμενη μεταβλητότητα τέθηκε ίση με 10%. Αφού βρέθηκε πως οι εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων παρουσιάζουν καλύτερη ορθότητα και πιστότητα στην πρώτη περίπτωση πραγματοποιήθηκε και μία τρίτη μελέτη προσομοίωσης κατά την οποία η υπολειπόμενη μεταβλητότητα διατηρήθηκε ίση με 5% και χρησιμοποιήθηκαν 10 ασθενείς αντί για 24 για την απόκτηση των αρχικών συγκεντρωτικών δεδομένων συγκέντρωσης-χρόνου. Οι 10 ασθενείς επιλέχθηκαν καθώς τόσο ήταν και οι ασθενείς κάθε δοσολογικής ομάδας στην κλινική μελέτη από την οποία προήλθαν και τα βιβλιογραφικά δεδομένα μας. Συνεπώς, κατ' αυτόν τον τρόπο, η μελέτη προσομοίωσης αποκτά και το ρόλο αξιολόγησης της μεθόδου που αναπτύχθηκε.

Τέλος, σημειώνεται πως για να μειωθεί δραστικά ο χρόνος πραγματοποίησης της μελέτης προσομοίωσης χρησιμοποιήθηκε το πακέτο `foreach` που παρέχει η γλώσσα προγραμματισμού R εκμεταλλευόμενοι τους 16 πυρήνες του κεντρικού υπολογιστή Dell Precision T7610 (2 x Xeon E5-2687W, 16 cores) που διαθέτει το εργαστήριο. Το πακέτο `foreach` παρέχει μία νέα δομή για την πραγματοποίηση ενός βρόχου και δίνει τη δυνατότητα παράλληλης εκτέλεσης του κώδικα R. Ακόμη, το πακέτο χρησιμοποιήθηκε με το σύστημα παράλληλου προγραμματισμού `snow`. Η μελέτη προσομοίωσης παρουσιάζεται στο Παράρτημα-Δ.

2.2.3 Αξιολόγηση της Μεθόδου με Visual Predictive Check (VPC)

Το μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων, μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες, αξιολογήθηκε πραγματοποιώντας Visual Predictive Check (VPC), ώστε να μελετηθεί η απόδοση και η σταθερότητά του.

Το VPC πραγματοποιήθηκε με την εξής διαδικασία:

1. Χρησιμοποιώντας το μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων από τα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου από 24 τυχαίους ασθενείς, εκτιμήθηκαν οι τιμές των ΦΚ παραμέτρων με τη μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας.
2. Υπολογίστηκε το 5^ο, 50^ο και 95^ο εκατοστημόριο (percentile) των συγκεντρώσεων στο πλάσμα σε κάθε χρονική στιγμή αυτών των 24 ασθενών (αρχικό σετ των πειραματικών δεδομένων - original dataset).
3. Χρησιμοποιώντας τις τιμές των ΦΚ παραμέτρων που εκτιμήθηκαν προσομοιώθηκαν 1000 σετ δεδομένων (datasets), όπως το αρχικό.
4. Για το κάθε σετ δεδομένων υπολογίστηκε το 5^ο, 50^ο και 95^ο εκατοστημόριο των συγκεντρώσεων στο πλάσμα σε κάθε χρονική στιγμή (εκατοστημόρια πρόβλεψης).
5. Από τα 1000 σετ δεδομένων υπολογίστηκαν τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης που περιβάλλουν τα τρία προηγούμενα εκατοστημόρια.
6. Πραγματοποιήθηκε γραφική απεικόνιση των διαστημάτων εμπιστοσύνης για τα εκατοστημόρια πρόβλεψης και των εκατοστημορίων του αρχικού σετ των πειραματικών δεδομένων.

Για να υπάρξει επιτυχής αξιολόγηση του μοντέλου πρέπει το κάθε εκατοστημόριο από το αρχικό σετ των πειραματικών δεδομένων να περιέχεται στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης του αντίστοιχου εκατοστημορίου πρόβλεψης. Συνεπώς, το VPC επιτρέπει να αξιολογηθεί γραφικώς το αν οι προσομοιωμένες τιμές του μοντέλου μπορούν, όταν αναπαρίστανται σε σχέση με την ανεξάρτητη μεταβλητή του χρόνου, να αναπαράγουν τη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων. Επίσης τα διαστήματα εμπιστοσύνης δίνουν μία ένδειξη της αβεβαιότητας της προβλεπτικής ικανότητας που διαθέτει το μοντέλο.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ένα ακόμη VPC στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν 10 τυχαίοι ασθενείς, αντί για 24, στην προαναφερθείσα διαδικασία, καθώς η εφαρμογή της μεθόδου έγινε σε βιβλιογραφικά συγκεντρωτικά δεδομένα της γκεβοκίζουμάμπης που προήλθαν από ομάδες με 10 ασθενείς η καθεμία που έλαβαν το φάρμακο σε διαφορετικές δόσεις.

2.3 Εφαρμογή της Μεθόδου σε Βιβλιογραφικά Συγκεντρωτικά Δεδομένα της Γκεβοκιζουμάμπης

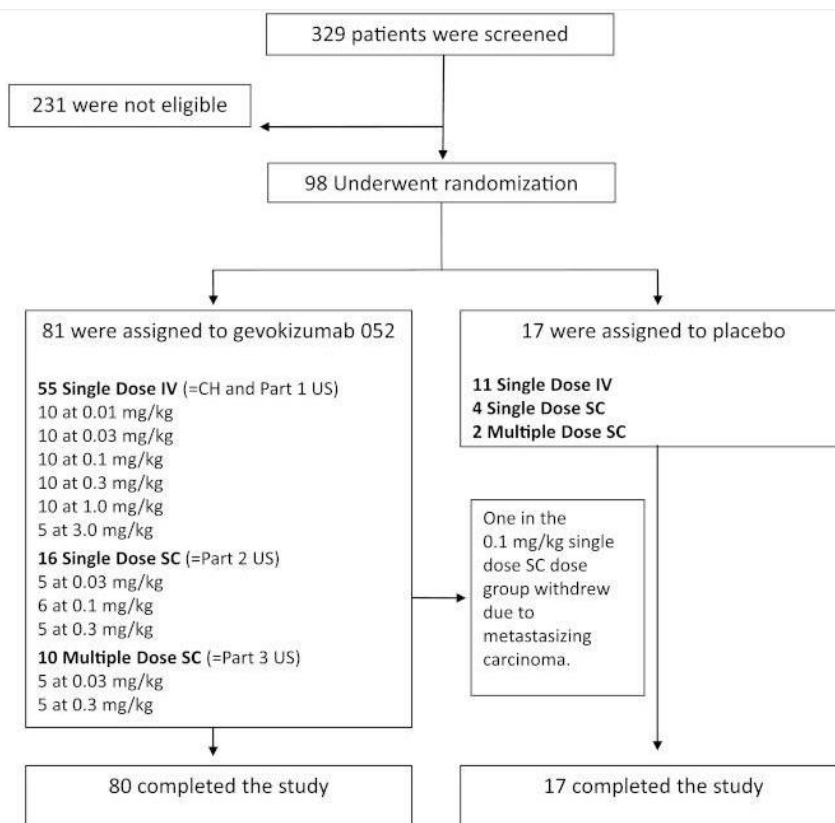
Η μέθοδος εφαρμόστηκε για την εκτίμηση των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης χρησιμοποιώντας τις μέσες τιμές σε κάθε χρονική στιγμή δειγματοληψίας καθώς και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στο πλάσμα μετά από ενδοφλέβια χορήγηση (IV bolus). Υπό την έννοια αυτή, μπορούμε να θεωρήσουμε πως το τελικό μοντέλο που αναπτύχθηκε αποτελεί ένα πληθυσμιακό mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς για την γκεβοκιζουμάμπη. Τέλος, η καλή προσαρμογή του μοντέλου αξιολογήθηκε με τη χρήση διαγνωστικών διαγραμμάτων.

2.3.1 Δεδομένα για την Γκεβοκιζουμάμπη

Τα δεδομένα για την ανάπτυξη του τελικού μοντέλου λήφθηκαν από μία κλινική μελέτη κατά την οποία χορηγήθηκε η γκεβοκιζουμάμπη σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 (*Cavelti-Weder et al., 2012*). Η μεταβολική ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος που προκαλείται από την ιντερλευκίνη (IL)-1β θεωρήθηκε πως συνεισφέρει σε ανεπάρκεια-διακοπή λειτουργίας των β-κυττάρων στο διαβήτη τύπου 2 και, συνεπώς, χορηγήθηκε η γκεβοκιζουμάμπη, ως καινοτόμος αναστολέας της IL-1β, στους ασθενείς αυτούς. Κύριος σκοπός της κλινικής μελέτης ήταν η αξιολόγηση της ασφάλειας του φαρμάκου στους διαβητικούς ασθενείς τύπου 2. Δευτερεύοντες στόχοι ήταν η αξιολόγηση της φαρμακοκινητικής της γκεβοκιζουμάμπης για διαφορετικές δόσεις και διαφορετικές οδούς χορήγησης, καθώς και η εκτίμηση της βιολογικής της δράσης.

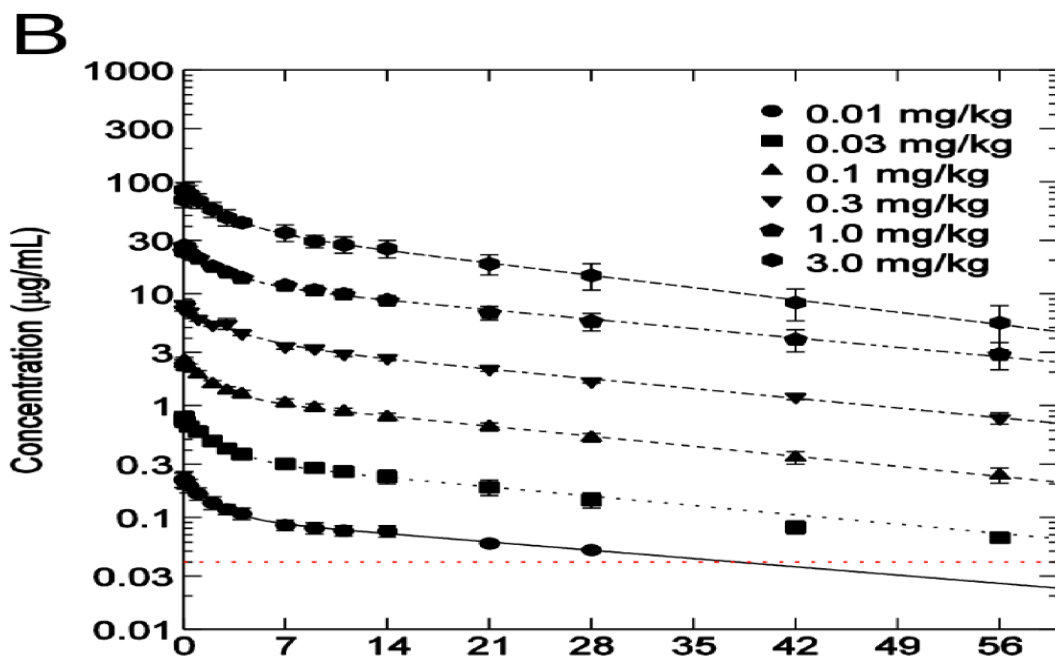
Συνολικά 329 διαβητικοί ασθενείς τύπου 2 υποβλήθηκαν σε φυσικό και βιοχημικό έλεγχο. 231 βρέθηκαν πως δεν πληρούν τις προϋποθέσεις για να εισαχθούν στην κλινική μελέτη. 98 ασθενείς έλαβαν τυχαία είτε γκεβοκιζουμάμπη είτε εικονικό φάρμακο (placebo). Στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν γκεβοκιζουμάμπη υποδορίως (single dose SC) ένας ασθενής αποσύρθηκε μετά από λιγότερο από μία εβδομάδα και η θεραπευτική αγωγή ολοκληρώθηκε μετά από 13 εβδομάδες. Η κλινική μελέτη παρουσιάζεται συνοπτικά στο σχήμα 2.6.

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος



Σχήμα 2.6: Κλινική μελέτη από την οποία προήλθαν τα συγκεντρωτικά δεδομένα για το τελικό μοντέλο της γεβοκιζουμάμπης.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα που προήλθαν από τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα 55 ασθενών μετά από μία απλή ενδοφλέβια χορήγηση του φαρμάκου, όπως παρουσιάζονται στο σχήμα 2.7. Πιο συγκεκριμένα, τα δοσολογικά σχήματα που εξετάστηκαν ήταν 0.01 mg/kg σε $N_1=10$ ασθενείς, 0.03 mg/kg σε $N_2=10$ ασθενείς, 0.1 mg/kg σε $N_3=10$ ασθενείς, 0.3 mg/kg σε $N_4=10$ ασθενείς, 1.0 mg/kg σε $N_5=10$ ασθενείς και 3.0 mg/kg σε $N_6=5$ ασθενείς. Σε όλους τους συμμετέχοντες η γεβοκιζουμάμπη χορηγήθηκε με απλή ενδοφλέβια χορήγηση μία μόνο φορά. Η συλλογή των δειγμάτων αίματος από κάθε ασθενή καθεμίας δοσολογικής ομάδας έγινε 4, 8, 24, 48, 72, 96, 168, 216, 264, 336, 504, 672, 1008 και 1344 ώρες μετά τη χορήγηση της πρώτης δόσης.



Σχήμα 2.7: Συγκέντρωση στο πλάσμα της γκεβοκιζουμάμπης (µg/mL) ως προς το χρόνο (ημέρες) μετά από απλή ενδοφλέβια χορήγησή της σε διαφορετικές δοσολογικές ομάδες. Στο σχήμα υποδεικνύονται οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις των συγκεντρώσεων αυτών.

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά δεδομένα για κάθε δοσολογική ομάδα όπως υπολογίστηκαν μετά την κατάλληλη ψηφιοποίησή τους μέσω του λογισμικού Digitizer (*automeris.io*, 2019). Σημειώνεται πως δεν ήταν διαθέσιμες όλες οι τυπικές αποκλίσεις στο δημοσιευμένο γράφημα που παρουσιάζεται στο σχήμα 2.7 και συνεπώς στον Πίνακα 2.2 αυτές δηλώνονται με παύλα (-). Ακόμη στην πρώτη δοσολογική ομάδα (0.01mg/kg) οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων που αντιστοιχούν στις 1008 και στις 1344 ώρες, 42 και 56 μέρες αντίστοιχα, παραλείφθηκαν από το δημοσιευμένο γράφημα καθώς ήταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης και συνεπώς δηλώνονται και αυτές με παύλα (-) στον Πίνακα 2.2.

Κεφάλαιο 2: Μέθοδος

Πίνακας 2.2: Δημοσιευμένα βιβλιογραφικά συγκεντρωτικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης μετά την κατάλληλη ψηφιοποίησή τους μέσω του λογισμικού Digitizer.

Χρόνος Δεγματοληψίας (h)	ΟΜΑΔΑ 1 N ₁ =10 Δόση = 0.01mg/kg		ΟΜΑΔΑ 2 N ₂ =10 Δόση = 0.03mg/kg		ΟΜΑΔΑ 3 N ₃ =10 Δόση = 0.1mg/kg		ΟΜΑΔΑ 4 N ₄ =10 Δόση = 0.3mg/kg		ΟΜΑΔΑ 5 N ₅ =10 Δόση = 1.0mg/kg		ΟΜΑΔΑ 6 N ₆ =5 Δόση = 3.0mg/kg	
	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)	Mean (C _p) (μg/mL)	SD (C _p) (μg/mL)
4	0.23	-	0.80	-	2.40	-	8.12	-	26.66	-	88.79	-
8	0.19	0.025	0.65	-	2.11	0.25	6.70	-	23.67	-	76.54	15.70
24	0.16	0.022	0.58	-	1.96	0.096	5.91	0.31	20.97	-	67.90	10.38
48	0.13	0.018	0.48	-	1.61	0.061	5.31	0.28	17.37	-	56.93	8.71
72	0.12	0.013	0.41	-	1.40	0.061	5.34	0.57	15.59	-	48.35	7.91
96	0.11	0.013	0.37	-	1.32	0.046	4.40	0.23	14.00	-	43.39	-
168	0.084	0.0091	0.30	-	1.08	0.061	3.36	0.18	11.91	1.00	34.89	5.82
216	0.080	0.0086	0.27	-	0.99	0.046	3.27	0.17	10.60	1.00	29.71	3.73
264	0.076	0.0081	0.25	-	0.91	0.041	2.86	0.15	9.78	0.92	27.42	4.20
336	0.075	0.0090	0.23	0.034	0.81	0.047	2.64	0.14	8.62	0.98	25.32	4.57
504	0.058	-	0.19	0.030	0.66	0.035	2.13	0.11	6.75	0.99	18.18	3.77
672	0.050	-	0.14	0.023	0.53	0.033	1.62	0.043	5.61	0.97	14.56	3.99
1008	-	-	0.082	0.012	0.34	0.043	1.18	0.062	3.89	0.88	8.44	2.61
1344	-	-	0.066	-	0.24	0.037	0.76	0.092	2.86	0.79	5.46	2.29

2.3.2 Εκτίμηση των Πληθυσμιακών Φαρμακοκινητικών Παραμέτρων

Για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς για την γκεβοκιζουμάμπη εφαρμόστηκε η μέθοδος που περιγράφηκε στην παράγραφο 2.1 με τη χρησιμοποίηση των βιβλιογραφικών συγκεντρωτικών δεδομένων, όπως αυτά υπολογίστηκαν στην παράγραφο 2.3.1. Η μέθοδος, όπως είδαμε, είναι αριθμητική και περιλαμβάνει Monte Carlo δειγματοληψία από τις κατανομές των ΦΚ παραμέτρων ώστε να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες.

Αρχικώς το μοντέλο εφαρμόστηκε τρεις φορές στα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης για τρεις ενδεικτικές δοσολογικές ομάδες (0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg και 1 mg/kg). Επισημαίνεται πως ο αριθμός των ασθενών από τους οποίους προήλθαν τα βιβλιογραφικά δεδομένα για καθεμία από αυτές τις τρεις δοσολογικές ομάδες ήταν 10, όσοι ακριβώς ήταν και στην τρίτη μελέτη προσομοίωσης (μελέτη αξιολόγησης). Η καλή προσαρμογή του μοντέλου αξιολογήθηκε με τη χρήση διαγνωστικών διαγραμμάτων, ώστε να επιβεβαιωθεί η ορθή εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων.

Ακόμη, έχει βρεθεί πως η εφαρμογή του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς σε ανθρώπινα σετ δεδομένων με ένα εύρος δόσεων επιτρέπει μεγαλύτερη ακρίβεια στην προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα και στις εκτιμήσεις των ΦΚ παραμέτρων συγκριτικά με τη χρήση φαρμακοκινητικών προφίλ μίας μόνο δόσεως (Cao *et al.*, 2013). Στη συνέχεια, λοιπόν, πραγματοποιήθηκε και η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα όλων των δοσολογικών ομάδων, εκτός από τα δεδομένα της έκτης δοσολογικής ομάδας που είχαν προέλθει από 5 και όχι από 10 ασθενείς. Το γεγονός που μας επιτρέπει να χρησιμοποιήσουμε τα δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης πολλών δοσολογικών ομάδων είναι το ότι αυτά στο συγκεκριμένο εύρος δόσεων εμφανίζουν dose linearity, δηλαδή οι χρησιμοποιούμενες δόσεις είναι ανάλογες των αντιστοίχων AUC. Επισημαίνεται, ωστόσο, πως στην τελική αυτή προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα πολλών δόσεων δεν λήφθηκε υπόψη η μεταβλητότητα κάθε δοσολογικής ομάδας (naive pooled approach).

Κεφάλαιο 3

Αποτελέσματα – Συζήτηση

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εργασίας ακολουθούμενα από μία συζήτηση περί αυτών. Αρχικά αναφέρονται τα αποτελέσματα από τις μελέτες προσομοίωσης ώστε να διερευνηθεί και να αξιολογηθεί η μέθοδος ανάλυσης των συγκεντρωτικών δεδομένων – μέσες τιμές συγκέντρωσης στο πλάσμα ως προς το χρόνο και αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις – για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες. Ακόμη, παρουσιάζεται το διάγραμμα VPC για την εσωτερική επικύρωση της μεθόδου. Στη συνέχεια αναλύονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το τελικό μοντέλο που αναπτύχθηκε βάσει της προηγούμενης μεθόδου από βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης. Πιο συγκεκριμένα παρουσιάζονται τα διαγράμματα παρατηρήσεων-προβλεπόμενων τιμών για την αξιολόγηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου στα δεδομένα καθώς και οι εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης.

3.1 Αποτελέσματα Μελετών Προσομοίωσης

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε επιτρέπει την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων από συγκεντρωτικά δεδομένα, δηλαδή μέσες τιμές συγκέντρωσης στο πλάσμα στις διάφορες χρονικές στιγμές δειγματοληψίας και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις. Όπως αναφέρεται στην παράγραφο 2.2, πραγματοποιήθηκαν τρεις μελέτες προσομοίωσης εφόσον αυτές έχουν διερευνητικό χαρακτήρα καθώς και ρόλο αξιολόγησης της μεθόδου. Πραγματοποιήθηκαν, συνεπώς, δύο μελέτες προσομοίωσης διερευνητικού χαρακτήρα, μία με υπολειπόμενη μεταβλητότητα - residual variability (rv) 5% και $N = 24$ ασθενείς για την απόκτηση των συγκεντρωτικών δεδομένων συγκέντρωσης-χρόνου και μία με υπολειπόμενη μεταβλητότητα (rv) 10% και πάλι $N = 24$ ασθενείς για την απόκτηση των συγκεντρωτικών δεδομένων. Επίσης, πραγματοποιήθηκε και μία τρίτη μελέτη προσομοίωσης κατά την οποία η υπολειπόμενη μεταβλητότητα (rv) διατηρήθηκε ίση με 5% και χρησιμοποιήθηκαν $N = 10$ ασθενείς για την απόκτηση των αρχικών συγκεντρωτικών δεδομένων. Αυτή η μελέτη προσομοίωσης, όπως προαναφέρθηκε, είχε το ρόλο αξιολόγησης της μεθόδου. Στον Πίνακα 3.1 δίνονται τα αποτελέσματα των τριών αυτών μελετών - το επί τοις εκατό μέσο σχετικό συστηματικό σφάλμα (percent mean Relative BIAS - % RBIAS), η επί τοις εκατό σχετική ρίζα του μέσου

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

τετραγωνισμένου σφάλματος (percent Relative root Mean Squared Error - % RMSE) καθώς και το επί τοις εκατό σχετικό απόλυτο σφάλμα (percent Relative Absolute Error - % RAE).

Πίνακας 3.1: Τα αποτελέσματα των τριών μελετών προσομοίωσης. Για κάθε ΦΚ παράμετρο υπολογίστηκαν τα μεγέθη % RBIAS, % RMSE και % RAE. Οι δύο πρώτες μελέτες έχουν διερευνητικό χαρακτήρα, ενώ η τρίτη παίζει το ρόλο αξιολόγησης της μεθόδου.

	Πρώτη μελέτη προσομοίωσης ($r_v=5\%$, $N=24$)	Δεύτερη μελέτη προσομοίωσης ($r_v=10\%$, $N=24$)	Τρίτη μελέτη προσομοίωσης ($r_v=5\%$, $N=10$)
<i>Μέσες Πληθυσμιακές Τιμές (Means)</i>			
σ_1			
%RBIAS	-0.11	0.12	-0.11
%RMSE	1.25	1.56	2.05
%RAE	0.91	1.24	1.40
σ_2			
%RBIAS	0.15	-0.027	-0.063
%RMSE	1.81	2.24	2.87
%RAE	1.39	1.77	2.23
CLp			
%RBIAS	-0.14	-0.65	0.068
%RMSE	0.62	1.21	7.32
%RAE	0.49	0.97	1.00
<i>Δι-ατομικές Μεταβλητότητες</i>			
ω_{CLp}			
%RBIAS	-6.62	0.38	-7.24
%RMSE	8.14	6.84	12.2
%RAE	7.00	5.37	8.99
ω_v			
%RBIAS	5.81	22.8	5.68
%RMSE	8.96	25.0	12.0
%RAE	7.16	22.8	9.29

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

Αρχικά αναλύονται τα αποτελέσματα της πρώτης και της δεύτερης μελέτης προσομοίωσης. Σημειώνεται πως στην περίπτωση του % RBIAS μας ενδιαφέρουν οι απόλυτες τιμές του μεγέθους αυτού, καθώς μας ενδιαφέρει η απόσταση των τιμών των ΦΚ παραμέτρων από τις πραγματικές τιμές και όχι η θετική ή αρνητική απόκλισή τους από αυτές. Οι μέσες τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων (συντελεστές ανάκλασης σ_1 και σ_2 καθώς και κάθαρση από το πλάσμα CL_p) έχουν εκτιμηθεί με μεγάλη ορθότητα ($|\% \text{RBIAS}| < 1$) και, ακόμη, όλες οι τιμές παρουσιάζουν υψηλή πιστότητα ($\% \text{RMSE} < 3$ και $\% \text{RAE} < 2$).

Αναφορικά με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες των ΦΚ παραμέτρων, η εκτίμησή τους έγινε με μικρότερη ορθότητα και πιστότητα, όπως αναμένεται για τη διακύμανση μίας παραμέτρου. Εξαιρέση αποτελεί η ορθότητα για τη δι-ατομική μεταβλητότητα της κάθαρσης από το πλάσμα στη δεύτερη μελέτη προσομοίωσης ($\% \text{RBIAS} = 0.38$). Στην πρώτη μελέτη προσομοίωσης η ορθότητα για τις δι-ατομικές μεταβλητότητες ήταν πολύ ικανοποιητική με $|\% \text{RBIAS}| < 7$. Επίσης πολύ ικανοποιητική ήταν και η πιστότητα με $\% \text{RMSE} < 9$ και $\% \text{RAE} < 8$. Στη δεύτερη μελέτη προσομοίωσης η ΦΚ παράμετρος ω_{CL_p} παρουσιάζει καλύτερη πιστότητα ($\% \text{RMSE} < 7$ και $\% \text{RAE} < 6$) και ιδιαιτέρως καλύτερη ορθότητα συγκριτικά με την πρώτη μελέτη. Ωστόσο η ορθότητα και η πιστότητα που αφορούν τη ΦΚ παράμετρο ω_n δεν είναι τόσο μεγάλες στη δεύτερη μελέτη προσομοίωσης ($|\% \text{RBIAS}| > 22$, $\% \text{RMSE} < 25$ και $\% \text{RAE} > 22$).

Συγκρίνοντας τις τιμές των δύο πρώτων μελετών προσομοίωσης παρατηρούμε πως τα μεγέθη που αντιπροσωπεύουν την ορθότητα ($\% \text{RBIAS}$) και την πιστότητα ($\% \text{RMSE}$ και $\% \text{RAE}$) έχουν γενικά μεγαλύτερες τιμές στη δεύτερη μελέτη. Όσον αφορά τις μέσες πληθυσμιακές τιμές (Means) μόνο η ορθότητα που αφορά τη ΦΚ παράμετρο σ_2 είναι καλύτερη, έχει δηλαδή μικρότερη απόλυτη τιμή, στη δεύτερη μελέτη συγκριτικά με την πρώτη. Σχετικά με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες, η ορθότητα και η πιστότητα που αφορούν την παράμετρο ω_{CL_p} είναι καλύτερες στη δεύτερη μελέτη προσομοίωσης, ωστόσο η ορθότητα και η πιστότητα που αφορούν την παράμετρο ω_n είναι αισθητά χειρότερες στη δεύτερη μελέτη. Συμπεραίνουμε, επομένως, πως οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι μπορούν να εκτιμηθούν με καλύτερη ορθότητα και πιστότητα στην πρώτη μελέτη προσομοίωσης με υπολειπόμενη μεταβλητότητα 5%.

Με βάση το προηγούμενο συμπέρασμα πραγματοποιήθηκε και μία τρίτη μελέτη προσομοίωσης κατά την οποία η υπολειπόμενη μεταβλητότητα διατηρήθηκε ίση με 5% (στις προσομοιώσεις η υπολειπόμενη αυτή μεταβλητότητα έχει την έννοια του θορύβου) και χρησιμοποιήθηκαν 10 ασθενείς, αντί των 24 ασθενών που είχαν χρησιμοποιηθεί στις δύο πρώτες μελέτες, για την απόκτηση των αρχικών συγκεντρωτικών δεδομένων ώστε να γίνει και η αξιολόγηση της μεθόδου. Στην τρίτη αυτή μελέτη προσομοίωσης οι μέσες τιμές των

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων έχουν εκτιμηθεί με πολύ μεγάλη ορθότητα ($|\% \text{ RBIAS}| < 1$) καθώς και με αρκετά μεγάλη πιστότητα ($\% \text{ RMSE} < 8$ και $\% \text{ RAE} < 3$). Επιπλέον, η εκτίμηση της δι-ατομικής μεταβλητότητας των ΦΚ παραμέτρων έγινε με σχετικά μεγάλη ορθότητα ($|\% \text{ RBIAS}| < 8$) και πιστότητα ($\% \text{ RMSE} < 13$ και $\% \text{ RAE} < 10$). Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της πρώτης και της τρίτης μελέτης προσομοίωσης βλέπουμε πως τα μεγέθη $\% \text{ RBIAS}$, $\% \text{ RMSE}$ και $\% \text{ RAE}$ τις περισσότερες φορές αυξάνονται στην τρίτη μελέτη προσομοίωσης, όπως αναμένεται όταν ο αριθμός των ασθενών για την απόκτηση των αρχικών συγκεντρωτικών δεδομένων μειώνεται. Πάντα, όμως, οι τιμές των μεγεθών αυτών βρίσκονται σε πολύ ικανοποιητικά επίπεδα.

Τα αποτελέσματα δείχνουν πως η μέθοδος είναι κατάλληλη για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων από συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης – χρόνου με ορθότητα και πιστότητα. Ακόμη, η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί στα βιβλιογραφικά δεδομένα μας για την γκεβοκιζουμάμπη.

3.2 Διαγράμματα VPC για την Αξιολόγηση της Μεθόδου

Το μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων, μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες, αξιολογήθηκε πραγματοποιώντας Visual Predictive Check (VPC), όπως περιγράφηκε στην παράγραφο 2.2.3 της εργασίας, ώστε να μελετηθεί η απόδοση και η σταθερότητά του. Οι τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων που εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας από τα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου από 24 τυχαίους ασθενείς (αρχικό σετ των πειραματικών δεδομένων - original dataset) και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν για να προσομοιωθούν τα 1000 σετ δεδομένων - datasets ήταν οι εξής:

- συντελεστές ανάκλασης: $\sigma_1 = 0.931$ και $\sigma_2 = 0.822$
- η κάθαρση από το πλάσμα: $\text{CL}_p = 0.00670 \text{ L/hr}$
- η δι-ατομική μεταβλητότητα για την κάθαρση από το πλάσμα: $\omega_{\text{CL}_p} = 0.165$
- η δι-ατομική μεταβλητότητα για τον όγκο του ανθρωπίνου σώματος: $\omega_V = 0.183$

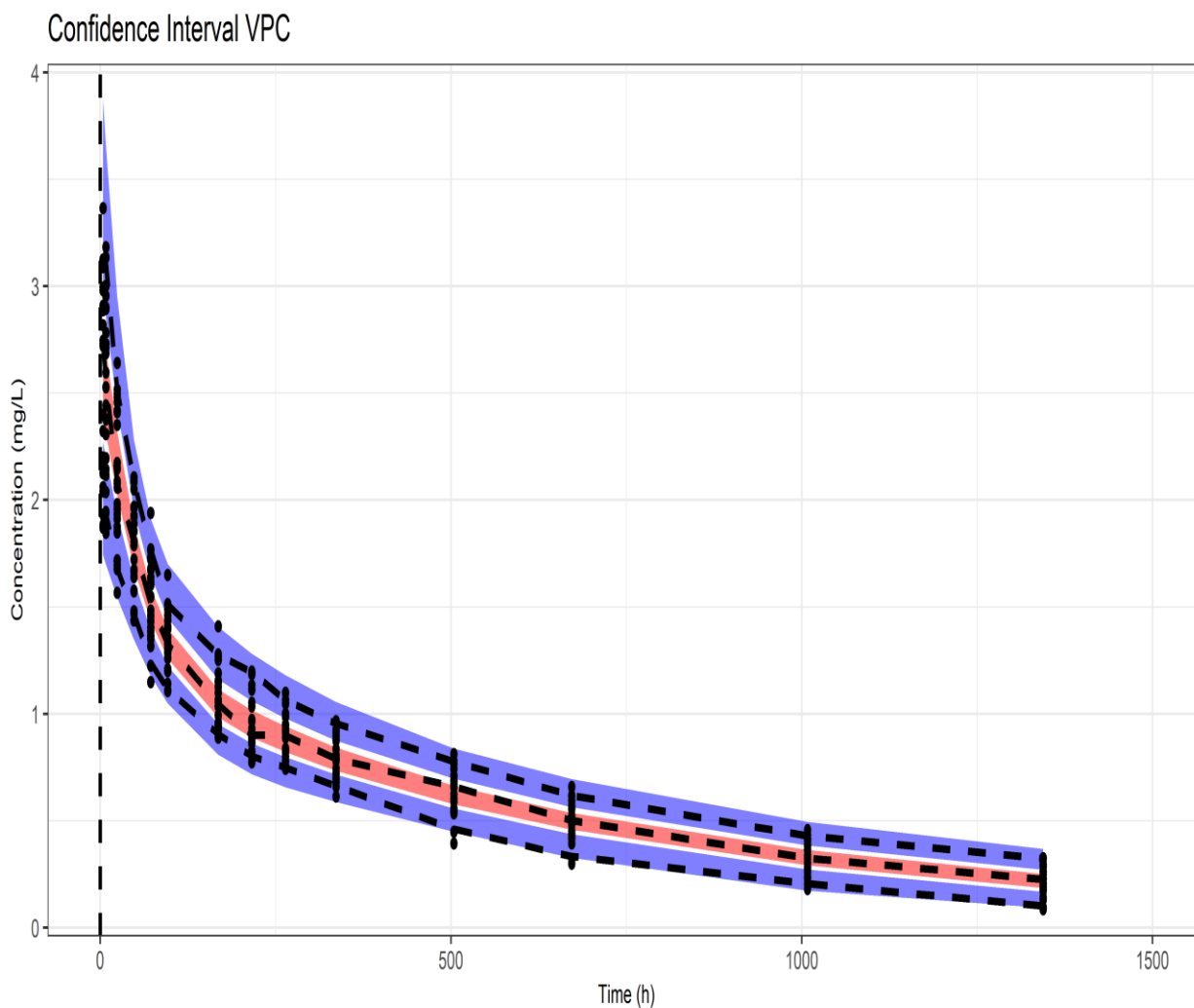
Σημειώνεται πως οι παράμετροι για την υπολειπόμενη μεταβλητότητα που εκτιμήθηκαν από αυτούς τους 24 τυχαίους ασθενείς ($\sigma_{\sigma_1} = 0.0117$ και $\sigma_{\sigma_2} = 0.0702$) δεν χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση των 1000 datasets, καθώς κάτι τέτοιο δεν ήταν εφικτό. Οι δύο παράμετροι για την υπολειπόμενη μεταβλητότητα αναφέρονται στις μέσες τιμές συγκέντρωσης του φαρμάκου στο πλάσμα και τις τυπικές αποκλίσεις και όχι στις ίδιες τις συγκεντρώσεις του πλάσματος. Συνεπώς δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν στις

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

προσομοιώσεις των 1000 datasets, ενώ το original dataset έφερε μία υπολειπόμενη μεταβλητότητα ίση με 5%.

Στο σχήμα 3.1-α παρουσιάζεται το VPC που πραγματοποιήθηκε. Με μαύρο χρώμα απεικονίζονται οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο πλάσμα σε κάθε χρονική στιγμή των 24 ασθενών του original dataset, καθώς και, με διακεκομμένη μαύρη γραμμή, τα τρία εκατοστημόρια (5°, 50° και 95°) των δεδομένων αυτών. Με κόκκινο και μπλε χρώμα παρουσιάζονται τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης που περιβάλλουν τα αντίστοιχα εκατοστημόρια των 1000 προσομοιωμένων σετ δεδομένων. Με μπλε χρώμα έχει χρωματιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης που αναφέρεται στα 5° και 95° εκατοστημόρια πρόβλεψης, ενώ με κόκκινο έχει χρωματιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης που αφορά τα 50° εκατοστημόρια πρόβλεψης. Τα διαστήματα εμπιστοσύνης αυτά δίνουν μία ένδειξη της αβεβαιότητας των προβλέψεων του μοντέλου.

Από αυτή τη γραφική απεικόνιση των διαστημάτων εμπιστοσύνης για τα εκατοστημόρια πρόβλεψης και των εκατοστημορίων του αρχικού σετ των πειραματικών δεδομένων βλέπουμε πως το κάθε εκατοστημόριο από το original dataset περιέχεται στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης του αντίστοιχου εκατοστημορίου πρόβλεψης. Συνεπώς, το μοντέλο μπορεί να αξιολογηθεί επιτυχώς. Με άλλα λόγια, οι προσομοιωμένες τιμές του μοντέλου μπορούν, όταν αναπαρίστανται σε σχέση με την ανεξάρτητη μεταβλητή του χρόνου, να αναπαράγουν τη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων. Συμπεραίνουμε, λοιπόν, πως το μοντέλο είναι ικανοποιητικό και περιγράφει καλά τα δεδομένα συμπεριλαμβανομένης της παρατηρούμενης μεταβλητότητας.



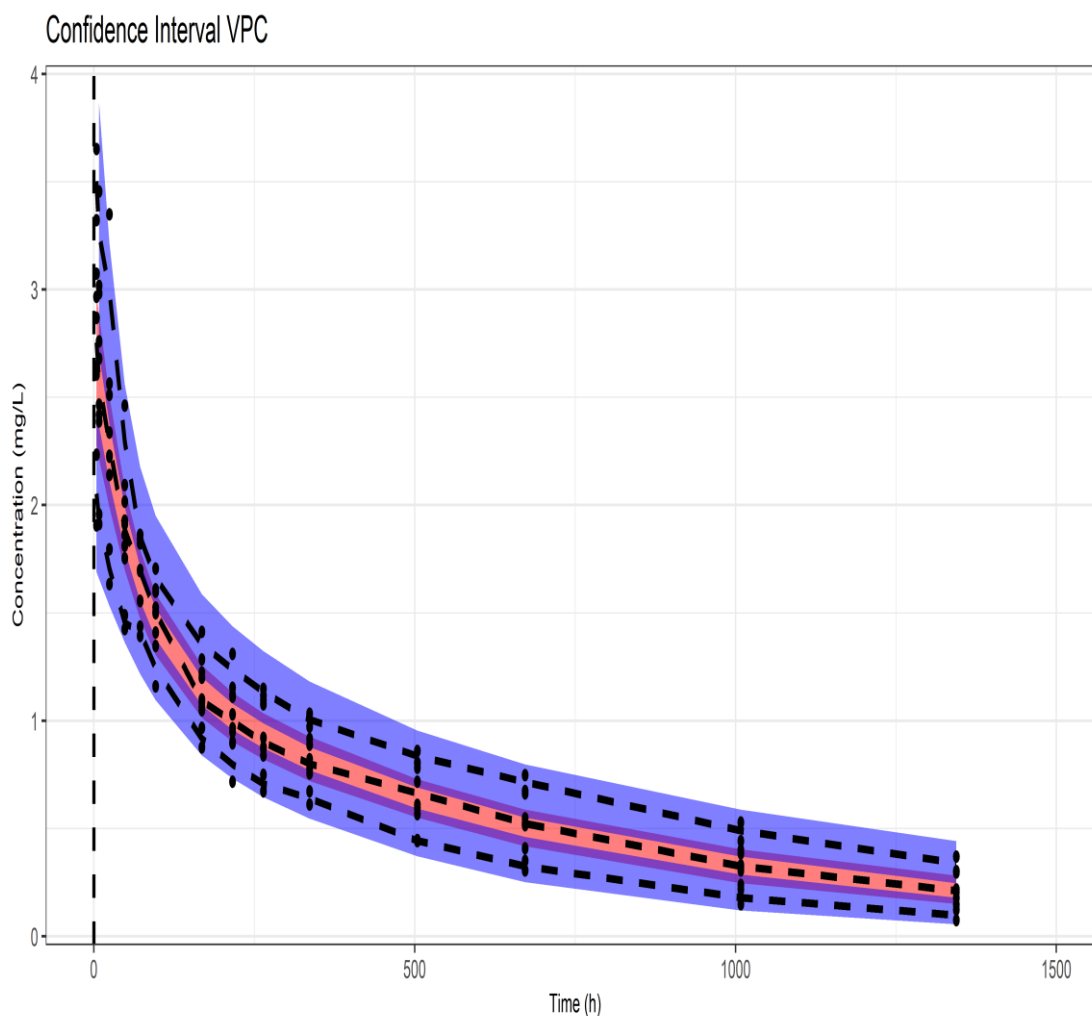
Σχήμα 3.1-α: Διάγραμμα VPC για την αξιολόγηση της μεθόδου (24 τυχαίοι ασθενείς στο original dataset).

Έπειτα, οι τιμές των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων που εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας από τα συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου από τους 10 τυχαίους ασθενείς (original dataset) και κατόπιν χρησιμοποιήθηκαν για να προσομοιωθούν τα 1000 σετ δεδομένων (datasets) ήταν οι εξής:

- συντελεστές ανάκλασης: $\sigma_1 = 0.924$ και $\sigma_2 = 0.870$
- η κάθαρση από το πλάσμα: $CL_p = 0.00653$ L/hr
- η δι-ατομική μεταβλητότητα για την κάθαρση από το πλάσμα: $\omega_{CL_p} = 0.225$
- η δι-ατομική μεταβλητότητα για τον όγκο του ανθρωπίνου σώματος: $\omega_v = 0.198$

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

Στο σχήμα 3.1-β παρουσιάζεται το VPC που πραγματοποιήθηκε στη δεύτερη αυτή περίπτωση. Και πάλι με μαύρο χρώμα απεικονίζονται οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο πλάσμα σε κάθε χρονική στιγμή των 10 ασθενών του original dataset, καθώς και, με διακεκομμένη μαύρη γραμμή, τα τρία εκατοστημόρια (5°, 50° και 95°) των δεδομένων αυτών. Με κόκκινο και μπλε χρώμα παρουσιάζονται τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης που περιβάλλουν τα αντίστοιχα εκατοστημόρια των 1000 προσομοιωμένων σετ δεδομένων. Πιο συγκεκριμένα με μπλε χρώμα έχει χρωματιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης που αναφέρεται στα 5° και 95° εκατοστημόρια πρόβλεψης, ενώ με κόκκινο έχει χρωματιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης που αφορά τα 50° εκατοστημόρια πρόβλεψης. Σημειώνεται πως με μωβ χρώμα (άνω και πάνω από το κόκκινο χρώμα) παρουσιάζεται η αλληλοεπικάλυψη των μπλε διαστημάτων εμπιστοσύνης με το ενδιάμεσο κόκκινο διάστημα εμπιστοσύνης.



Σχήμα 3.1-β: Διάγραμμα VPC για την αξιολόγηση της μεθόδου (10 τυχαίοι ασθενείς στο original dataset).

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

Και πάλι βλέπουμε πως κάθε εκατοστημόριο από το original dataset περιέχεται στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης του αντίστοιχου εκατοστημορίου πρόβλεψης. Επομένως, το μοντέλο μπορεί να αξιολογηθεί επιτυχώς και σε αυτήν την περίπτωση. Ωστόσο, τα τρία διαστήματα εμπιστοσύνης του σχήματος 3.1-β έχουν σαφώς πιο ευρεία όρια σε σύγκριση με εκείνα του σχήματος 3.1-α. Συνεπώς, η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου παρουσιάζει μεγαλύτερη αβεβαιότητα στην περίπτωση που τα αρχικά συγκεντρωτικά δεδομένα προέρχονται από μικρότερο αριθμό ασθενών.

3.2 Αποτελέσματα του Τελικού Μοντέλου για την Γκεβοκιζουμάμπη

Το τελικό μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης από συγκεντρωτικά βιβλιογραφικά δεδομένα του φαρμάκου αναπτύχθηκε όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.3 της παρούσας εργασίας. Όπως προαναφέρθηκε, ως δεδομένα του μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων στο πλάσμα ως προς το χρόνο και οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις των βιβλιογραφικών δεδομένων της γκεβοκιζουμάμπης. Αρχικά το μοντέλο προσαρμόστηκε στα βιβλιογραφικά δεδομένα του φαρμάκου που προήλθαν από τη δοσολογική ομάδα που έλαβε δόση ίση με 0.1 mg/kg, ίδια με τη δόση που χρησιμοποιήθηκε και κατά την ανάπτυξη της μεθόδου. Έπειτα, το μοντέλο εφαρμόστηκε και στα δεδομένα δύο ακόμη δοσολογικών ομάδων (0.3 mg/kg και 1.0 mg/kg) για να αξιολογηθεί περαιτέρω η προσαρμογή του. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων καθώς και τα διαγράμματα παρατηρήσεων – προβλεπόμενων τιμών όπως προέκυψαν από αυτές τις τρεις προσαρμογές του μοντέλου στα βιβλιογραφικά δεδομένα του φαρμάκου. Όσον αφορά τις εκτιμήσεις (Estimate), παρουσιάζονται δίπλα και τα αντίστοιχα Τυπικά Σφάλματα αυτών (Std. Error) όπως προέκυψαν στη γλώσσα R μέσω του διαθέσιμου πακέτου για τη μέθοδο μεγίστης πιθανοφάνειας *bbmle*. Ακόμη αναφέρεται και η τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης ($-2 \log L$). Επίσης, για καθεμία προσαρμογή του μοντέλου παρουσιάζονται δύο διαγράμματα παρατηρήσεων – προβλεπόμενων τιμών, ένα για τις μέσες τιμές και ένα για τις τυπικές αποκλίσεις, ενώ η κόκκινη γραμμή στα διαγράμματα αυτά αποτελεί την ευθεία $y = x$.

Η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα από την ομάδα που έλαβε δόση ίση με 0.1 mg/kg έδωσε τα ακόλουθα αποτελέσματα. Οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι είχαν ως εξής:

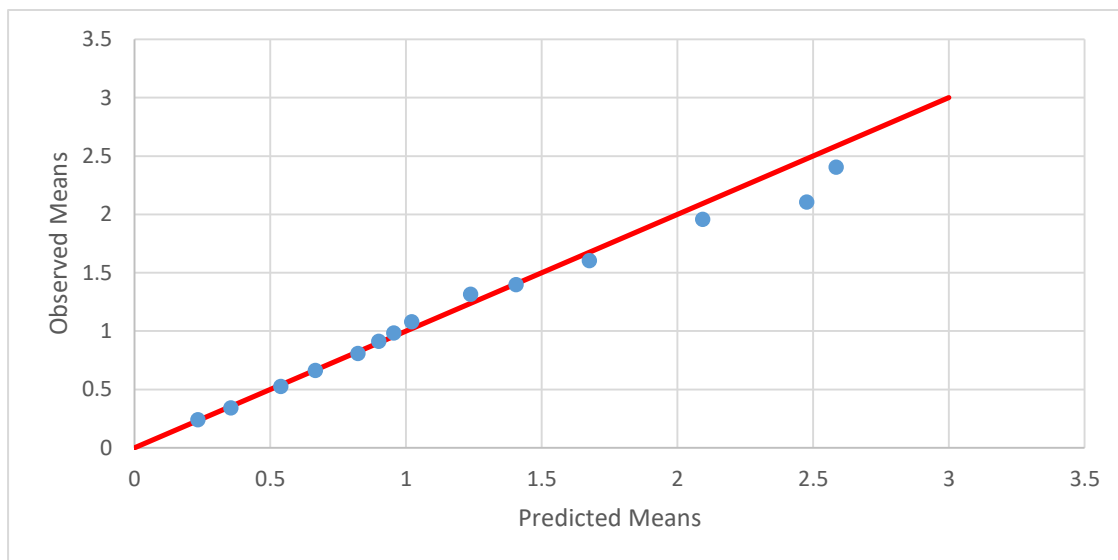
	Estimate	Std. Error
σ_1	0.99581972	0.03757300
σ_2	0.73763915	0.03479069
CL_p	0.00659974	0.00017319
ω_{CL_p}	0.07295482	0.00792743
ω_v	0.06888676	0.00543153

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

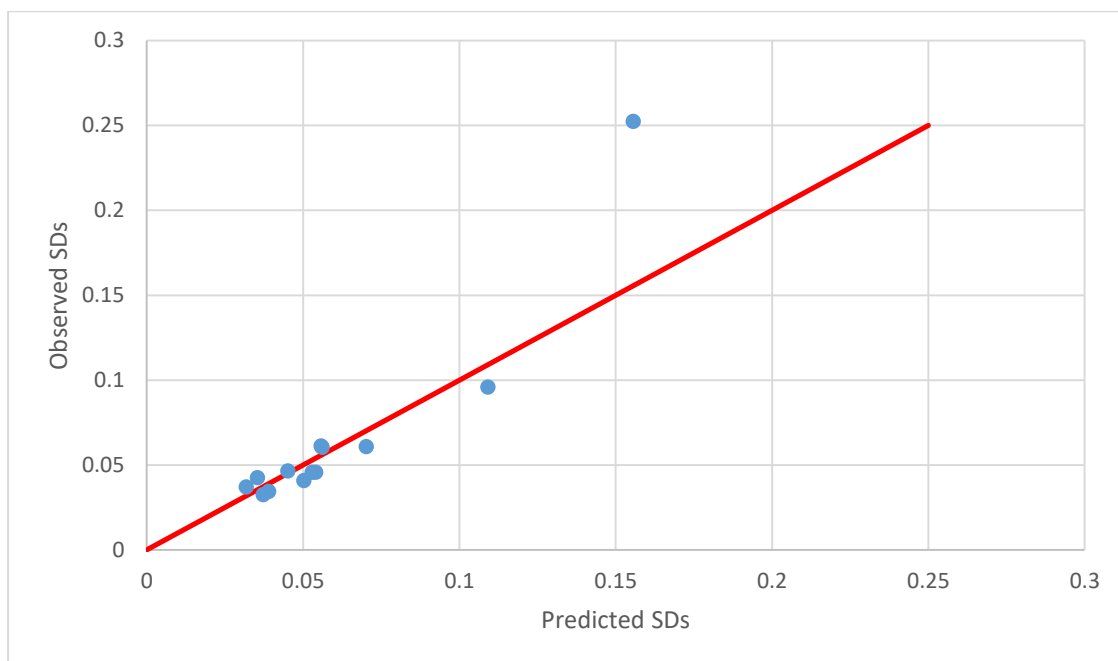
σ_1 0.05873561 0.01114868
 σ_2 0.18986845 0.03740789

-2 log L: -95.56585

Ενώ τα διαγράμματα παρατηρήσεων – προβλεπόμενων τιμών παρουσιάζονται στα σχήματα 3.2-α και 3.2-β.



Σχήμα 3.2-α: Μέσες τιμές συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 0.1 mg/kg).



Σχήμα 3.2-β: Τυπικές αποκλίσεις συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 0.1 mg/kg).

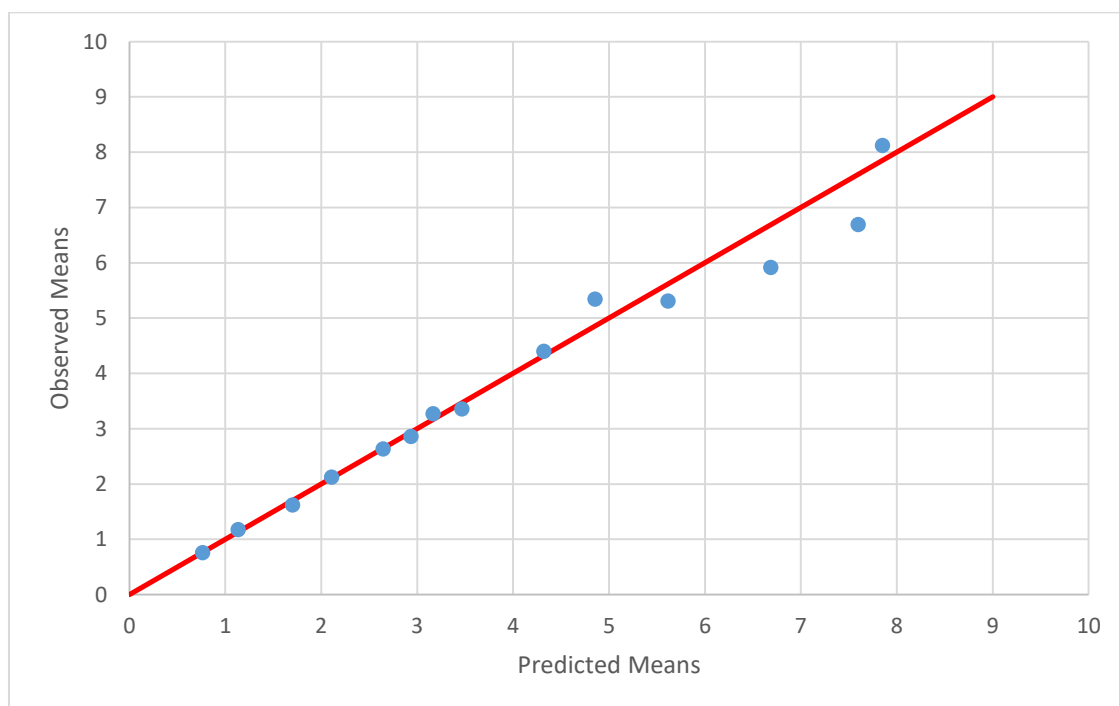
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

Όσον αφορά την ομάδα που έλαβε δόση ίση με 0.3 mg/kg η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα έδωσε τις εξής εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων:

	Estimate	Std. Error
σ_1	0.94056181	0.03537304
σ_2	0.84255177	0.03313996
CL_p	0.00600718	0.00016171
ω_{CLP}	0.03712406	0.00985808
ω_V	0.09046425	0.01129907
σ_{μ_1}	0.06046365	0.01146179
σ_{μ_2}	0.32230394	0.06601191

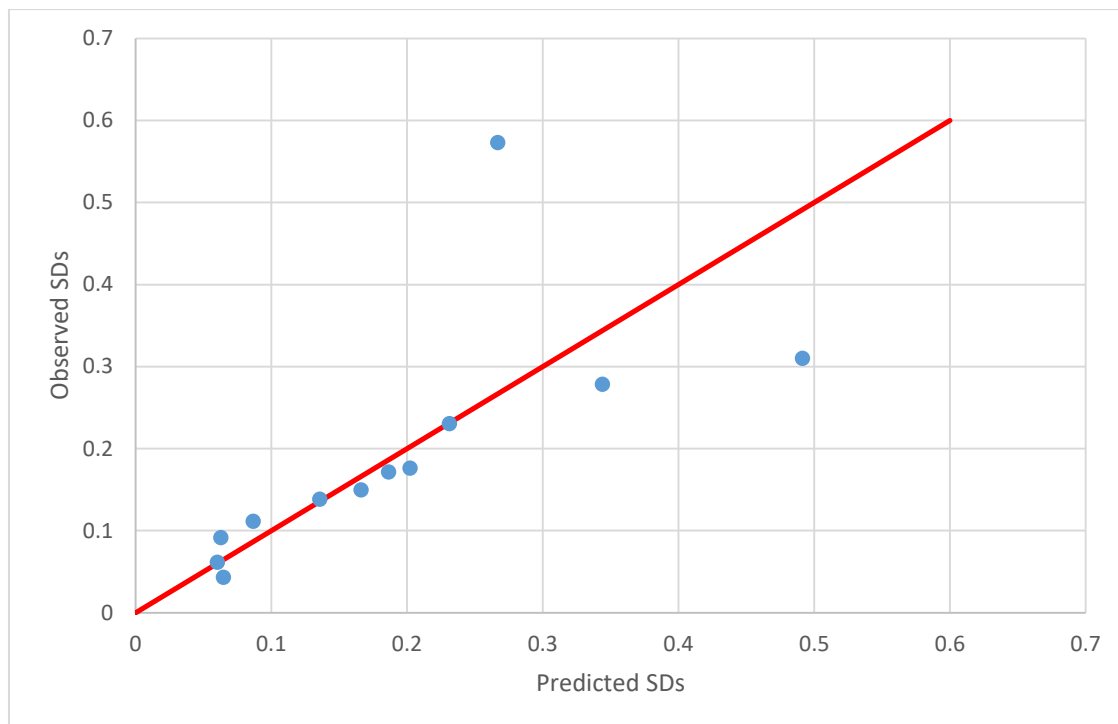
-2 log L: -79.73481

Τα διαγράμματα παρατηρήσεων προβλεπόμενων τιμών που προέκυψαν παρουσιάζονται στα δύο ακόλουθα σχήματα (3.3-α και 3.3-β):



Σχήμα 3.3-α: Μέσες τιμές συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 0.3 mg/kg).

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση



Σχήμα 3.3-β: Τυπικές αποκλίσεις συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 0.3 mg/kg).

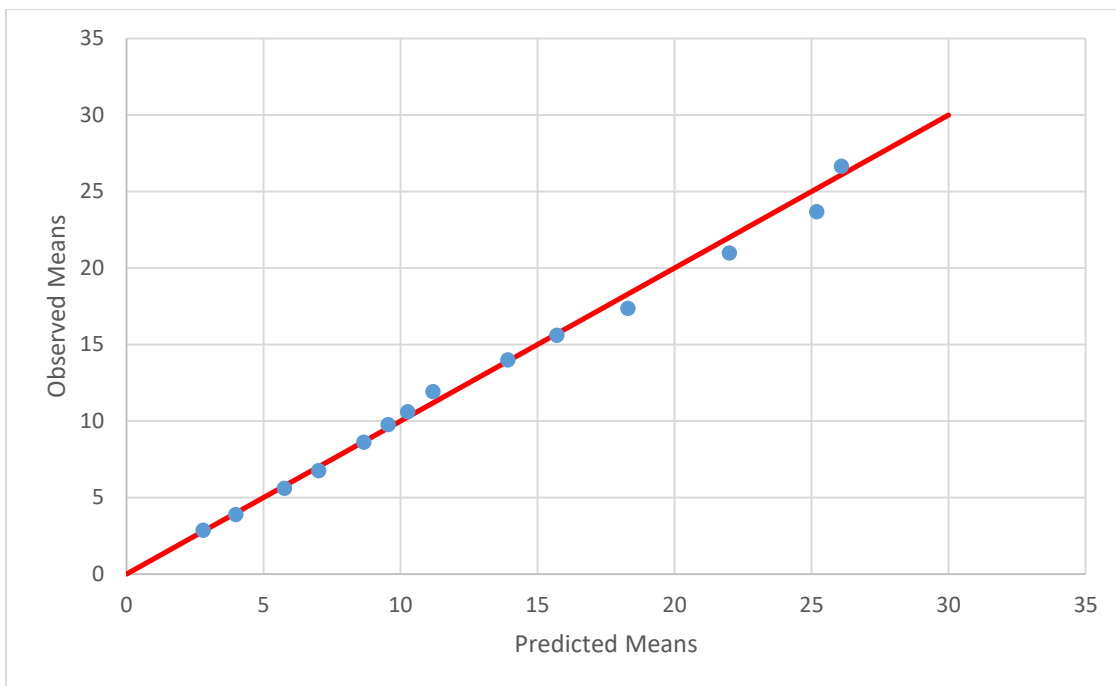
Επίσης, σχετικά με την ομάδα που έλαβε δόση ίση με 1 mg/kg η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα έδωσε τις εξής εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων:

	Estimate	Std. Error
σ_1	0.92970232	0.02276846
σ_2	0.83000027	0.02148652
CL_p	0.00580342	0.00010422
ω_{CLP}	0.18377216	0.00472221
ω_v	0.07954087	0.00510202
$\sigma_{\mu 1}$	0.03624103	0.00688417
$\sigma_{\mu 2}$	0.03049136	0.00769378

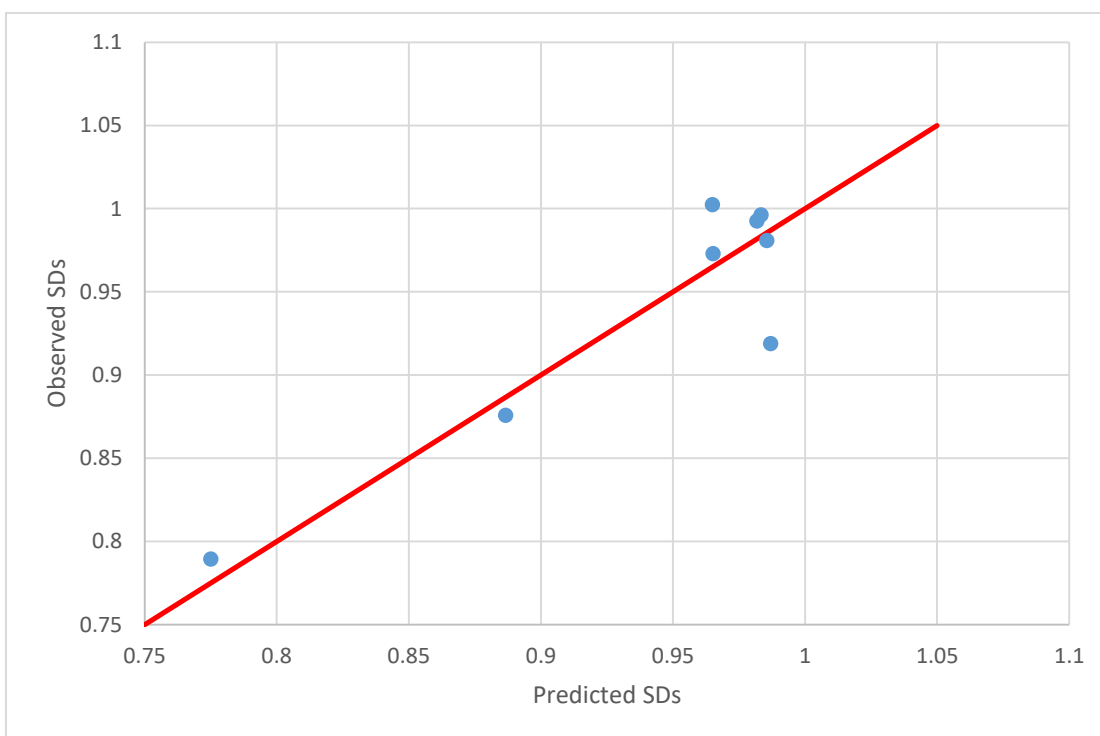
-2 log L: -126.7368

Επιπλέον τα διαγράμματα παρατηρήσεων – προβλεπόμενων τιμών για τη συγκεκριμένη δοσολογική ομάδα φαίνονται στα σχήματα 3.4-α και 3.4-β.

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση



Σχήμα 3.4-α: Μέσες τιμές συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 1 mg/kg).



Σχήμα 3.4-β: Τυπικές αποκλίσεις συγκεντρώσεων στο πλάσμα από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόση = 1 mg/kg).

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

Και στις τρεις προσαρμογές του μοντέλου στα δεδομένα των τριών διαφορετικών ομάδων βλέπουμε πως τα τυπικά σφάλματα στις εκτιμήσεις όλων των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων είναι μικρά και επιπλέον τα διαγράμματα παρατηρήσεων - προβλεπόμενων τιμών υποδεικνύουν την καλή προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα. Η ευθεία δηλαδή $y = x$ (κόκκινη γραμμή) διαπερνά τα σημεία των διαγραμμάτων με τα σημεία αυτά να βρίσκονται διασκορπισμένα και συμμετρικά όσο το δυνατόν εκατέρωθεν της ευθείας κατά μήκος της.

Η μεταβλητότητα που παρατηρείται στις εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μεταξύ των διαφορετικών δοσολογικών ομάδων ενδέχεται είτε να είναι τυχαία λόγω του μικρού αριθμού των ατόμων σε κάθε ομάδα (10 ασθενείς) είτε να οφείλεται σε κάποια συμμεταβλητή που διαφοροποιεί τις ομάδες. Η μεταβλητότητα αυτή είναι εμφανής και κατά την προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα όλων των δοσολογικών ομάδων, εκτός της τελευταίας ομάδας (δόση = 3 mg/kg – μεγαλύτερη χορηγούμενη δόση) στην οποία υπήρχαν μόνο 5 ασθενείς, όπως παρουσιάζεται στη συνέχεια. Σημειώνεται πως ο αριθμός των ασθενών από τους οποίους προέρχονται τα συγκεντρωτικά δεδομένα κατά πάσα πιθανότητα επηρεάζει τις τιμές των συγκεντρωτικών δεδομένων, ιδιαιτέρως των τυπικών αποκλίσεων, και συνεπώς και την απόδοση του μοντέλου εκτίμησης των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων από αυτά.

Κατά την προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα των πέντε ομάδων με τις μικρότερες δόσεις οι εκτιμήσεις των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων που προέκυψαν ήταν οι ακόλουθες:

Coefficients:		
	Estimate	Std. Error
σ_1	0.97293121	0.03372244
σ_2	0.75003604	0.03098838
CL _p	0.00651815	0.00016799
ω_{CL_p}	0.09744996	0.01358609
ω_n	0.10217954	0.01083150
σ_{sigma_1}	0.11165394	0.00957604
σ_{sigma_2}	0.46101901	0.04808277

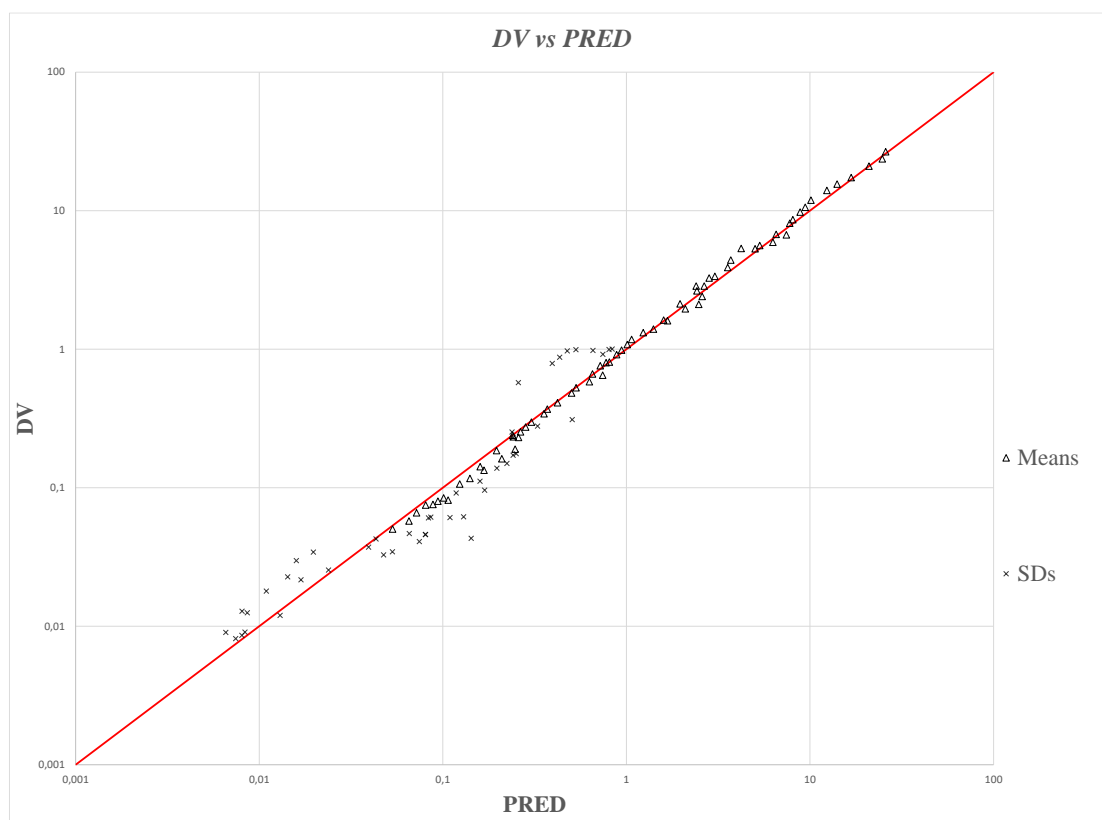
-2 log L: -255.4037

Και πάλι τα τυπικά σφάλματα είναι μικρά, ωστόσο το διάγραμμα των παρατηρήσεων – προβλεπόμενων τιμών που προέκυψε δείχνει πως η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα δεν είναι ικανοποιητική, όπως φαίνεται στο σχήμα 3.5. Στο διάγραμμα απεικονίζονται μαζί οι εξαρτημένες μεταβλητές – Dependent Variables (μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις) ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου – Predicted Values (PRED). Στο διάγραμμα αυτό οι άξονες x και y είναι σε λογαριθμική κλίμακα για καλύτερη οπτική απεικόνιση. Πιο

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα – Συζήτηση

συγκεκριμένα βλέπουμε πως το μοντέλο άλλοτε υπερεκτιμά και άλλοτε υποεκτιμά συστηματικά τις μέσες τιμές και τις τυπικές αποκλίσεις. Δεν υπάρχει δηλαδή μία συμμετρία κατά μήκος της ευθείας $y = x$ για τις μέσες τιμές και για τις τυπικές αποκλίσεις, παρόλο που οι αποστάσεις των σημείων από την ευθεία σε όλο το μήκος της δεν είναι μεγάλες.

Συνεπώς, η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί ξεχωριστά στα συγκεντρωτικά βιβλιογραφικά δεδομένα μίας δοσολογικής ομάδας αλλά όχι στα δεδομένα όλων των ομάδων χωρίς να ληφθεί υπόψη η μεταβλητότητα μεταξύ των ομάδων αυτών. Κατάλληλα προγράμματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία ενός μοντέλου που θα λαμβάνει υπόψη του τη διαφορετική αυτή μεταβλητότητα των ομάδων και που θα μπορεί να ενσωματώσει τα δεδομένα όλων των δόσεων – περισσότερη πληροφορία – για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων της γκεβοκιζουμάμπης.



Σχήμα 3.5: Μέσες τιμές συγκεντρώσεων στο πλάσμα (τρίγωνο) και τυπικές αποκλίσεις (x) από τα βιβλιογραφικά δεδομένα της γκεβοκιζουμάμπης ως προς τις αντίστοιχες προβλέψεις του μοντέλου (Δόσεις = 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.3 mg/kg και 3 mg/kg).

3.4 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, μία μεθοδολογία προτείνεται για την εκτίμηση των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων χρησιμοποιώντας μόνο τις μέσες συγκεντρώσεις του πλάσματος και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις ως προς το χρόνο. Η μεθοδολογία αυτή περιγράφει ικανοποιητικά τα προσομοιωμένα δεδομένα, υποδεικνύοντας ότι η πληροφορία που έχει απωλεσθεί από τη συγκεντροποίηση μπορεί να ανακτηθεί. Η συγκεκριμένη μέθοδος θα μπορούσε να εφαρμοστεί και σε άλλα μονοκλωνικά αντισώματα, πέραν της γκεβοκιζουμάμπης, όταν το φαρμακοκινητικό προφίλ τους περιγράφεται με το mPBPK μοντέλο δεύτερης γενιάς, καθώς και σε οποιοδήποτε ΦΚ μοντέλο ώστε να εκτιμηθούν οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι όταν είναι διαθέσιμο μόνο ένα δημοσιευμένο γράφημα με συγκεντρωτικά δεδομένα. Εκμεταλλευόμενοι όλη τη διαθέσιμη πληροφορία, δηλαδή τις μέσες τιμές και τις τυπικές αποκλίσεις, των γραφημάτων αυτών μπορούμε να κινηθούμε προς μία κατεύθυνση δημιουργίας πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών μοντέλων χρησιμοποιώντας μόνο συγκεντρωτικά δεδομένα ως παρατηρήσεις του μοντέλου μας.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση

- 1) Aitchinson, J. and Brown, J. A. C.. The Lognormal Distribution with special reference to its uses in economics. Cambridge UP. 1957
- 2) Anne-Gaëlle Dosne, Martin Bergstrand and Mats O. Karlsson, A strategy for residual error modeling incorporating stochasticity of variance and distribution shape. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2016; 43: 137–151.
- 3) Baxter L.T., Zhu H., Mackensen D.G. & Jain R.K. Physiologically based pharmacokinetic model for specific and nonspecific monoclonal antibodies and fragments in normal tissues and human tumor xenografts in nude mice. *Cancer Res.* 54, 1517–1528 (1994).
- 4) Bell D.R., Watson P.D. & Renkin E.M. Exclusion of plasma proteins in interstitium of tissues from the dog hind paw. *Am. J. Physiol.* 239, H532–H538 (1980).
- 5) Berdeja J. *et al* Pharmacokinetics and safety of elotuzumab combined with lenalidomide and dexamethasone in patients with multiple myeloma and various levels of renal impairment: results of a phase Ib study. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 16, 129–138 (2016).
- 6) Bergstrand, M., Hooker, A. C., Wallin, J. E., & Karlsson, M. O. (2011). Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models. *The AAPS Journal*, 13(2), 143–151.
- 7) Bonate, P.L., *Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation.* 2006: Springer.
- 8) Boswell C.A., Tesar D.B., Mukhyala K., Theil F.P., Fielder P.J. & Khawli L.A. Effects of charge on antibody tissue distribution and pharmacokinetics. *Bioconj. Chem.* 21, 2153–2163 (2010).
- 9) Brambell F.W., Hemmings W.A. & Morris I.G. A theoretical model of gamma-globulin catabolism. *Nature* 203, 1352–1354 (1964).
- 10) Brenda L Petrella and Matthew P Vincenti. Interleukin-1 β mediates metalloproteinase-dependent renal cell carcinoma tumor cell invasion through the activation of CCAAT enhancer binding protein β . *Cancer Med.* 2012 Aug; 1(1): 17–27.
- 11) Broyden, C. G. (1970), "The convergence of a class of double-rank minimization algorithms", *Journal of the Institute of Mathematics and Its Applications*, 6: 76–90.

Βιβλιογραφία

- 12) Bumbaca D, Boswell CA, Fielder PJ, Khawli LA. Physiochemical and biochemical factors influencing the pharmacokinetics of antibody therapeutics. *AAPS J.* 2012;14:554–558.
- 13) Byrd, R. H., Lu, P., Nocedal, J. and Zhu, C. (1995). A limited memory algorithm for bound constrained optimization. *SIAM Journal on Scientific Computing*, **16**, 1190–1208.
- 14) Cao Y., Balthasar J.P. & Jusko W.J. Second-generation minimal physiologically-based pharmacokinetic model for monoclonal antibodies. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 40, 597–607 (2013).
- 15) Cao Y, Jusko WJ. Applications of minimal physiologically-based pharmacokinetic models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2012;39:711–723.
- 16) Claudia Cavelti-Weder, MD1, Andrea Babians-Brunner, MD1, Cornelia Keller, MD1, Marc A. Stahel, MD2, Malaika Kurz-Levin, MD2, Hany Zayed, PHD3, Alan M. Solinger, MD4, Thomas Mandrup-Poulsen, MD, PHD5, Charles A. Dinarello, MD6 and Marc Y. Donath, MD1. Effects of Gevokizumab on Glycemia and Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2012 Aug; 35(8): 1654-1662.
- 17) Covell D.G., Barbet J., Holton O.D., Black C.D., Parker R.J. & Weinstein J.N. Pharmacokinetics of monoclonal immunoglobulin G1, F(ab')₂, and Fab' in mice. *Cancer Res.* 46, 3969–3978 (1986).
- 18) Davda J.P., Dodds M.G., Gibbs M.A., Wisdom W. & Gibbs J.A model-based meta-analysis of monoclonal antibody pharmacokinetics to guide optimal first-in-human study design. *MAbs* 6, 1094–1102 (2014).
- 19) Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res.* 1993;10:1093–1095.
- 20) Davis J.D. *et al* Monoclonal antibodies: from structure to therapeutic application *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*, 4th Edition. (eds. Crommelin D.J.A., editor; , Sindelar R.D., editor; & Meibohm B., editor.) 143–178 (Springer, New York, NY, 2013).
- 21) Dirks N.L. & Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin. Pharmacokinet.* 49, 633–659 (2010).
- 22) Elena Voronov and Ron N. Apte. IL-1 in Colon Inflammation, Colon Carcinogenesis and Invasiveness of Colon Cancer. *Cancer Microenviron.* 2015 Dec; 8(3): 187–200.
- 23) Everitt, B. S. (2003). *The Cambridge Dictionary of Statistics*. CUP.
- 24) FDA, Guidance for Industry, Population Pharmacokinetics. 1999.

Βιβλιογραφία

- 25) Flessner M.F., Lofthouse J. & Zakaria el-R. In vivo diffusion of immunoglobulin G in muscle: effects of binding, solute exclusion, and lymphatic removal. *Am. J. Physiol.* 273(6 Pt 2), H2783–H2793 (1997).
- 26) Fletcher, R. (1970), "A New Approach to Variable Metric Algorithms", *Computer Journal*, 13 (3): 317–322.
- 27) Garg A, Balthasar JP. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model to predict IgG tissue kinetics in wild-type and FcRn-knockout mice. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2007;34:687–709.
- 28) Garzone PD, Atkinson AJ., Jr In search of physiologically based distribution volume estimates for macromolecules. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92:419–421.
- 29) Gillespie, W.R., *Noncompartmental versus compartmental modelling in clinical*
- 30) *pharmacokinetics*. *Clinical pharmacokinetics*, 1991. 20(4): p. 253-262.
- 31) Glassman P.M., Abuqayyas L. & Balthasar J.P. Assessments of antibody biodistribution. *J. Clin. Pharmacol.* 55Suppl3, S29–S38 (2015).
- 32) Goldfarb, D. (1970), "A Family of Variable Metric Updates Derived by Variational Means", *Mathematics of Computation*, 24 (109): 23–26.
- 33) Hervé F., Ghinea N. & Scherrmann J.M. CNS delivery via adsorptive transcytosis. *AAPS J.* 10, 455–472 (2008).
- 34) Hoffman, P., 1998, *The Man Who Loved Only Numbers: The Story of Paul Erdos and the Search for Mathematical Truth*. New York: Hyperion, pp. 238-239.
- 35) Issafras H, Corbin JA, Goldfine ID, Roell MK. (2014) . Detailed mechanistic analysis of gevokizumab, an allosteric anti-IL-1 β antibody with differential receptor-modulating properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 348 (1): 202-15.
- 36) Josiah T. Ryman and Bernd Meibohm. Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2017 Sep; 6(9): 576–588.
- 37) Kadir F., Ives P., Luitjens A. & van Corven E. Production and purification of recombinant proteins *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*, 4th Edition (eds. Crommelin D.J.A., editor; , Sindelar R.D., editor; & Meibohm B., editor.) 47–67 (Springer, New York, NY, 2013).
- 38) Keizer R.J., Huitema A.D., Schellens J.H. & Beijnen J.H. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin. Pharmacokinet.* 49, 493–507 (2010).
- 39) Khawli L.A. *et al* Charge variants in IgG1: isolation, characterization, in vitro binding properties and pharmacokinetics in rats. *MAbs* 2, 613–624 (2010).
- 40) Kobayashi H. *et al* The pharmacokinetic characteristics of glycolated humanized anti-Tac Fabs are determined by their isoelectric points. *Cancer Res.* 59, 422–430 (1999).

Βιβλιογραφία

- 41) Kontermann R.E. Strategies for extended serum half-life of protein therapeutics. *Curr. Opin. Biotechnol.* 22, 868–876 (2011).
- 42) Lin JH, Lu AY. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development. *Pharmacol Rev.* 1997;49:403–449.
- 43) Lubke, G. H., Campbell, I., McArtor, D., Miller, P., Luningham, J., & van den Berg, S. M. (2017). Assessing Model Selection Uncertainty Using a Bootstrap Approach: An update. *Structural Equation Modeling : A Multidisciplinary Journal*, 24(2), 230–245.
- 44) McKay, M.D.; Beckman, R.J.; Conover, W.J. (May 1979). "A Comparison of Three Methods for Selecting Values of Input Variables in the Analysis of Output from a Computer Code". *Technometrics* Vol. 21, No. 2 (May, 1979), pp. 239-245
- 45) Meibohm B. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of peptide and protein therapeutics. *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications, 4th Edition* (eds. Crommelin D.J.A., editor; , Sindelar R.D., editor; & Meibohm B., editor.) 101–132 (Springer, New York, NY, 2013).
- 46) Metropolis, N. and Ulam, S., 1949, "The Monte Carlo Method." *J. Amer. Stat. Assoc.* 44, 335-341
- 47) Michaela Blech, Daniel Peter, PeterFischer, Margit M.T Bauer, Mathias Hafner, Markus Zeeb, Herbert Nar. One Target—Two Different Binding Modes: Structural Insights into Gevokizumab and Canakinumab Interactions to Interleukin-1 β . *Journal of Molecular Biology*. Volume 425, Issue 1, 9 January 2013, Pages 94-111
- 48) Mould D.R. & Meibohm B. Drug development of therapeutic monoclonal antibodies. *BioDrugs* 30, 275–293 (2016).
- 49) Muir, K. and R. Gomeni, *Non-compartmental analysis*. Pharmacokinetics in Drug
- 50) Development. Volume 1: Clinical Study Design and Analysis, 2004: p. 235-265.
- 51) Mullins R.J. & Bell D.R. Changes in interstitial volume and masses of albumin and IgG in rabbit skin and skeletal muscle after saline volume loading. *Circ. Res.* 51, 305–313 (1982).
- 52) Nestorov, I., *Whole body pharmacokinetic models*. Clinical pharmacokinetics, 2003.
- 53) 42(10): p. 883-908.
- 54) Richter WF, Grimm HP, Theil FP. Potential errors in the volume of distribution estimation of therapeutic proteins composed of differently cleared components. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2011;38:581–593.
- 55) Roell MK, Issafras H, Bauer RJ, Michelson KS, Mendoza N, Vanegas SI, Gross LM, Larsen PD, Bedinger DH, Bohmann DJ et al. (2010). Kinetic approach to pathway

Βιβλιογραφία

- attenuation using XOMA 052, a regulatory therapeutic antibody that modulates interleukin-1beta activity. *J. Biol. Chem.*, 285 (27): 20607-14.
- 56) Sarin H. Physiologic upper limits of pore size of different blood capillary types and another perspective on the dual pore theory of microvascular permeability. *J Angiogenes Res.* 2010;2:14.
- 57) Schmidt MM, Wittrup KD. A modeling analysis of the effects of molecular size and binding affinity on tumor targeting. *Mol Cancer Ther.* 2009;8:2861–2871.
- 58) Shah D.K. & Betts A.M. Towards a platform PBPK model to characterize the plasma and tissue disposition of monoclonal antibodies in preclinical species and human. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 39, 67–86 (2012).
- 59) Shanno, D. F. (July 1970), "Conditioning of quasi-Newton methods for function minimization", *Mathematics of Computation*, 24 (111): 647–656.
- 60) Shenglu Yin, Chao Lan, Hui Pei, and Zhiqiang Zhu. Expression of interleukin 1 β in gastric cancer tissue and its effects on gastric cancer. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 31–35.
- 61) Singh, K., & Xie, M. (n.d.). *Bootstrap: A Statistical Method*, 14.
- 62) Stucker O, Pons-Himbert C, Laemmel E. Towards a better understanding of lymph circulation. *Phlebolympology.* 2008;15:31–36.
- 63) Wagshul ME, Johnston M. The brain and the lymphatic system. *Immunology of the Lymphatic System.* 2013:143–164.
- 64) Waldmann T.A., Strober W. and Mogielnicki R.P. The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *J. Clin. Invest.* 51, 2162–2174 (1972).
- 65) Waldmann T.A. & Strober W. Metabolism of immunoglobulins. *Prog. Allergy* 13, 1–110 (1969).
- 66) Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;84:548–558.
- 67) Warren MF. The lymphatic system. *Annul Rev Physiol.* 1940;2:109–124.
- 68) Wiig H, Kaysen GA, al-Bander HA, De Carlo M, Sibley L, Renkin EM. Interstitial exclusion of IgG in rat tissues estimated by continuous infusion. *Am J Physiol.* 1994;266:H212–219.
- 69) Wiig H., Kolmannskog O., Tenstad O. & Bert J.L. Effect of charge on interstitial distribution of albumin in rat dermis in vitro. *J. Physiol.* 550(Pt 2), 505–514 (2003).
- 70) Wiig H, Tenstad O. Interstitial exclusion of positively and negatively charged IgG in rat skin and muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H1505–1512.

Βιβλιογραφία

- 71) Winter, B. C. M. de, Gelder, T. van, Glander, P., Cattaneo, D., Tedesco-Silva, H., Neumann, I., ... Mathot, R. A. A. (2008). Population Pharmacokinetics of Mycophenolic Acid. *Clinical Pharmacokinetics*, 47(12), 827–838.
- 72) Wong H. & Chow T.W. Physiologically based pharmacokinetic modeling of therapeutic proteins. *J. Pharm. Sci.*(2017).
- 73) Yanguang Cao and William J Jusko. Survey of monoclonal antibody disposition in man utilizing a minimal physiologically-based pharmacokinetic model. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2014 Dec; 41(6): 571–580.
- 74) Zheng Y. *et al* Minipig as a potential translatable model for monoclonal antibody pharmacokinetics after intravenous and subcutaneous administration. *MAbs* 4, 243–255 (2012).

Ελληνική

- 1) Αριστείδης Δοκουμετζίδης, (2017-18) ‘Μη γραμμική παλινδρόμηση’, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Βιομηχανική Φαρμακευτική
- 2) Αριστείδης Δοκουμετζίδης, (2017-18) ‘Πληθυσμιακή μέθοδος’, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Βιομηχανική Φαρμακευτική, Αθήνα.
- 3) Κεχαγιά Ειρήνη-Αριάδνη, «ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ VALACICLOVIR ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ», Μ.Δ.Ε. «Βιομηχανική Φαρμακευτική», 2014
- 4) Μαχαίρας, Π. and Μ. Συμλλίδου, *ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ*. 2007, Αθήνα.
- 5) Συμλλίδου, (2017-18) «Παλινδρόμηση και Συσχέτιση (διαφάνειες)», Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Βιομηχανική Φαρμακευτική, Αθήνα.

Ιστοσελίδες

- 1) <https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>
- 2) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03798626>
- 3) https://cran.r-project.org/web/packages/available_packages_by_name.html
- 4) <http://www.math.wm.edu/~leemis/chart/UDR/PDFs/Uniform.pdf>
- 5) Wittwer, J.W., "Monte Carlo Simulation Basics" From *Vertex42.com*, June 1, 2004, <https://www.vertex42.com/ExcelArticles/mc/MonteCarloSimulation.html>

Παράρτημα

Παράρτημα-Α: Συνάρτηση που παίρνει ως input τις παραμέτρους Δόση ($D_{_}$), τους συντελεστές ανάκλασης σ_1 ($s1_{_}$) και σ_2 ($s2_{_}$), την κάθαρση από το πλάσμα ($CLp_{_}$), τους όγκους πλάσματος ($Vp_{_}$), λέμφου ($VL_{_}$), των ιστών “tight” ($Vt_{_}$), “leaky” ($Vl_{_}$) καθώς και το χρόνο ($t_{_}$) και υπολογίζει (output) τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα τις διάφορες χρονικές στιγμές ($out[,2]/Vp_{_}$) με βάση τις διαφορικές εξισώσεις του mPBPK μοντέλου δεύτερης γενιάς.

```
PBPK_PK<-function(D_,s1_,s2_,CLp_,Vp_,VL_,Vt_,Vl_,t_){
  parameters <- c(s1=s1_,s2=s2_,CLp=CLp_,Vp=Vp_,VL=VL_,Vt=Vt_,Vl=Vl_)
  state <- c(X_1 = D_, X_2 = 0, X_3 = 0, X_4=0)
  Concentration<-function(t, state, parameters) {
    with(as.list(c(state, parameters)),{
      dX_1= 0 - X_1/Vp*(CLp+(0.33*L)*(1-s1)+ (0.67*L)*(1-s2))+ X_4*(L/VL)
      dX_2= X_1/Vp*(0.33*L)*(1-s1) - X_2/(Vt)*(0.33*L)*(1-sL)
      dX_3= X_1/Vp*(0.67*L)*(1-s2) - X_3/(Vl)*(0.67*L)*(1-sL)
      dX_4= X_2/(Vt)*(0.33*L)*(1-sL) + X_3/(Vl)*(0.67*L)*(1-sL) - X_4*(L/VL)
      list(c(dX_1, dX_2, dX_3,dX_4))
    })
  }
  out <- ode(y = state, times = t_, func = Concentration, parms = parameters)
  out[,2]/Vp_
}
```


Παράρτημα

Παράρτημα-B: Συνάρτηση που δέχεται ως input τις παραμέτρους συντελεστές ανάκλασης σ_1 ($s1_$) και σ_2 ($s2_$), την κάθαρση από το πλάσμα ($CLp_$), τους όγκους πλάσματος ($Vp_$), λέμφου ($VL_$), των ιστών “tight” ($Vt_$), “leaky” ($Vl_$), τους όρους δι-ατομικής μεταβλητότητας ω_{CLp} ($CV_CLp_$) και ω_v ($CV_$), την υπολειπόμενη μεταβλητότητα (rv), τον αριθμό των ασθενών (N) καθώς και το χρόνο (t) και υπολογίζει (output) τις μέσες τιμές των συγκεντρώσεων στο πλάσμα (means) και τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις (sds) στις διάφορες χρονικές στιγμές. Η συνάρτηση στηρίζεται στη συνάρτηση του παρατήματος-A.

```
tel_mesaysdkk<-function(s1_,s2_,CLp_,Vp_,VL_,Vt_,Vl_,CV_CLp_,CV_,rv,N,t){
  source("gevok1_new.R")

  e1 = rnorm(N1,log(CLp_),CV_CLp_)

  CLear_p = exp(e1)

  f1 = rnorm(N1,log(Vp_),CV_)

  Vp = exp(f1)

  g1 = rnorm(N1,log(VL_),CV_)

  VL = exp(g1)

  h1 = rnorm(N1,log(Vt_),CV_)

  Vt = exp(h1)

  j1 = rnorm(N1,log(Vl_),CV_)

  Vl = exp(j1)

  y1<-matrix(0,length(t),N)

  y2<-rnorm(N*(length(t)),0,rv)

  for (j in 1:N){
    y1[,j]<- PBPk_PK(D,s1_,s2_,CLear_p[j],Vp[j],VL[j],Vt[j],Vl[j],t)
  }

  y<-matrix(0,length(t),N)

  y<-y1*exp(y2)

  y_neo = matrix(0,length(t)-1,N)

  for(k in 1:(length(t)-1)){
```

Παράρτημα

```
y_neo[k,] = y[k+1,]  
}  
means<-rowMeans(y_neo)  
sds<-apply(y_neo,1,sd)  
list1<-list(meansy=means,sdy=sds)  
return(list1)  
}
```

Παράρτημα-Γ: Μοντέλο για την εκτίμηση των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες από συγκεντρωτικά δεδομένα συγκέντρωσης-χρόνου.

```
D = 7  
L = 2.9/24  
sL = 0.2  
t = c(0,4,8,24,48,72,96,168,216,264,336,504,672,1008,1344)  
t3 = c(4,8,24,48,72,96,168,216,264,336,504,672,1008,1344)  
source("gevok1_new.R")  
N = 60 # Latin Hyprecube Δειγματοληψία  
library("lhs")  
X <- randomLHS(N, 2)  
Y = matrix(0, nrow=N, ncol=2)  
Y[,1] <- qnorm(X[,1], mean=0, sd=1)  
Y[,2] <- qnorm(X[,2], mean=0, sd=1)  
e<-Y[,1]  
f<-Y[,2]
```

Παράρτημα

```
require(bbmle)
library(EnvStats)
library("deSolve")
N1 = 24 # Απόκτηση μέσω των τιμών και τυπικών αποκλίσεων από τις προσομοιωμένες
        φαρμακοκινητικές παραμέτρους 24 ασθενών, που θα χρησιμοποιηθούν στη
        συνέχεια ως παρατηρήσεις του μοντέλου, αφού πρώτα λογαριθμοποιηθούν.
s1_ = 0.931
s2_ = 0.837
CLp_ = 0.00668
Vp_ = 2.6
VL_ = 5.2
Vt_ = 8.112
Vl_ = 4.368
CV_CLp_ = 0.2
CV_ = 0.2
rv = 0.05
source("gevok1_new.R")
e1 = rnorm(N1,log(CLp_),CV_CLp_)
CLear_p = exp(e1)
f1 = rnorm(N1,log(Vp_),CV_)
Vp = exp(f1)
f1_ton = (f1-log(Vp_))/CV_
VL = exp(f1_ton*CV_)*VL_
Vt = exp(f1_ton*CV_)*Vt_
Vl = exp(f1_ton*CV_)*Vl_
y1<-matrix(0,length(t),N1)
y2<-rnorm(N1*(length(t)),0,rv)
```

Παράρτημα

```
for (j in 1:N1){  
  y1[,j]<- PBPK_PK(D,s1_,s2_,CLear_p[j],Vp[j],VL[j],Vt[j],Vl[j],t)  
}  
y<-matrix(0,length(t),N1)  
y<-y1*exp(y2)  
y_neo = matrix(0,length(t)-1,N1)  
for(k in 1:(length(t)-1)){  
  y_neo[k,] = y[k+1,]  
}  
y1_data_arx = rowMeans(y_neo)  
y1_data = log(y1_data_arx)  
y2_data_arx = apply(y_neo,1,sd)  
y2_data = log(y2_data_arx)
```

Στη συνέχεια γίνεται εκτίμηση των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας. Η συνάρτηση `glm2.mle` δέχεται ως input τις παραμέτρους: συντελεστές ανάκλασης σ_1 (`s1_`) και σ_2 (`s2_`), την κάθαρση από το πλάσμα (`CLp_`), τους όρους δι-ατομικής μεταβλητότητας ω_{CLp} (`CV_CLp_`) και ω_v (`CV_`) και τους δύο εκθετικούς όρους υπολειπόμενης μεταβλητότητας `sigma1a_` και `sigma2a_`, έναν για τις μέσες τιμές και έναν για τις τυπικές αποκλίσεις αντίστοιχα, και υπολογίζει (output) την αντικειμενική συνάρτηση (`sum_log_like`) με ταυτόχρονη ανάλυση των δεδομένων.

```
glm2.mle=function(s1_,s2_,CLp_,CV_CLp_,CV_,sigma1a_,sigma2a_){  
  CLearp = exp(e*CV_CLp_)*CLp_  
  Vp = exp(f*CV_)*2.6  
  VL = exp(f*CV_)*5.2  
  Vt = exp(f*CV_)*8.112  
  Vl = exp(f*CV_)*4.368  
  ya<-matrix(0,length(t),N)
```

Παράρτημα

```
for (q in 1:N){
  ya[,q]<- mPBPK_PK(s1_,s2_,CLearp[q],Vp[q],VL[q],Vt[q],Vl[q],t)
}
y_a = matrix(0,length(t)-1,N)
for(l in 1:(length(t)-1)){
  y_a[l,] = ya[l+1,]
}
Y.pred_1_arx = rowMeans(y_a)
Y.pred_1 = log(Y.pred_1_arx)
sd.pred_1_arx = apply(y_a,1,sd)
sd.pred_1 = log(sd.pred_1_arx)
sum_log_like = 0
minus_log_like_1 = numeric(length(Y.pred_1))
Var_Y = numeric(length(Y.pred_1))
for(b in 1:length(Y.pred_1)){
  Var_Y[b] = (sigma1a_)^2
  minus_log_like_1[b] = 0.5*(log(Var_Y[b])) + ((y1_data[b]-
Y.pred_1[b])^2/(2*Var_Y[b]))
  if(is.finite(minus_log_like_1[b])) sum_log_like = sum_log_like + minus_log_like_1[b]
}
minus_log_like_2 = numeric(length(sd.pred_1))
Var_SD = numeric(length(sd.pred_1))
for(i in 1:length(sd.pred_1)){
  Var_SD[i] = (sigma2a_)^2
  minus_log_like_2[i] = 0.5*(log(Var_SD[i])) + ((y2_data[i]-
sd.pred_1[i])^2/(2*Var_SD[i]))
  if(is.finite(minus_log_like_2[i])) sum_log_like = sum_log_like + minus_log_like_2[i]
}
}
```

Παράρτημα

```
return(sum_log_like)
}

# Αρχικές τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων που θα χρησιμοποιηθούν στον
επαναληπτικό αλγόριθμο

starta=list(s1_=0.8,s2_=0.7,CLp_=0.006,CV_CLp_=0.15,CV_=0.25,sigma1a_=0.05,
           sigma2a_=0.05)

# Μέθοδος της μεγίστης πιθανοφάνειας για την εύρεση των φαρμακοκινητικών παραμέτρων

m2=mle2(minuslogl = glm2.mle,start = starta, skip.hessian = TRUE, trace=TRUE,
        # Ο επαναληπτικός αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο L-BFGS-B
        method="L-BFGS-B",
        # Ανώτερα όρια για τις τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων
        upper=c(s1_=1,s2_=1,CLp_=0.1,CV_CLp_=1,CV_=1,sigma1a_=1,sigma2a_=1),
        # Κατώτερα όρια για τις τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων
        lower=c(s1_=0,s2_=0,CLp_=0.00001,CV_CLp_=0.01,CV_=0.01,
              sigma1a_=1e-6,sigma2a_=1e-6),
        # Η εντολή parscale=abs(unlist(starta)) εξασφαλίζει την εύρεση του ολικού ελαχίστου
        της αντικειμενικής συνάρτησης
        control = list(maxit=5000,trace=TRUE,parscale=abs(unlist(starta))))

summary(m2)

print(summary(m2))
```

Παράρτημα

Παράρτημα-Δ: Μελέτη προσομοίωσης για την αξιολόγηση της μεθόδου εκτίμησης των πληθυσμιακών ΦΚ παραμέτρων μαζί με τις δι-ατομικές μεταβλητότητες για τον υπολογισμό των μεγεθών %RBIAS, %RMSE και %RAE

```
D = 7
```

```
L = 2.9/24
```

```
sL = 0.2
```

```
t = c(0,4,8,24,48,72,96,168,216,264,336,504,672,1008,1344)
```

```
t3 = c(4,8,24,48,72,96,168,216,264,336,504,672,1008,1344)
```

```
source("gevok1.R")
```

```
N = 60      # Latin Hyprecube Δειγματοληψία
```

```
library("lhs")
```

```
X <- randomLHS(N, 2)
```

```
Y = matrix(0, nrow=N, ncol=2)
```

```
Y[,1] <- qnorm(X[,1], mean=0, sd=1)
```

```
Y[,2] <- qnorm(X[,2], mean=0, sd=1)
```

```
e<-Y[,1]
```

```
f<-Y[,2]
```

```
library(foreach)      # Παράλληλος Προγραμματισμός
```

```
library(doSNOW)      # Παράλληλος Προγραμματισμός
```

```
cl = makeCluster(16) # Εκμετάλλευση 16 Πυρήνων του Κεντρικού Υπολογιστή
```

```
registerDoSNOW(cl)
```

```
iterations = 1000    # 1000 προσομοιωμένα σετ δεδομένων
```

```
neoBIAS_s1 = numeric(iterations)
```

```
neoBIAS_s2 = numeric(iterations)
```

```
neoBIAS_CL = numeric(iterations)
```

```
neoBIAS_CVCL = numeric(iterations)
```

```
neoBIAS_CV = numeric(iterations)
```

```
neoMSE_s1 = numeric(iterations)
```

Παράρτημα

```
neoMSE_s2 = numeric(iterations)
neoMSE_CL = numeric(iterations)
neoMSE_CVCL = numeric(iterations)
neoMSE_CV = numeric(iterations)
neoAE_s1 = numeric(iterations)
neoAE_s2 = numeric(iterations)
neoAE_CL = numeric(iterations)
neoAE_CVCL = numeric(iterations)
neoAE_CV = numeric(iterations)

matrix = foreach(m = 1:iterations) %dopar% {
  require(bbmle)
  library(EnvStats)
  library("deSolve")
  N1 = 24 #Στις δύο πρώτες μελέτες προσομοίωσης χρησιμοποιήθηκαν 24 ασθενείς για την
         απόκτηση των συγκεντρωτικών δεδομένων του μοντέλου, ενώ στην τρίτη μελέτη
         προσομοίωσης χρησιμοποιήθηκαν 10 ασθενείς.
  s1_ = 0.931
  s2_ = 0.837
  CLp_ = 0.00668
  Vp_ = 2.6
  VL_ = 5.2
  Vt_ = 8.112
  VI_ = 4.368
  CV_CLp_ = 0.2
  CV_ = 0.2
  rv = 0.05 # Στην πρώτη και την τρίτη μελέτη προσομοίωσης χρησιμοποιήθηκε
           υπολειπόμενη μεταβλητότητα rv = 5%, ενώ στη δεύτερη μελέτη προσομοίωσης
           χρησιμοποιήθηκε υπολειπόμενη μεταβλητότητα rv = 10%.
  source("gevok1.R")
  e1 = rnorm(N1,log(CLp_),CV_CLp_)
```


Παράρτημα

```
CLear_p = exp(e1)
thitaT_CL = geoMean(CLear_p)
print(thitaT_CL)
thitaT_CVCL = sd(e1)
print(thitaT_CVCL)
f1 = rnorm(N1,log(Vp_),CV_)
Vp = exp(f1)
thitaT_CV = sd(f1)
print(thitaT_CV)
f1_ton = (f1-log(Vp_))/CV_
VL = exp(f1_ton*CV_)*VL_
Vt = exp(f1_ton*CV_)*Vt_
Vl = exp(f1_ton*CV_)*Vl_
y1<-matrix(0,length(t),N1)
y2<-rnorm(N1*(length(t)),0,rv)
for (j in 1:N1){
  y1[,j]<- mPBPK_PK(s1_,s2_,CLear_p[j],Vp[j],VL[j],Vt[j],Vl[j],t)
}
y<-matrix(0,length(t),N1)
y<-y1*exp(y2)
y_neo = matrix(0,length(t)-1,N1)
for(k in 1:(length(t)-1)){
  y_neo[k,] = y[k+1,]
}
y1_data_arx = rowMeans(y_neo)
y1_data = log(y1_data_arx)
y2_data_arx = apply(y_neo,1,sd)
y2_data = log(y2_data_arx)

glm2.mle=function(s1_,s2_,CLp_,CV_CLp_,CV_,sigma1a_,sigma2a_){
  CLearp = exp(e*CV_CLp_)*CLp_
```

Παράρτημα

```
Vp = exp(f*CV_)*2.6
VL = exp(f*CV_)*5.2
Vt = exp(f*CV_)*8.112
Vl = exp(f*CV_)*4.368
ya<-matrix(0,length(t),N)
for (q in 1:N){
  ya[,q]<- mPBPK_PK(s1_,s2_,CLearp[q],Vp[q],VL[q],Vt[q],Vl[q],t)
}
y_a = matrix(0,length(t)-1,N)
for(l in 1:(length(t)-1)){
  y_a[l,] = ya[l+1,]
}
Y.pred_1_arx = rowMeans(y_a)
Y.pred_1 = log(Y.pred_1_arx)
sd.pred_1_arx = apply(y_a,1,sd)
sd.pred_1 = log(sd.pred_1_arx)
sum_log_like = 0
minus_log_like_1 = numeric(length(Y.pred_1))
Var_Y = numeric(length(Y.pred_1))
for(b in 1:length(Y.pred_1)){
  Var_Y[b] = (sigma1a_)^2
  minus_log_like_1[b] = 0.5*(log(Var_Y[b])) + ((y1_data[b]-Y.pred_1[b])^2/(2*Var_Y[b]))
  if(is.finite(minus_log_like_1[b])) sum_log_like = sum_log_like + minus_log_like_1[b]
}
minus_log_like_2 = numeric(length(sd.pred_1))
Var_SD = numeric(length(sd.pred_1))
for(i in 1:length(sd.pred_1)){
  Var_SD[i] = (sigma2a_)^2
  minus_log_like_2[i] = 0.5*(log(Var_SD[i])) + ((y2_data[i]-sd.pred_1[i])^2/(2*Var_SD[i]))
  if(is.finite(minus_log_like_2[i])) sum_log_like = sum_log_like + minus_log_like_2[i]
}
```

Παράρτημα

```
return(sum_log_like)
}

starta=list(s1_=0.8,s2_=0.7,CLp_=0.006,CV_CLp_=0.15,CV_=0.25,sigma1a_=0.05,
           sigma2a_=0.05)
m2=mle2(minuslogl = glm2.mle,start = starta, skip.hessian = TRUE, trace=TRUE,
        method="L-BFGS-B",
        upper=c(s1_=1,s2_=1,CLp_=0.1,CV_CLp_=1,CV_=1,sigma1a_=1,sigma2a_=1),
        lower=c(s1_=0.1,s2_=0.1,CLp_=0.00001,CV_CLp_=0.01,CV_=0.01,
               sigma1a_=1e-6,sigma2a_=1e-6),
        control = list(maxit=5000,trace=TRUE,parscale=abs(unlist(starta))))

summary(m2)
print(summary(m2))

neoBIAS_s1[m] = (coef(m2)[[1]]-s1_)/s1_      # υπολογισμός των μεγεθών %RBIAS
neoBIAS_s2[m] =(coef(m2)[[2]]-s2_)/s2_
neoBIAS_CL[m] = (coef(m2)[[3]]-thitaT_CL)/thitaT_CL
neoBIAS_CVCL[m] = (coef(m2)[[4]]-thitaT_CVCL)/thitaT_CVCL
neoBIAS_CV[m] = (coef(m2)[[5]]-thitaT_CV)/thitaT_CV

neoMSE_s1[m] = ((coef(m2)[[1]]-s1_)/s1_)^2  # υπολογισμός των μεγεθών %RMSE
neoMSE_s2[m] = ((coef(m2)[[2]]-s2_)/s2_)^2
neoMSE_CL[m] = ((coef(m2)[[3]]-thitaT_CL)/thitaT_CL)^2
neoMSE_CVCL[m] = ((coef(m2)[[4]]-thitaT_CVCL)/thitaT_CVCL)^2
neoMSE_CV[m] = ((coef(m2)[[5]]-thitaT_CV)/thitaT_CV)^2

neoAE_s1[m] = abs((coef(m2)[[1]]-s1_)/s1_  # υπολογισμός των μεγεθών %RAE
neoAE_s2[m] = abs((coef(m2)[[2]]-s2_)/s2_
neoAE_CL[m] = abs((coef(m2)[[3]]-thitaT_CL)/thitaT_CL
```

Παράρτημα

$neoAE_CVCL[m] = \text{abs}(\text{coef}(m2)[[4]] - \text{thitaT_CVCL}) / \text{thitaT_CVCL}$

$neoAE_CV[m] = \text{abs}(\text{coef}(m2)[[5]] - \text{thitaT_CV}) / \text{thitaT_CV}$

```
c(neoBIAS_s1[m],neoBIAS_s2[m],neoBIAS_CL[m],neoBIAS_CVCL[m],neoBIAS_CV[m],  
  neoMSE_s1[m],neoMSE_s2[m],neoMSE_CL[m],neoMSE_CVCL[m],neoMSE_CV[m],  
  neoAE_s1[m],neoAE_s2[m],neoAE_CL[m],neoAE_CVCL[m],neoAE_CV[m])  
}
```

```
stopCluster(cl)
```

BIAS_s1 = 0

BIAS_s2 = 0

BIAS_CL = 0

BIAS_CVCL = 0

BIAS_CV = 0

MSE_s1 = 0

MSE_s2 = 0

MSE_CL = 0

MSE_CVCL = 0

MSE_CV = 0

AE_s1 = 0

AE_s2 = 0

AE_CL = 0

AE_CVCL = 0

AE_CV = 0

```
for (i in 1:iterations){
```

```
  BIAS_s1 = BIAS_s1 + matrix[[i]][1]
```

```
  BIAS_s2 = BIAS_s2 + matrix[[i]][2]
```

Παράρτημα

BIAS_CL = BIAS_CL + matrix[[i]][3]

BIAS_CVCL = BIAS_CVCL + matrix[[i]][4]

BIAS_CV = BIAS_CV + matrix[[i]][5]

MSE_s1 = MSE_s1 + matrix[[i]][6]

MSE_s2 = MSE_s2 + matrix[[i]][7]

MSE_CL = MSE_CL + matrix[[i]][8]

MSE_CVCL = MSE_CVCL + matrix[[i]][9]

MSE_CV = MSE_CV + matrix[[i]][10]

AE_s1 = AE_s1 + matrix[[i]][11]

AE_s2 = AE_s2 + matrix[[i]][12]

AE_CL = AE_CL + matrix[[i]][13]

AE_CVCL = AE_CVCL + matrix[[i]][14]

AE_CV = AE_CV + matrix[[i]][15]

}

RBIAS_s1 = (100/iterations)*BIAS_s1 # υπολογισμός των μεγεθών %RBIAS

print(RBIAS_s1)

RBIAS_s2 = (100/iterations)*BIAS_s2

print(RBIAS_s2)

RBIAS_CL = (100/iterations)*BIAS_CL

print(RBIAS_CL)

RBIAS_CVCL = (100/iterations)*BIAS_CVCL

print(RBIAS_CVCL)

RBIAS_CV = (100/iterations)*BIAS_CV

print(RBIAS_CV)

RMSE_s1 = 100*sqrt((1/iterations)*MSE_s1) # υπολογισμός των μεγεθών %RMSE

print(RMSE_s1)

RMSE_s2 = 100*sqrt((1/iterations)*MSE_s2)

Παράρτημα

```
print(RMSE_s2)
RMSE_CL = 100*sqrt((1/iterations)*MSE_CL)
print(RMSE_CL)
RMSE_CVCL = 100*sqrt((1/iterations)*MSE_CVCL)
print(RMSE_CVCL)
RMSE_CV = 100*sqrt((1/iterations)*MSE_CV)
print(RMSE_CV)

RAE_s1 = (100/iterations)*AE_s1           # υπολογισμός των μεγεθών %RAE
print(RAE_s1)
RAE_s2 = (100/iterations)*AE_s2
print(RAE_s2)
RAE_CL = (100/iterations)*AE_CL
print(RAE_CL)
RAE_CVCL = (100/iterations)*AE_CVCL
print(RAE_CVCL)
RAE_CV = (100/iterations)*AE_CV
print(RAE_CV)
```