



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

«ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ
ΤΡΙΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΤΑΚΡΟΛΙΜΟΥΣ»

Ειρήνη Τσότσου
Φαρμακοποιός

Μ.Δ.Ε «Βιομηχανική Φαρμακευτική»
Αθήνα 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

Βαλσαμή Γεωργία, Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας το μεταπτυχιακό θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κο Αριστείδη Δοκουμετζίδα, για την συνεργασία που είχαμε, την καθοδήγηση που μου παρείχε και την ευκαιρία που μου έδωσε να επεκτείνω τις γνώσεις μου. Επιπλέον, τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτωντας μου αυτό το θέμα και την ελευθερία που μου έδωσε κατά την ενασχόληση μου με αυτό.

Επίσης, ευχαριστώ την καθηγήτρια κα Βαλσαμή και την επίκουρη καθηγήτρια κα Βερτζώνη που με τιμούν με την συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή.

Θα ήταν παράλειψη μου να μην ευχαριστήσω την κα Τσακίριδου Γεωργία και την κα Καλαντζή Λήδα για την παροχή των δεδομένων από την κλινική μελέτη που πραγματοποίησε η Pharmathen.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τους φίλους μου και όλους όσους με στήριξαν κατά την εκπόνηση της εργασίας, καθώς χωρίς αυτούς το αποτέλεσμα θα ήταν διαφορετικό.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
Σκοπός	7
Περίληψη	8-10
1. Εισαγωγή	
1.1 Τακρόλιμους	12-20
a) Απορρόφηση	13-14
b) Μεταβολισμός	14-15
c) Απέκκριση	15-16
d) Κατανομή	16
e) Παράγοντες που επηρεάζουν επίπεδα τακρόλιμους	16-17
f) Ανεπιθύμητες Ενέργειες	17
g) Διαθέσιμες μορφές κυκλοφορίας	18
h) Πληροφορίες για p.os σκευάσματα	18
i) Σύγκριση από βιβλιογραφία	18-19
1.2 Φαρμακομετρία	20-23
1.3 Monolix	23-26
2. Μέθοδοι	
2.1 Δεδομένα	28-32
2.2 Αρχικές τιμές	33
2.3 Δομικό μοντέλο	33-35
2.4 Μοντέλο σφάλματος	35-37
2.5 Διατομική μεταβλητότητα	37-38
2.6 Ενδοατομική μεταβλητότητα	38
2.7 Συσχετίσεις	38-39
2.8 Συμμεταβλητές	39-40
2.9 Κριτήρια Αξιολόγησης	40-44

3. Αποτελέσματα	
3.1 Τεστ Formulation	46-47
3.2 Advagraf	78-100
3.3 Envarsus	101-119
4. Συμπεράσματα-Συζήτηση	120-126
5. Βιβλιογραφία	127-132

Σκοπός

Σκοπός της παρακάτω εργασίας είναι η ανάπτυξη πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών μοντέλων για τα υπό μελέτη σκευάσματα της τακρόλιμους. Μέσω των πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών μοντέλων χαρακτηρίζεται η απόρροφηση, κατανομή και απομάκρυνση των υπο μελέτη προϊόντων με κατάλληλα μαθηματικά μοντέλα. Τα σκευάσματα αυτά είναι τρία σε αριθμό, παρατεταμένης αποδέσμευσης, με τα δυο να κυκλοφορούν στο εμπόριο και το ένα να είναι αποτέλεσμα της διδακτορικής διατριβής της κας Τσακιρίδου που πραγματοποιήθηκε στην Pharmathen. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση του πως η διαφορετική μορφοποίηση ενός σκευάσματος ίδιας δραστικής αντανάκλαται στον πληθυσμό, και αν η διαφορά αυτή είναι ικανή να εντοπιστεί κατά την μοντελοποίηση των δεδομένων. Χαρακτηρίζεται η διατομική μεταβλητότητα των παραμέτρων και γίνεται εύρεση συσχετίσεων και συμμεταβλητών. Τέλος, πραγματοποιείται σύγκριση των αποτελεσμάτων για να φανεί αν πράγματι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των σκευασμάτων και να συγκριθούν με τις υπάρχουσες τιμές από την βιβλιογραφία.

Περίληψη

Σε δεδομένα από κλινική μελέτη της Pharmathen, έγινε επεξεργασία και ανάπτυξη τριων διαφορετικών πληθυσμιακών φαρμακοκινητικών μοντέλων. Ήταν μια ανοιχτή, ισορροπημένη, τυχαιοποιημένη, μονής δόσης (5 mg), τριων θεραπειών (Test, Advagraf, Envarsus), τριων ακολουθιών, τριων περιόδων, τριπλά διασταυρωτή, πιλοτική μελέτη Βιοϊσοδυναμίας της Τακρόλιμους σε 12 υγιής ενήλικες κατά την διαπεπτική περίοδο. Όλα τα προϊόντα είναι βραδείας αποδέσμευσης με τα προϊόντα αναφοράς να είναι το Envarsus (4 και 1 mg) βραδείας αποδέσμευσης και το Advagraf 5 mg βραδείας αποδέσμευσης. Το υπό μελέτη προϊόν Test είναι βραδείας αποδέσμευσης 5 mg. Καθώς τα προϊόντα είναι διαφορετικά και μεσολαβούσε διάστημα έκπλυσης 22 ημερών, αναπτύχθηκαν ξεχωριστά μοντέλα για το καθένα.

Αρχικά, μελετήθηκαν βιβλιογραφικά δεδομένα για την τακρόλιμους και αποτελέσματα από άλλες δημοσιεύσεις για να λειτουργήσουν σαν κατευθυντήριες γραμμές κατά την ανάπτυξη μοντέλου. Ακολούθησε ο διαχωρισμός των παρατηρήσεων ανά σκεύασμα και η εύρεση βέλτιστου μοντέλου για το καθένα. Αυτό πραγματοποιήθηκε προσδιορίζοντας για την κάθε περίπτωση το δομικό μοντέλο, το μοντέλο σφάλματος, την διατομική μεταβλητότητα, την ενδοατομική μεταβλητότητα και τις υπάρχουσες συσχετίσεις και συμμεταβλητές. Για την επιλογή κάποιων χαρακτηριστικών (διατήρηση/ απόρριψη) και για την συνολική επικύρωση του τελικού μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν : η τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης $-2LL$ και το κριτήριο LRT, τα κριτήρια πληροφορίας AIC και BIC, τα γραφήματα καλής προσαρμογής, το VPC και το Bootstrap.

Σχετικά με το δομικό μοντέλο, αναζητήθηκε το βέλτιστο από την βιβλιοθήκη του Monolix με κατάλληλη επιλογή οδού χορήγησης, χρόνου καθυστέρησης, κινητικής απορρόφησης, αριθμού διαμερισμάτων και κινητικής απομάκρυνσης. Επιπλέον, λόγω πολλαπλών κορυφών στις παρατηρήσεις, εξετάστηκαν δομικά μοντέλα διπλής απορρόφησης. Σαν όδος χορήγησης ορίστηκε η από του στόματος. Για να διευθετηθεί η ύπαρξη χρόνου καθυστέρησης παρατηρήθηκαν τα δεδομένα, το γράφημα OBS-PRED μετασχηματισμένο σε λογαριθμική κλίμακα (ύπαρξη απόκλισης για δεδομένα στις πρώτες ώρες) και οι τιμές της $-2LL$ πριν και μετά την εισαγωγή χρόνου καθυστέρησης (πτώση της για τιμή μεγαλύτερη από 3,84 συνεπάγεται παραμονή στο μοντέλο). Για να διευθετηθεί ο αριθμός των διαμερισμάτων πραγματοποιήθηκε διαδικασία ίδια με τον χρόνο καθυστέρησης με την διαφορά ότι παρατηρούνταν επιπρόσθετα οι τιμές της % τυπικής απόκλισης, αν η προσθήκη διαμερίσματος δυσχεραίνει αισθητά τον υπολογισμό των παραμέτρων απορρίπτονταν. Δοκιμάστηκαν το δι- και τρι-διαμερισματικό μοντέλο διότι το μονοδιαμερισματικό ήταν ακατάλληλο. Για την κινητική απορρόφησης, δοκιμάστηκαν και η πρωτοταξική και η μηδενοταξική με δοκιμή τους κάθε φορά στο υπό μελέτη μοντέλο. Η απορρόφηση που προκαλούσε πτώση $-2LL/AIC/BIC$ και βελτίωση VPC και γραφημάτων καλής προσαρμογής επιλεγόταν. Το ίδιο πραγματοποιήθηκε και για την κινητική απομάκρυνσης, δοκιμή γραμμικής και Michaelis Menten.

Όσον αφορά το μοντέλο σφάλματος, σε όλες τις περιπτώσεις προτιμήθηκε το αναλογικό. Διότι με προσθήκη του συνδυαστικού η σταθερά για το προσθετικό μοντέλο έπαιρνε εξαιρετικά μικρή τιμή. Η διατομική μεταβλητότητα προσδιορίστηκε για όλες τις παραμέτρους και ακολουθεί log-κανονική κατανομή πλην της παραμέτρου F1(κλάσμα απορρόφησης) στα μοντέλα διπλής απορρόφησης που ακολουθεί logit-κανονική κατανομή. Συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ κάποιων παραμέτρων στα μοντέλα. Δυστυχώς, δεν μπόρεσαν να εισαχθούν συμμεταβλητές διότι αυτές που εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική βελτίωση ή δεν είχαν φυσική σημασία ή με χρήση bootstrap φάνηκε πως προκαλούσαν αύξηση των %RSE στις παραμέτρους. Συσχετίσεις και συμμεταβλητές ανιχνεύονταν με παρατήρηση γραφημάτων συσχέτισης των τυχαίων επιδράσεων μεταξύ τους ή με τις συμμεταβλητές. Επίσης, ανιχνεύονταν μέσω της τιμής των p-value στα Pearson Correlation Test ή τα T-τεστ. Τέλος, δεν έγινε προσθήκη ενδοατομικής μεταβλητότητας, καθώς χορηγήθηκε μια δόση στον κάθε ασθενή με διάστημα έκπλυσης 22 ημερών. Σε όλα τα τελικά μοντέλα έγινε εσωτερική επικύρωση με χρήση VPC και bootstrap.

Ακολουθούν αποτελέσματα για τα σκευάσματα.

Test σκεύασμα: Διδιαμερισματικό μοντέλο, διπλής απορρόφησης με γραμμική κινητική απομάκρυνσης. Οι δυο απορροφήσεις συμβαίνουν ταυτόχρονα και έχουν ένα μικρό χρονικό διάστημα καθυστέρησης. Η πρώτη απορρόφηση έχει καθυστέρηση $Tlag1=0.39$ ώρες, παρουσιάζει πρωτοταξική κινητική απορρόφησης με ρυθμό $ka_1=0.42 \text{ h}^{-1}$ και απορροφά κλάσμα $F1=0.42$ του φαρμάκου. Η δεύτερη έχει καθυστέρηση $Tlag2=Tlag1+diffTlag2= 1.33$ ώρες παρουσιάζει μηδενοταξική απορρόφηση διάρκειας $Tk02=0.87$ ώρες και απορροφά κλάσμα $1-F1$ του φαρμάκου. Στο μοντέλο βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην κάθαρση την διαδιαμερισματική κάθαρση και τον όγκο του δεύτερου διαμερίσματος, CL-Q-V2. Η διατομική μεταβλητότητα κάθαρσης (CL) είναι ίση 56 %, του όγκου (V1) 32.6%, της διαδιαμερισματικής κάθαρσης (Q) 48.4 % και του όγκου (V2) 48.1%. Οι παράμετροι συσχετίζονται μεταξύ τους με υψηλό δείκτη συσχέτισης ≈ 0.97 και αβεβαιότητα μικρότερη από 5 %. Υπόλοιπη μεταβλητότητα 8.1%.

Advagraf: Διδιαμερισματικό μοντέλο με χρονοκαθυστέρηση $Tlag=0.35$ ώρες, πρωτοταξική απορρόφηση με $ka=0.39 \text{ h}^{-1}$, γραμμική απομάκρυνση και συσχέτιση μεταξύ των Q-V2-CL. Διατομική μεταβλητότητα στην κάθαρση κεντρικού διαμερίσματος (CL) 50.7%, στην διαδιαμερισματική κάθαρση (Q) 66.4% στον όγκο (V1) 55.4% και στον όγκο (V2) 47.6%. Υπόλοιπη μεταβλητότητα 9.76 %. Οι παράμετροι σχετίζονται μεταξύ τους με υψηλό δείκτη συσχέτισης ≈ 0.93 έκαστος και αβεβαιότητα μικρότερη από 5%.

Envarsus: Διδιαμερισματικό μοντέλο, με διπλή απορρόφηση και γραμμική απομάκρυνση. Οι δυο απορροφήσεις συμβαίνουν ταυτόχρονα, ακολουθούν μηδενοταξική κινητική και παρουσιάζουν καθυστέρηση. Η μια εξ αυτών ξεκινάει νωρίτερα με $Tlag1=0.32$ ώρες, κλάσμα απορρόφησης $F1=0.56$ και διάρκεια απορρόφησης ίση με $Tk01=3.2$ ώρες, ενώ η δεύτερη ξεκινάει σε χρόνο $Tlag2= Tlag1 + diffTlag2 =2$ ώρες, απορροφά κλάσμα $(1-F1)$ και έχει διάρκεια απορρόφησης $Tk02= 1.06$ ώρες. Επιπλέον στο μοντέλο βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην κάθαρση (CL) και τον όγκο κατανομής του δεύτερου διαμερίσματος (V2),

με δείκτη συσχέτισης 0.96 και αβεβαιότητα 2.6%. Διατομική μεταβλητότητα κάθαρσης (CL) 58.1% , όγκου (V1) 73.9%, διαδιαμερισματικής κάθαρσης (Q) 73.8% και όγκου (V2) 55.6%. Υπόλοιπη μεταβλητότητα 8.99%.

Η σύγκριση με βιβλιογραφία έδειξε πως υπάρχει διαθέσιμο μεγάλο εύρος τιμών, με ορισμένες μελέτες να συγκλίνουν με τα αποτελέσματα, άλλες να αποκλίνουν και για άλλες να μην έχουν βρεθεί στοιχεία (π.χ Tk0). Φάνηκε πως σπουδαίο ρόλο έχει το πλήθος των δειγμάτων, και αν ο υπό μελέτη πληθυσμός είναι υγιής. Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους αλλά και με την βιβλιογραφία, με θετικό γεγονός, το ότι για μελέτες με παρόμοια δομή τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια.

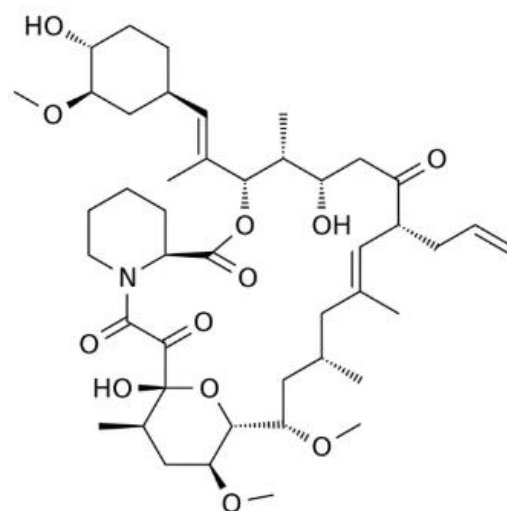
1.1 Τακρόλιμους

Η τακρόλιμους είναι ένας ισχυρός ανοσοκατασταλτικός παράγοντας με κύρια χρήση σε μεταμοσχευματικούς ασθενείς την πρόληψη απόρριψης του μοσχεύματος. Επιπλέον, η τακρόλιμους χρησιμοποιείται για την θεραπεία ατοπικής δερματίτιδας υπό την μορφή αλοιφής.^[1]

Ανακαλύφθηκε το 1984 στην Ιαπωνία σαν προϊόν καλλιέργειας δείγματος εδάφους που περιείχε το βακτήριο *Streptomyces Tsukubaensis*. Χημικά, είναι μια λακτόνη που ανήκει στην κατηγορία των μακρολίδων, χωρίς ωστόσο να παρουσιάζει σημαντική αντιβιοτική δράση. Πρώτη φορά έγκριση πήρε το 1994 από τον FDA για χρήση σε μεταμόσχευση ήπατος ^[2]. Έπειτα, ακολούθησε η χρήση της σε μεταμόσχευση νεφρών, καρδιάς, λεπτού εντέρου, παγκρέατος, πνευμόνων, τραχείας, δέρματος, κερατοειδή χιτώνα, και άκρων. ^[1]

Η τακρόλιμους καταστέλλει το ανοσοποιητικό κάνοντας πρόσδεση στις ανοσοφιλίνες (immunophilins) FK-binding proteins. Επάγει έτσι ένα μονοπάτι, που αναστέλει την καλσινευρίνη (πρωτεϊνική φωσφατάση που ενεργοποιεί τις ιντερλευκίνες) και κατά συνέπεια εμποδίζει την αποφωσφορυλίωση και μετάφραση του πυρηνικού παράγοντα των ενεργοποιημένων T- λεμφοκυττάρων (NF-AT). Αυτός ο πυρηνικός παράγοντας συμβάλει στην έναρξη μεταγραφής γονιδίων που σχηματίζουν τις λεμφοκίνες. Η τακρόλιμους επίσης εμποδίζει την μεταγραφή γονιδίων για το σχηματισμό των IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF και TNF- παρακωλύοντας την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων και κατά συνέπεια τον σχηματισμό των B-λεμφοκυττάρων που εξαρτώνται από τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα ^[1,3].

Η τακρόλιμους είναι μια ουσία πολύ λίγο διαλυτή στο νερό (4-12 mg/L) με υψηλή λιποφιλία. Τα χαρακτηριστικά αυτά σε συνδυασμό με μελέτες που δείχνουν πολύ καλή διαπερατότητα κατά μήκος όλου του Γαστρεντερικού σωλήνα ^[4,5] οδήγησαν στο να κατηγοριοποιηθεί σαν φάρμακο τάξης 2 κατά BCS (Biopharmaceutics Classification System) ^[4,6]. Παρά την καλή διαπερατότητα, η τακρόλιμους τελικά έχει χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα σε χορήγηση από το στόμα, με την τιμή της να φτάνει κατά μέσο όρο το 25±10 % (εύρος 4-89%) ^[4,7].



Εικόνα 1 Χημική δομή τακρόλιμους

Συνοπτικά, οι λόγοι που ευθύνονται για την χαμηλή της βιοδιαθεσιμότητα είναι αρχικά, η χαμηλή της διαλυτότητα, δεύτερον, ο έντονος μεταβολισμός που υπόκειται (προ-συστημικά), τρίτον, η μεταφορά της έξω από τα κύτταρα μέσω της αντλίας εκροής P-gP και τέλος, το φαινόμενο 1^{ης} διόδου [8].

Επίσης, η τακρόλιμους είναι ένα φάρμακο με στενό θεραπευτικό εύρος [9], γεγονός που σε συνδυασμό με την μεγάλη μεταβλητότητα που έχει, κρίνει επιτακτική την παρακολούθηση των επιπέδων της στο αίμα για την διατήρηση της συγκέντρωσης εντός θεραπευτικού εύρους. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ελλοχεύει ο κίνδυνος απόρριψης του μοσχεύματος, ενώ σε υψηλότερες παρατηρείται νεφροτοξικότητα και/ή νευροτοξικότητα [4].

Καθώς παρατηρείται μεγάλη μεταβλητότητα ενδο και διατομική, χρήσιμο θα ήταν να παρουσιαστούν αναλυτικότερα οι διαδικασίες απορρόφησης, μεταβολισμού και κατανομής του φαρμάκου.

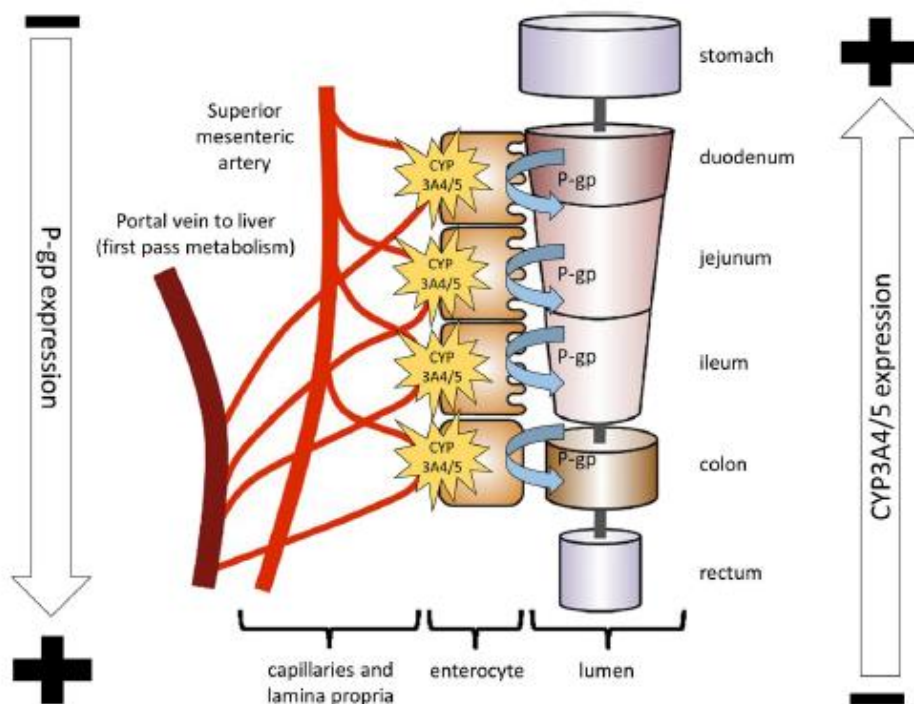
Απορρόφηση

Όπως προαναφέρθηκε η τακρόλιμους έχει υψηλή διαπερατότητα καθόλο το μήκος του εντέρου. Έχει φανεί ότι απορροφάται με παθητική διάχυση [10] παρουσιάζοντας εξάρτηση θέσης για διαπερατότητα, με περιοχές εκλογής το λεπτό έντερο και το κόλον [9]. Έχει παρατηρηθεί, ότι η πρόσληψη τροφής επηρεάζει σημαντικά την απορρόφηση της, έχοντας καλύτερη απορρόφηση κατά την διαπεπτική περίοδο. Πρόσληψη τακρόλιμους μετά από γεύμα οδήγησε σε μείωση της C_{max} κατά 71%, ενώ της AUC κατά 39%. [11]

Η χαμηλή διαλυτότητα της τακρόλιμους καθυστερεί την απορρόφηση της, και πιθανά αφήνει ποσότητα αδιάλυτου φαρμάκου στο έντερο. Επιπρόσθετα ο μεταβολισμός της από τα κυτοχρώματα CYP3A5 και CYP3A4 [11] που εκφράζονται σε έντερο και ήπαρ μειώνει το διαθέσιμο φάρμακο προς απορρόφηση στο γαστρεντερικό αυλό [12]. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει και η διαμεμβρανική αντλία εκροής P-glycoprotein/multidrug resistance 1 (PgP/MDR1) [2] που διώχνει από τα κύτταρα μέρος της ποσότητας που έχει απορροφηθεί.

Ένα άλλο γεγονός που αξίζει να αναφερθεί, είναι η διαφορετική έκφραση των ενζύμων κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα και της αντλίας P-gr. Τα κυτοχρώματα φθίνουν όσο προχωράμε από τον δωδεκαδάκτυλο προς το παχύ έντερο και η αντλία P-gr αυξάνεται σε ποσότητα [13]. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει την διαλυμένη ποσότητα φαρμάκου που δεν μεταβολίστηκε από τα κυτοχρώματα να έχει περισσότερες πιθανότητες να φτάσει την συστημακή κυκλοφορία από τα ανώτερα τμήματα του εντέρου. Επιπλέον, σε μια μελέτη του Shigeki Tamura 2001 [6] κοινοποιήθηκε ότι η σύνδεση ανάμεσα στα εντεροκύτταρα κατώτερων τμημάτων είναι πιο σφιχτή, καταλήγοντας πως η σειρά διαπερατότητας για την τακρόλιμους είναι κατά φθίνουσα σειρά το δωδεκαδάκτυλο, ο ειλεός και τελευταίο το κόλον.

Στην εικόνα που ακολουθεί απεικονίζονται όσα αναφέρθηκαν παραπάνω



Εικόνα 2 Από Tremblay and Alloway et al ^[13]. Απεικόνιση εντερικού αυλού με τα εντεροκύτταρα από δεξιά και τα τριχοειδή αγγεία από όπου περνάει η τακρόλιμους στην γενική κυκλοφορία καταλήγοντας στην πυλαία φλέβα για να υποστεί το φαινόμενο 1^{ης} διόδου. Στο λεπτό έντερο υπάρχουν μικρολάχνες, ενώ στο παχύ δεν υπάρχουν με τελευταίο σημείο απορρόφησης το κόλον. Παρουσιάζεται η μεταβολή της έκφρασης των CYP3A4/5 και P-gp κατά μήκος του Γαστρεντερικού σωλήνα.

Τέλος, η τακρόλιμους εμφανίζει εντεροηπατική κυκλοφορία, η οποία δυνητικά θα μπορούσε να προκαλέσει επαναπορρόφηση της δραστικής από το έντερο.

Μεταβολισμός

Με την είσοδο της στον οργανισμό μας υπόκειται έντονο μεταβολισμό. Παράγονται αρκετοί μεταβολίτες με κυριότερους τους διμεθυλτακρόλιμους, διδιμεθυλτακρόλιμους, διμεθυλυδροξυτακρόλιμους, διδιμεθυλυδροξυτακρόλιμους, υδροξυτακρόλιμους με κανέναν τους όμως να εμφανίζει σημαντική ανοσοκατασταλτική δράση. ^[4, 14, 15] Ο μοναδικός που έχει δείξει ικανή ανοσοκατασταλτική δράση in vitro είναι ο 31-O-διμεθυλτακρόλιμους χωρίς όμως να έχει εντοπιστεί ποτέ στο αίμα. ^[4, 14]

Η μεγάλη μεταβλητότητα που παρατηρείται στην βιοδιαθεσιμότητα οφείλεται και στις διαφορές που εμφανίζονται στον μεταβολισμό της τακρόλιμους από άνθρωπο σε άνθρωπο.

Για αρχή, όπως το μικροβίωμα του καθενός μας είναι διαφορετικό, αντίστοιχα διαφορετικό είδος και ποσότητα κυτοχρωμάτων υπάρχει στον εντερικό βλεννογόνο και το ήπαρ. Για παράδειγμα, σε μελέτη του Kolars et al 1992 ^[16] φάνηκε δεκαπλή μεταβλητότητα στην συγκέντρωση του CYP3A4 σε εντεροκύτταρα από 5 ανθρώπους. Σε άλλη δημοσίευση το CYP3A5 εντοπίστηκε περίπου στο 70% των ασθενών που κάνανε βιοψία εντέρου, ^[17]. Επίσης, υπάρχει διαφορά και στην δραστικότητα των κυτοχρωμάτων, από Watkins et al

[12] βρέθηκε μεταβλητότητα στην δραστικότητα του CYP3A4 τάξης 6 βαθμών. Επιπλέον, το κυτόχρωμα CYP3A5 εμφανίζει πολυμορφισμό. Όσοι είναι ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο CYP3A5*1 (CYP3A5*1/*1) είναι γρήγοροι μεταβολιστές και απαιτούν ψηλότερες δόσεις τακρόλιμους. [18] Όπως για παράδειγμα το 55-70% των Αφρικανών/Αφροαμερικανών, το 33% των Ιαπωνέζων και το 10% των Καυκάσιων. Αντίθετα, όσοι είναι ομοζυγώτες για το CYP3A5*3 (CYP3A5*3/*3) αλληλόμορφο (πλειονότητα Καυκάσιων) είναι αργοί μεταβολιστές και θα πρέπει να δοθεί αντίστοιχα προσοχή για να μην φτάσει τοξικά επίπεδα η τακρόλιμους. Γενικότερα από την μελέτη του Landry Kamdem [18] υπήρξε μεγάλο εύρος στην ταχύτητα σχηματισμού μεταβολίτη (13-Ο-διμεθυλτακρόλιμους) ανεξαρτήτως πολυμορφισμού.

Τέλος, σε συμφωνία με όσα γράφτηκαν για την απορρόφηση της τακρόλιμους υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στον σχηματισμό μεταβολιτών της τακρόλιμους και την περιοχή του εντέρου. Πείραμα σε εντερικό βλεννογόνο χοίρου έδειξε υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταβολιτών στον δωδεκαδάκτυλο, χαμηλότερες στην νηστίδα, πιο λίγες στον ειλέο και ακόμα λιγότερες στο κόλον. Δεν βρέθηκαν μεταβολίτες στον βλεννογόνο του στομάχου.[17]

Απέκκριση

Η τακρόλιμους σαν βασική οδό απέκκρισης έχει την χολή. Αυτό αποδεικνύεται από την έρευνα του Moller et al [20] όπου μετά από ενδοφλέβια και από του στόματος χορήγηση επισημασμένης με ¹⁴C τακρόλιμους, το μεγαλύτερο ποσοστό ραδιενέργειας (μεταβολίτες και αρχικό φάρμακο) μετρήθηκε στα κόπρανα 78-95%. Περίπου 2% της ραδιενέργειας αποβλήθηκε στα ούρα και λιγότερο από 1% αμετάβλητης τακρόλιμους ανιχνεύθηκε στα ούρα και στα κόπρανα. Επιπλέον, από την ίδια μελέτη προκύπτει ότι στην συστημακή κυκλοφορία έχουμε ως επί το πλείστον το μητρικό φάρμακο και λίγους μεταβολίτες, καθώς σε σύγκριση τιμών ραδιενέργειας εκλεκτικής και μη εκλεκτικής μεθόδου για τακρόλιμους οι τιμές ήταν παραπλήσιες.

Εξαιτίας της έντονης πρόσδεσης της τακρόλιμους στα ερυθροκύτταρα, προκύπτουν άλλες τιμές κάθαρσης από μετρήσεις σε όλο το αίμα και άλλες από το πλάσμα. Ενδεικτικά, για πλάσμα ήταν $CL_{PLASMA} = 1.69 \text{ L/hr/kg}$ και $V_d = 1300 \text{ L}$, ενώ για αίμα $CL_{WHOLE BLOOD} = 0.0541 \text{ L/hr/kg}$ και $V_d = 47.6 \text{ L}$. [4,14] Ο χρόνος ημιζωής είναι 23-40h, ποικίλλει ανάλογα τον τύπο της μεταμόσχευσης, με μέση τιμή για υγιείς εθελοντές 43 h. Η ολική κάθαρση για per os σκεύασμα είναι 2.25 L/min [14].

Πίνακας 1 Τιμές κάθαρσης και όγκου κατανομής από βιβλιογραφία

	Τιμή για ολικό αίμα
Ολική κάθαρση (CL)	0.0541 L/hr/kg (Venkataraman 1995) [4] 0.041 - 0.36 L/h/kg (Christians et al 2002) [11]

	2.25 L/hr για υγίης εθελοντές (spc prograf ^[14] , Moller 1998 ^[20]) 4.1 (L/h) μεταμόσχευση νεφρου (spc prograf) ^[14] 6.7 (L/h) μεταμόσχευση ήπατος (spc prograf) ^[14] 0.172 ± 0.088 L/hr/kg ([1] oral healthy subjects) 0.040 L/h/kg (Astellas Pharma US, 2013) ^[21] για controlled release.
Όγκος (Vd)	47.6 L (για υγιή άτομα) (spc prograf) ^[14] Οι τιμές μεταβάλλονται πολύ ανάλογα τον τύπο μεταμόσχευσης και αν είναι παιδιατρικοί ασθενείς.

Κατανομή

Με την είσοδο της στην κυκλοφορία εμφανίζει ισχυρή σύνδεση με τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Συγκεκριμένα, σε υγίης εθελοντές προσδένεται στα ερυθροκύτταρα κατά 83.2% (εύρος 74.6-94.9 %), ακολουθεί το αραιωμένο πλάσμα με 16.1% (εύρος 4.5-24.9 %) και τελευταία είναι τα λεμφοκύτταρα με 0.61% (εύρος 0.11-1.53%) (τα οποία πιθανολογείται να είναι και ο τόπος δράσης της τακρόλιμους ^[22,23]. Στο αίμα ο λόγος κατανομής των συγκεντρώσεων ολικό αίμα προς πλάσμα ταλαντεύεται σε διάφορες τιμές με επικρατούσα το 55 και εύρος 2.9-134.8 ^[7,24,25]. Στο πλάσμα συνδεεται κυρίως με τις διαλυτές πρωτείνες (61.2 ±2.5%). Η πλειονότητα προσδένεται με την αλβουμίνη (>50%) και δευτερευόντως με την α1 γλυκοπρωτεΐνη. Ακολουθούν οι (HDL) υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες με 28.1 ± 5.4% , οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) 7.8% ± 1.6% και οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL) με 1.4 ± 0.3%. Το ελεύθερο ποσοστό τακρόλιμους στο αίμα είναι 0.47 ± 0.18% με 15-απλό εύρος μεταβλητότητας (0.07-0.89%) ^[24]

Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της τακρόλιμους στο αίμα

- ❖ Ο αιματοκρίτης είναι παράγοντας που επηρεάζει τα επίπεδα της τακρόλιμους. Συγκεκριμένα αυξημένος αιματοκρίτης προκαλεί υψηλότερα ποσοστά της τακρόλιμους συνδεδεμένα στο αίμα και άρα μικρότερο ποσοστό μη συνδεδεμένου φαρμάκου. Το ίδιο φαινόμενο έχει παρατηρηθεί για αύξηση των λεμφοκυττάρων.^[24]
- ❖ Η συγχορήγηση με άλλα φάρμακα. Δεδομένης της φύσης του προβλήματος που χορηγείται η τακρόλιμους, συγχορηγούνται και άλλα φάρμακα για ανοσοκαταστολή με πρωταγωνιστές τα κορτικοστεροειδή, την κυκλοσπορίνη και την μυκοφαινόλη. Η τακρόλιμους είναι αναστολέας του CYP3A4 συνεπώς συγχορήγηση θα μπορούσε να παρατείνει το χρόνο ημιζωής της κυκλοσπρίνης οδηγώντας σε αυξημένες ανεπιθύμητες ενέργειες. Τα κορτικοστεροειδή αυξάνουν την έκφραση των CYP3A και P-gr προκαλώντας μείωση των επιπέδων της τακρόλιμους στο αίμα^[26, 11] Γενικότερα, όλα τα φάρμακα που αλληλεπιδρούν με το CYP3A4/5 είτε την αντί P-gr, επηρεάζουν τα επίπεδα της δραστικής στο αίμα. Γνωστοί επαγωγείς του κυτόχρωματος CYP3A4 /5 είναι η φαινοβαρβιτάλη, η ριφαμπικίνη,

ορισμένα κορτικοστεροειδή, η φαιτυοΐνη και το St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). Αντίστοιχα γνωστοί αναστολείς είναι ο χυμός γκρέιπφρουτ, αντιμυκητιασικοί παράγοντες (κετοκοναζόλη), αναστολείς HIV πρωτεάσης (ριτοναβίρη), ορισμένα αντιβιοτικά (ερυθρομυκίνη κλαριθρομυκίνη) και αντιαρρυθμικά φάρμακα (βεραπαμίλη, αμιωδαρόνη). Τέλος, κάποια φάρμακα που τροποποιούν την λειτουργικότητα της P-gp αντλίας είναι βεραπαμίλη, η διλτιαζέμη, η αμιωδαρόνη η κετοκοναζόλη και τα κορτικοστεροειδή. [2,14]

Τα παραπάνω θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη πριν την έναρξη της θεραπείας για να επιτευχθούν τα βέλτιστα αποτελέσματα.

Ανεπιθύμητες ενέργειες.

Εμφανίζει πληθώρα ανεπιθύμητων ενεργειών, θα αναφερθούν οι πιο συχνές.

- Αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης λοιμώξεων (ιογενών, βακτηριακών, μυκητιασικών και πρωτοζωϊκών).
- Νευροτοξικότητα, η οποία εκδηλώνεται με τρόμο, αίσθηση καύσου στα χέρια και στα πόδια, γαργαλητό/φαγούρα, πονοκέφαλο, ζάλη, παραισθήσεις, επιληπτικές κρίσεις.
- Νεφροτοξικότητα, νεφρική δυσλειτουργία, επηρεάζονται συστήματα όπως αυτό ρενίνης αγγειοτενσίνης οδηγώντας σε υπέρταση.
- Σακχαρώδης διαβήτης
- Υπεργλυκαιμία, υπερκαλιαιμία, υπομαγνησιαιμία, υποφωσφαταιμία, υποκαλιαμία, υπασβεστιαίμια, υπονατρίαίμια, υπερχοληστερολαιμία, υπερτριγλυκεριδαίμια
- Διάρροια, ναυτία, εμμετούς, έλκος, γαστρεντερικές φλεγμονώδεις καταστάσεις
- Ισχαιμικές διαταραχές της στεφανιαίας αρτηρίας, ταχυκαρδία, εμβοές, κοιλιακές αρρυθμίες, θρομβοεμβολικά και ισχαιμικά συμβάματα,
- Κακοήθη νεοπλάσματα συμπεριλαμβανομένων λεμφοϋπερπλαστικών διαταραχών συσχετιζόμενων με τον EBV καθώς και κακοηθειών του δέρματος.
- Αναιμία, λευκοπενία, θρομβοπενία, λευκοκυττάρωση, μη φυσιολογικές αναλύσεις των ερυθροκυττάρων, διαταραχές της πήξης αίματος
- Χολόσταση και ίκτερος, ηπατοκυτταρική βλάβη και ηπατίτιδα
- Θαμπή όραση, φωτοφοβία, καταρράκτης

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες δυσκολεύουν τον ασθενή ωθώντας τον στην μείωση της συμμόρφωσης, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο απόρριψης του μοσχεύματος. [2,14]

Διαθέσιμες μορφές κυκλοφορίας

Είναι διαθέσιμη σε ένεσιμη μορφή, καψάκιο άμεσης αποδέσμευσης, καψάκιο τροποποιημένης αποδέσμευσης, δισκίο τροποποιημένης αποδέσμευσης, καθώς και σε αλοιφή. ^[3]

Για τα per os σκευάσματα κυκλοφορούν καψάκια των 0,5 mg, 1mg και 5 mg, με εξαίρεση το Envarsus όπου κυκλοφορούν δισκία των 0,75 mg, 1mg και 4 mg.

Η δοσολογία μεταβάλεται ανάλογα με το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την μεταμόσχευση, τον τύπο της μεταμόσχευσης, του σκευάματος και τα χαρακτηριστικά του ασθενή. Εμπειρικά τα καλύτερα αποτελέσματα έχουν φανεί για trough level 10-15 ng/mL για τις πρώτες 6 εβδομάδες και συνέχιση με 5-10 ng/mL ^[27] ή 10-20 ng/mL για 2 φορές την μέρα τους πρώτους 3 μήνες και 5-15 ng/mL αργότερα. ^[13]

Για να επιτευχθεί τέτοιο trough level συνήθως χορηγούνται 0.10-0.20 mg/kg/ημέρα σε δυο διηρημένες δόσεις (π.χ. πρωί και βράδυ) σε άμεσης αποδέσμευσης καψάκιο ^[13]. Ενώ για το Envarsus η δόση είναι 0.17 mg/kg/μέρα μια φορά την μέρα για μεταμόσχευση νεφρού ^[28] και 0.11–0.13 mg/kg/μέρα για μεταμόσχευση ήπατος. ^[28]

Πληροφορίες για τα p.os σκευάσματα

Prograf: Δισκίο τακρόλιμους άμεσης αποδέσμευσης (Astellas pharma US, Inc., Northbrook IL)^[21].

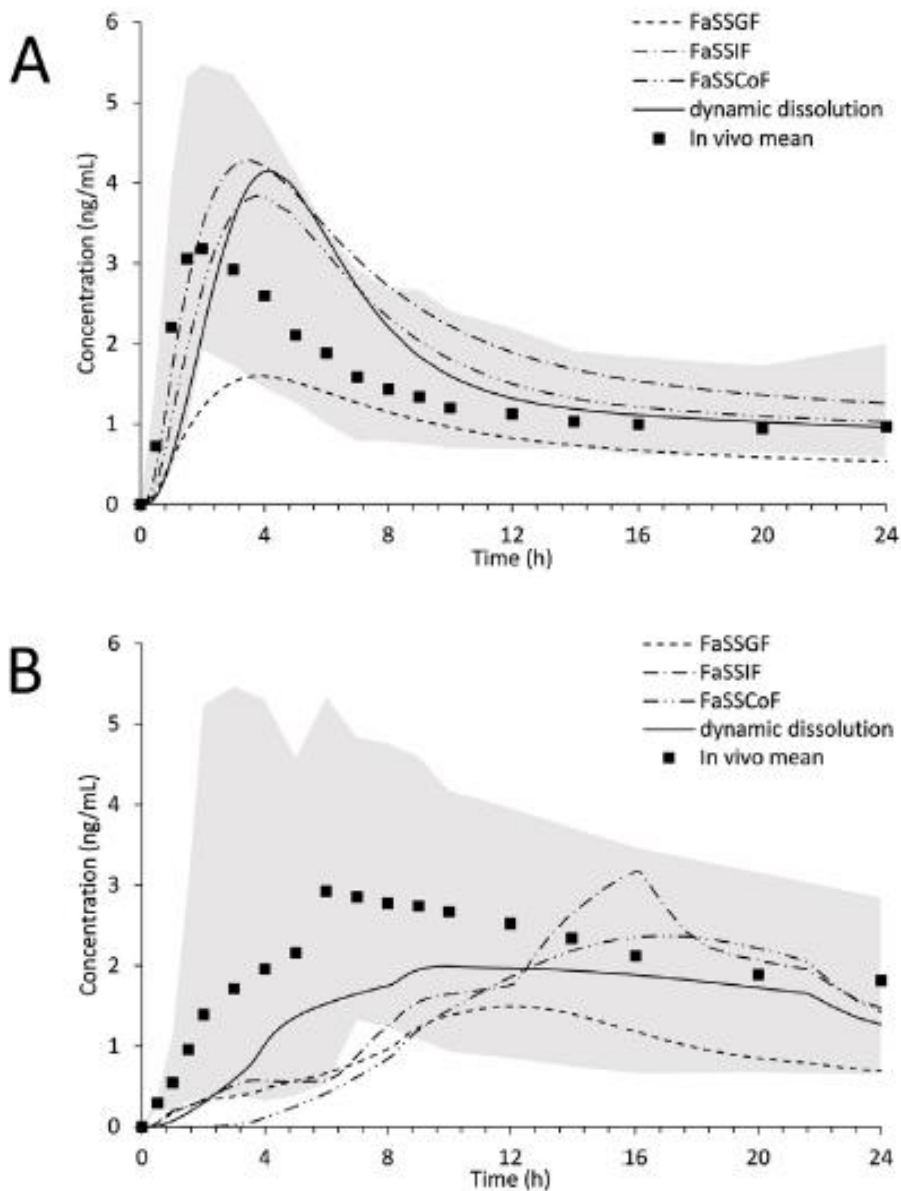
ENVARSUS (Veloxis Pharmaceuticals, Edison, NJ, LCPT): Πήρε πλήρη έγκριση το 2015 από τον FDA για πρόληψη απόρριψης μοσχεύματος σε ασθενείς που έχουν κάνει μεταμόσχευση νεφρού. ^[13] Φτιάχτηκε με τεχνική Melt dose technology που είναι ιδανική για φάρμακα που έχουν σχετικά χαμηλή διαλυτότητα σε νερό και είναι ευάλωτα σε χημική αποσύνθεση. ^[30] Με την μέθοδο αυτή τα σωματίδια μειώνονται στο μικρότερο δυνατό μέγεθος (μικρότερα και από nanocrystal formulations) κάνοντας τα πιο ευδιάλυτα. Χορηγείται 20% χαμηλότερη δόση από την τακρόλιμους άμεσης αποδέσμευσης ^[28] (Prograf) ^[13].

ADVAGRAF: (Astellas Pharma, Northbrook, IL) Πρώτη έγκριση από FDA το 2013 σε άσθενείς με μεταμόσχευση νεφρού. ^[13] Σκληρά καψάκια ζελατίνης, επικαλυμμένα με αιθυλοκυτταρίνη που περιλαμβάνουν μικροσφαιρίδια τροποποιημένης αποδέσμευσης ^[5]. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά το καθιστούν ικανό να χορηγείται μια φορά την ημέρα.

Σύγκριση σκευασμάτων στην βιβλιογραφία

Τα δυο σκευάσματα έχουν συγκριθεί σε πολλές μελέτες. Ενδιαφέρον, παρουσίασε αυτή του Mercuri et al 2016 ^[5] όπου έγινε πείραμα διαλυτότητας σε biorelevant media και έπειτα ακολούθησε προσομοίωση in vivo με χρήση των in vitro αποτελεσμάτων.

Οι καμπύλες συγκέντρωσης χρόνου από την προσομοίωση παρατίθενται παρακάτω



Εικόνα 3. Καμπύλες C-t για tacrolimus σε υγιείς εθελοντές Advagraf (A) και Envarsus (B). ■ είναι η μέση συγκέντρωση in vivo σε δείγμα αίματος. ···· προσομοίωση από FaSSGF, --- προσομοίωση από FaSSIF, -·-·- προσομοίωση FaSSCoF, — δυναμική διάλυση. Η γκρι περιοχή υποδηλώνει το εύρος των in vivo συγκεντρώσεων. Όπου FaSSGF: Fasted State Simulated Gastric Fluid, FaSSIF: Fasted State Simulated Intestinal Fluid, FaSSCoF: Fasted State Simulated Colon Fluid και Dynamic dissolution (Δυναμική διάλυση) είναι η διάλυση του φαρμάκου υπό την σταδιακή προσθήκη των διαφορετικών μέσων διάλυσης. ^[5]

Από τα γραφήματα βλέπουμε ότι το Advagraf απελευθερώνει ταχύτερα την δραστική του ενώ το Envarsus κρατάει μέτρια επίπεδα για μεγαλύτερη χρονική διάρκεια. Επίσης, παρατηρώντας ξεχωριστά την κάθε καμπύλη για το μέσο διάλυσης συμπεραίνουμε ότι το Advagraf απελευθερώνει την πλειοψηφία της δραστικής σε ανώτερα τμήματα του ΓΕΣ όπως το δωδεκαδάκτυλο η νηστίδα και ο ειλεός, εμφανίζοντας ταχύτερα υψηλά επίπεδα στο αίμα, ρίχνοντας την συγκεντρωση του σταδιακά. Αντίθετα, το Envarsus καθυστερεί στην απελευθέρωση της δραστικής στοχεύοντας κατώτερα τμήματα του ΓΕΣ όπως το κόλον και διατηρεί για περισσότερο χρόνο υψηλά επίπεδα στο αίμα.

1.2 Φαρμακομετρία -Πληθυσμιακή Φαρμακοκινητική

Η ανάπτυξη νέων φαρμάκων είναι μια διαδικασία χρονοβόρα, δαπανηρή και συχνά θέτει ηθικά ζητήματα καθώς πολλά φάρμακα δοκιμάζονται σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους για να μελετηθεί η τοξικολογική και φαρμακολογική δράση. Πλέον υπάρχει τρόπος να αποθηκεύονται μεγάλες βάσεις δεδομένων και πληροφορίες τις οποίες δυστυχώς δεν έχουμε μάθει να εκμεταλευόμαστε σωστά για να αντληθούν νέα συμπεράσματα. Σε αυτό το σημείο επεμβαίνει η επιστήμη της Φαρμακομετρίας για να βοηθήσει στην διαχείριση του όγκου της πληροφορίας με δημιουργικό τρόπο. Συγκεκριμένα, Φαρμακομετρία είναι η επιστήμη της ερμηνείας και περιγραφής της φαρμακολογίας με ποσοτικό τρόπο. Υπάρχει στη διασταύρωση φαρμακοκινητικών μοντέλων, φαρμακοδυναμικών μοντέλων, φαρμοκοδυναμικών βιολογικών δεικτών, μοντέλων συσχέτισης, στατιστικής, στοχαστικής προσομοίωσης, οπτικοποίησης δεδομένων και προγραμματισμού υπολογιστών. Με απλά λόγια είναι η επίσημη ανάπτυξης και εφαρμογής μαθηματικών και στατιστικών μοντέλων για να χαρακτηριστεί, κατανοηθεί και προβλεφθεί η φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική ενός φαρμάκου και η συμπεριφορά των βιολογικών δεικτών του ^[31]. Η εφαρμογή των αρχών της φαρμακομετρίας αρχίζει να συνδράμει σημαντικά στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων και στην εύρεση καλύτερης φαρμακοθεραπείας, αφού χρησιμοποιείται σε ολένα και περισσότερα στάδια ανάπτυξης τους. ^[31,32]

Η Φαρμακοκινητική είναι κλάδος της Φαρμακολογίας που περιγράφει πως ο ανθρώπινος οργανισμός επιδρά στο φάρμακο στην πορεία του χρόνου. Ειδικότερα ασχολείται με την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απομάκρυνση του φαρμάκου. Αυτό το επιτυγχάνει με τον προσδιορισμό φαρμοκινητικών παραμέτρων όπως η κάθαρση, ο όγκος κατανομής, ο ρυθμός απορρόφησης, ο χρόνος ημιζωής, η AUC και άλλες παράμετροι. ^[33]

Στην πληθυσμιακή φαρμακοκινητική ο σκοπός είναι ίδιος, με την διαφορά ότι μελετάται η κινητική του φαρμάκου σε ένα πληθυσμό και παρατηρούνται διαφορές από οργανισμό σε οργανισμό. Ο υπολογισμός των παραμέτρων σε ένα πλήθος μπορεί να γίνει με δυο τρόπους :

A) Μέθοδος δυο σταδίων: εκτίμηση των παραμέτρων για τον κάθε ασθενή μεμονωμένα και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

B) Μη γραμμική μεικτών επιδράσεων μοντελοποίηση. ^[34]

Στην συγκεκριμένη εργασία έγινε χρήση του δεύτερου τρόπου. Για να πραγματοποιηθεί αυτό χρησιμοποιούνται ειδικά λογισμικά τα οποία κάνουν ταυτόχρονη ανάλυση των παρατηρήσεων και υπολογισμό της μέσης τιμής και της διακύμανσης των παραμέτρων απευθείας. Τα πιο διάσημα λογισμικά είναι το NONMEM, το Monolix, το Phoenix NLME, το NLMIXED και άλλα ^[35]. Καθώς έγινε χρήση του Monolix θα αναπτυχθεί με λεπτομέρεια αργότερα.

Η μη γραμμική μεικτών επιδράσεων μοντελοποίηση υπερτερεί της μεθόδου των δυο σταδίων διότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή σύνολου δεδομένων με λίγες παρατηρήσεις, ελλειπής ή με ακανόνιστη δειγματοληψία. Δεύτερον, είναι εύκολο να εφαρμοσθεί σε ειδικές ομάδες πληθυσμού όπως οι παιδιατρικοί ασθενείς ή για φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος και τρίτον βοηθά στον εντοπισμό συμμεταβλητών και συσχετίσεων. Το μειονέκτημα της, είναι η δυσκολία στην κατανόηση των περίπλοκων μαθηματικών που έχει σαν θεωρητικό υπόβαθρο. [32,36]

Στο μη γραμμικό μοντέλο μεικτών επιδράσεων, αναλύονται βιολογικά δεδομένα από ένα πληθυσμό n , στον οποίο κάθε άτομο i έχει κάποιο αριθμό παρατηρήσεων, με κάθε παρατήρηση j να εκφράζει την εξαρτημένη μεταβλητή. Η εξαρτημένη μεταβλητή C_{ij} μπορεί να είναι η συγκέντρωση φαρμάκου στο αίμα για μια χρονική στιγμή t . [32,35]

Συνεπώς για ένα άτομο θα ισχυεί :

$$C_{ji} = f(\xi_i, t_{ji}) + \varepsilon_i \text{ [32,36,37]}$$

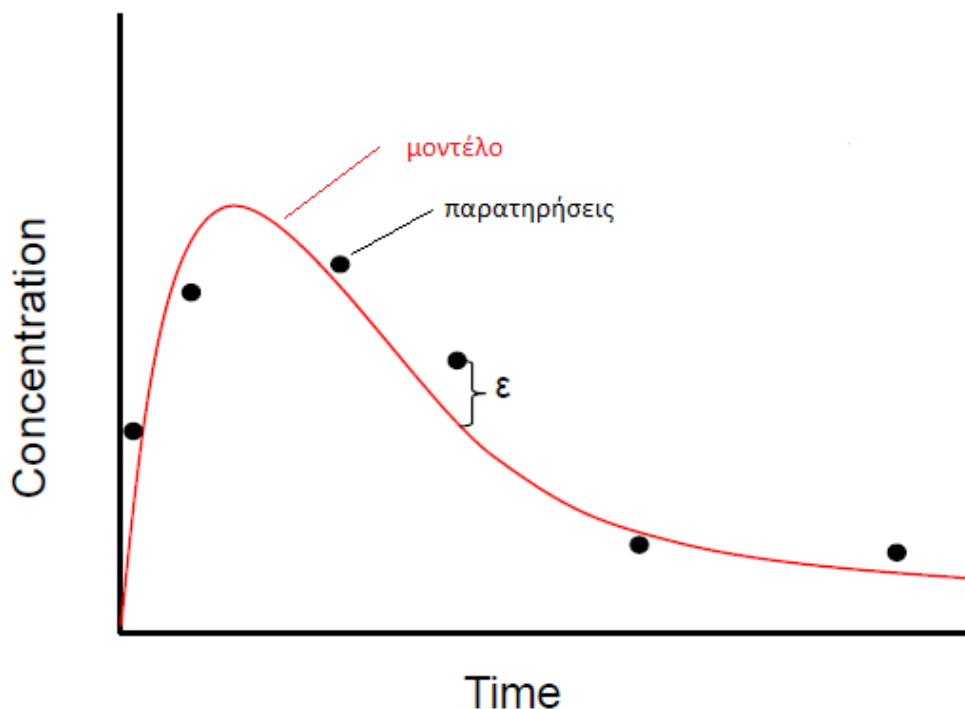
Δηλαδή η εξαρτημένη μεταβλητή θα προκύπτει συναρτήσει κάποιων σταθερών και τυχαίων επιδράσεων.

Όπου f : το μοντέλο (συνδυάζει με μη γραμμικό τρόπο τις επιδράσεις)

ξ : τιμές παραμέτρων όπως V_d , CL

t : ο χρόνος (ανεξάρτητη μεταβλητή)

ε : τυχαίο σφάλμα



Εικόνα 4 Προσαρμογή μοντέλου σε παρατηρήσεις

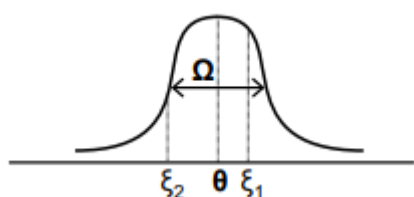
Οι παράμετροι ξ περιγράφονται από μια κατανομή με μέση τιμή θ ή ξ_{pop} , και διακύμανση Ω_{ξ} . Η διακύμανση Ω_{ξ} αντιπροσωπεύει την διατομική μεταβλητότητα, δηλαδή την διαφορετικότητα στις τιμές των παραμέτρων ξ από άνθρωπο σε άνθρωπο. Το ξ ακολουθεί επίσης μια κατανομή η οποία γράφεται συχνότερα με τους εξής τρόπους

$$\xi_i = \xi_{pop} + \eta_i \quad \text{ή}$$

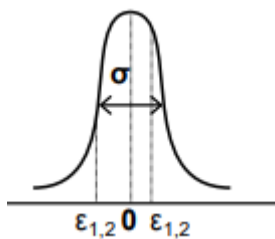
$$\xi_i = \xi_{pop} * e^{\eta_i} \quad \text{με λογαρίθμηση } \log(\xi_i) = \log(\xi_{pop}) + \eta_i * \log(e).$$

Το η είναι η στοχαστική μεταβλητή της διατομικής μεταβλητότητας και ακολουθεί κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση ω_{η}^2 .

Το t είναι ο χρόνος και είναι η ανεξάρτητη μεταβλητή



Εικόνα 5 Κατανομή των παραμέτρων ξ



Εικόνα 6 Κατανομή των σφαλμάτων ϵ

Το ϵ είναι το τυχαίο σφάλμα, ακολουθεί συνήθως κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ^2 και εκφράζει την ενδοατομική και υπολειμματική μεταβλητότητα. Σαν ενδοατομική μεταβλητότητα χαρακτηρίζεται η διαφορά που παρατηρείται σε ένα άτομο από μέρα σε μέρα ή χορήγηση σε χορήγηση. Σαν υπολειμματική μεταβλητότητα ορίζουμε τις διαφορές που οφείλονται σε ποικίλες αιτίες που δύσκολα προσδιορίζονται όπως σφάλμα κατά την δειγματοληψία ή ανάλυση του φαρμάκου. Επιπλέον, κατά τον υπολογισμό των παραμέτρων προσδιορίζεται η αβεβαιότητα με την οποία γίνεται η εκτίμηση. Είναι δηλαδή, ένας δείκτης σιγουρίας-ασφάλειας ότι η παράμετρος πράγματι παίρνει την τιμή που εμφανίζεται. ^[32,36,37]

Για την καλύτερη περιγραφή των δεδομένων στο μοντέλο μπορούν να προσδιοριστούν σχέσεις μεταξύ κάποιων παραμέτρων σαν συσχετίσεις και να προστεθούν συμμεταβλητές, οι οποίες είναι παράγοντες που ερμηνεύουν την διατομική μεταβλητότητα που παρατηρείται στα δεδομένα. ^[32,60]

Με βάση τα παραπάνω γίνεται κατανοητό για ποιο λόγο αναφέρουμε τον όρο μεικτές επιδράσεις. Έχουμε τον συνδυασμό τύχαιων επιδράσεων, δηλαδή παραμέτρων που ακολουθούν μια κατανομή στον υπό μελέτη πληθυσμό και σταθερών επιδράσεων όπως ο χρόνος δειγματοληψίας ή η δόση.

1.3 Monolix

Το Monolix είναι ένα από τα πιο προχωρημένα και ισχυρά εργαλεία για την Μη γραμμική Μεικτών επιδράσεων μοντελοποίηση στην Φαρμακομετρία. Χρησιμοποιείται σε προκλινικές και κλινικές μελέτες για προσδιορισμό φαρμακοκινητικών μοντέλων από φαρμακοβιομηχανίες, πανεπιστήμια και από οργανισμούς έγκρισης φαρμάκων όπως ο E.M.A.^[38] Είναι προϊόν της εταιρείας Lixoft, η οποία ιδρύθηκε το 2011 σαν αποτέλεσμα επτάχρονου ερευνητικού προγράμματος στην στατιστική και την μοντελοποίηση για την ανάπτυξη φαρμάκων και κλινικών δοκιμών. Το πρόγραμμα είχε διεξαχθεί από την Inria (Institute National de la Recherche en Informatique et Aromatique) σε συνεργασία με την Inserm και επιδοτήθηκε από γνωστές εταιρείες όπως η Johnson & Johnson, Sanofi, Novartis, Roche, Astrazeneca and Exprimio. Η Lixoft εκτός αναπτύσσεται συνεχώς, εξελίσσοντας τα προγράμματα που φτιάχνει. Στο ερευνητικό της προσωπικό εντάσσονται επιστήμονες του κλάδου των μαθηματικών, της στατιστικής, προγραμματιστές λογισμικών και φαρμακολόγοι.^[39]

Το Monolix μπορεί να υπολογίσει με αξιοπιστία ολικά ελάχιστα και να προσδιορίσει παραμέτρους ακόμα και στα πιο περίπλοκα φαρμακοδυναμικά και φαρμακοκινητικά μοντέλα. Βασίζεται στον αλγόριθμο SAEM (Stochastic Approximation of EM)^[40], ο οποίος είναι ένας στοχαστικός αλγόριθμος που υπολογίζει τον εκτιμητή της μέγιστης πιθανοφάνειας μοντέλων με ελλιπή δεδομένα. Έχει φανεί σαν ένα πολύ καλό εργαλείο για τα Μη γραμμικά μεικτών επιδράσεων μοντέλα έχοντας καλό θεωρητικό υπόβαθρο και ώντας ακριβής στους υπολογισμούς του. Σφαιρικά, αναπαράγει δεδομένα χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις από Monte Carlo προσομοιώσεις, τις δοκιμάζει για την εύρεση ολικού ελάχιστου και δοκιμάζει επανειλημμένα νέες προσεγγίσεις μέχρι να καταλήξει στο μικρότερο δυνατό ελάχιστο.^[41]

Αυτό που το κάνει να ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα λογισμικά είναι η εξαιρετική ευκολία στην χρήση του, εξαιτίας των αυτοματισμών που έχει, η ταχύτητα του και η φιλική προς τον χρήστη επιφάνεια εργασίας. Υπάρχει η δυνατότητα επιλογής ανάμεσα στο γραφικό περιβάλλον ενεργειών (Graphical User Interface, GUI), που είναι και το πιο σύνηθες, είτε στην εργασία μέσω μιας σειράς εντολών (Command Line Interface, CLI).^[38]

Γραφικό Περιβάλλον Ενεργειών (GUI)

Το γραφικό περιβάλλον έχει μια σειρά από 8 πάνελ στα οποία περιλαμβάνονται

1. Αρχική σελίδα (Home)

2. Τα δεδομένα (Data)
3. Το δομικό μοντέλο (Structural model)
4. Αρχικές τιμές (Initial estimates)
5. Εργασίες και στατιστικό μοντέλο (Statistical model and Tasks)
6. Σχόλια (Comments)
7. Αποτελέσματα (Results)
8. Γραφήματα (Plots)

Αναλυτικά:

1. Δυνατότητα επιλογής ανάμεσα σε τρεις πίνακες, υπολογισμό των παραμέτρων (estimation), εκτίμηση (assessment) και κατασκευή μοντέλου (model building). Στον υπολογισμό ακολουθούνται τα βήματα ανά πάνελ για προσδιορισμό των παραμέτρων. Στην εκτίμηση υπάρχει η δυνατότητα ορισμού εύρους τιμών για τις αρχικές τιμές των παραμέτρων, ώστε να υπολογιστούν με μεγαλύτερη ισχύ και σαφήνεια. Τέλος, στην κατασκευή μοντέλου υπάρχουν μέθοδοι για αυτόματη αναζήτηση συμμεταβλητών, συσχετίσεων ή σφαλμάτων. Παραδείγματος χάρη, η Cossac method για γρήγορο έλεγχο συμμεταβλητών, η Scm method για αργή αλλά πιο αξιόπιστη αναζήτηση συμμεταβλητών και η SAMBA method που κάνει πολύ γρήγορη αναζήτηση για σφάλματα, συσχετίσεις και συμμεταβλητές σε όλο το στατιστικό μοντέλο.
2. Δυνατότητα εξερεύνησης και οπτικοποίησης των δεδομένων μέσω του επικουρικού λογισμικού Datxplore. Εξαιτίας του παραστατικού τρόπου με τον οποίο εμφανίζονται, αναδεικνύονται σχέσεις μεταξύ των δεδομένων, διευκολύνεται η κατηγοριοποίηση τους, η σύγκριση τιμών και η ανίχνευση ανόδου ή πτώσης μέσα σε χρονικές περιόδους. ^[40]
3. Για την επιλογή δομικού μοντέλου υπάρχει ενσωματωμένη βιβλιοθήκη με πληθώρα μοντέλων, γραμμένων σε γλώσσα mlxtran. Διαφορετικά, όποιος το επιθυμεί μπορεί να γράψει δικό του μοντέλο στην ίδια γλώσσα, αφού είναι απλή.

Υπάρχει η δυνατότητα διαχείρισης πολλών τύπων δεδομένων, συνεχής, διακριτά, κατηγορικά (categorical) και άλλα, αφού υπάρχουν αντίστοιχες βιβλιοθήκες για επιλογή καταλληλότερου μοντέλου.

Αυτές επιγραμματικά είναι:

- PK :Φαρμακοκινητική βιβλιοθήκη
- PK double absorprtion: Φαρμακοκινητική διπλής απορρόφησης
- PD: Φαρμακοδυναμική
- PK/PD: Φαρμακοκινητική/Φαρμακοδυναμική συνδυασμός

- TMDD: (Target-Mediated Drug Disposition) Διάθεσης φαρμάκου με διαμεσολάβηση στόχου
- TTE (Time to event): Χρόνος μέχρι να γίνει ένα γεγονός (π.χ επιληψία, ίαση, θάνατος)
- Count: Υπολογισμένη βιβλιοθήκη (με την έννοια των μετρήσεων που παίρνουν διακριτές, ακέραιες, θετικές τιμές π.χ. η διωνυμική).

Θα αναπτυχθούν αναλυτικότερα η Φαρμακοκινητική βιβλιοθήκη και η Φαρμακοκινητική διπλής απορρόφησης αφού αυτές χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία. Η Φαρμακοκινητική περιλαμβάνει διαφορετικές οδούς χορήγησης (στιγμιαία ενδοφλέβια, σταθερής έγχυσης, πρωταξικής απορρόφησης, μηδενοταξικής απορρόφησης με ή χωρίς χρόνο καθυστέρησης (lag time)), διαφορετικό αριθμό διαμερισμάτων (1, 2 ή 3) και διαφορετικό τύπο απέκκρισης (γραμμικό ή Michaelis-Menten). Στην διπλής απορρόφησης περιλαμβάνονται όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί για δυο απορροφήσεις που μπορεί να συμβαίνουν σε ένα σκεύασμα. Μπορούν να χαρακτηριστούν σαν ταυτόχρονες ή διαδοχικές, ανεξάρτητες στον χρόνο εκκίνησης ή εξαρτώμενες η μια από την άλλη, με ή χωρίς lag time και με διαφορετική κινητική απορρόφησης. Γενικότερα η βιβλιοθήκη αυτή απλοποιεί την δοκιμή των υποψήφιων μοντέλων, είναι πολύ εύχρηστη και πρακτική. ^[42]

4. Δυνατότητα αυτόματου προσδιορισμού αρχικών τιμών σε περίπτωση που δεν υπάρχουν έτοιμες από την βιβλιογραφία ή απέχουν πολύ από την καλή περιγραφή των δεδομένων. Στο πάνελ αυτό παρουσιάζονται τα δεδομένα για τον κάθε ασθενή ξεχωριστά σε γράφημα συγκέντρωσης χρόνου. Με την προσθήκη τιμών για τις παραμέτρους δημιουργείται μια καμπύλη σύμφωνη με τις αξίες που εισήχθηκαν για την κάθε παράμετρο.
5. Σε αυτό το πάνελ μπορούν να επιλεγθούν διάφορες εργασίες, ξεχωριστά σε συνδυασμό ή και όλες μαζί. Συνοπτικά, η πρώτη εργασία αφορά τον υπολογισμό των πληθυσμιακών παραμέτρων μέσω SAEM. Η δεύτερη αφορά την εκτίμηση της πιο συχνής τιμής που παίρνει η κάθε παράμετρος για το κάθε άτομο ξεχωριστά (EBEs). Η τρίτη, υπολογίζει την εξαρτημένη κατανομή που ακολουθεί η κάθε παράμετρος για το καθένα προσωπικά λαμβάνοντας υπόψη τα υπάρχοντα δεδομένα για το συγκεκριμένο άτομο, τις τιμές των εκάστοτε συμμεταβλητών για αυτό το άτομο και το γεγονός πως ανήκει σε ένα πληθυσμό, επιπρόσθετα εκφράζει την αβεβαιότητα για τις τιμές των παραμέτρων αυτού του ασθενή και από την κατανομή αυτή αντλούνται τιμές για να αυξήσουν την πληροφορία που παρέχουν τα δεδομένα. Η τέταρτη εργασία, χρησιμεύει στην εκτίμηση της αβεβαιότητας των πληθυσμιακών παραμέτρων και στον προσδιορισμό διαστημάτων εμπιστοσύνης, υπολογίζεται στο Monolix μέσω Fisher Information Matrix. Η πέμπτη εργασία έχει να κάνει με την εκτίμηση της -2LL και των κριτηρίων πληροφορίας AIC και BIC. Τέλος, η έκτη εργασία αφορά την επιλογή των γραφημάτων που επιθυμούμε να παρουσιαστούν στα αποτελέσματα λ.χ. το VPC. Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί πως σε αυτό το σημείο γίνεται η επιλογή μοντέλου σφάλματος, ο προσδιορισμός της κατανομής που ακολουθούν οι παράμετροι (normal, log-normal, logit-normal, probit-normal), η προσθήκη διατομικής μεταβλητότητας και η επιλογή συσχετίσεων και συμμεταβλητών. ^[42]

6. Εισαγωγή σχόλιων
7. Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όσων αναφέρθηκαν παραπάνω, (δηλαδή πλυθησµιακές παράµετροι, η αβεβαιότητα των εκτιµήσεων, ατοµικές τιµές των παραµέτρων, τα κριτήρια πληροφορίας AIC, BIC) και τα αποτελέσµατα των τεστ που έτρεξε το πρόγραµµα για να ελέγξει την στατιστική ισχύ των αποτελεσµάτων. Γίνεται έλεγχος κανονικότητας των τυχαίων µεταβλητών και των ατοµικών παραµέτρων µε Shapiro-Wilk test, έλεγχος συσχέτισης αναµεταξύ των τυχαίων µεταβλητών (random effects) µε T-test. Έλεγχος ύπαρξης συµµεταβλητών µε Pearson correlation Test για συνεχής συµµεταβλητές (π.χ το βάρος) και ANOVA για διακριτές συµµεταβλητές (π.χ το φύλλο). Τέλος έλεγχος κανονικότητας και συµµετρικότητας γύρω από το µηδέν για τα υπολειπόµενα σφάλµατα.^[42]
8. Παρουσίαση των επιθυµητών γραφηµάτων (γραφήµατα καλής προσαρµογής, VPC και άλλα) µε εύκολο και γρήγορο τρόπο. Απλή επεξεργασία τους για να αντληθούν συµπεράσµατα.

Συνοψίζοντας τα παραπάνω, είναι φανερό πόσο εύχρηστο και βοηθητικό είναι το Monolix στην διάγνωση, επιλογή και αξιολόγηση των µοντέλων. Επιπρόσθετα είναι ένα εργαλείο που προάγει την παραγωγικότητα και την ποιότητα καθώς µειώνει τον χρόνο που θα αφιέρωνε ο αναλυτής για τον σχεδιάσµο γραφηµάτων και υπολογισµό αποτελεσµάτων, δίνοντας περισσότερο χρόνο για την εύρεση του ιδανικού µοντέλου.

Μια σειρά πακέτων που προσφέρονται από την Lixoft και µπορούν να αξιοποιηθούν επικουρικά για την µοντελοποίηση ή για να εκτελέσουν άλλες λειτουργίες είναι τα: Datxplore, Pkanalix, MLXplore, Simulx και Sycomore ^[40]

Datxplore: Λογισµικό που αναφέρθηκε κατά την επεξήγηση του πάνελ 2, συµβάλλει στην ορθότερη επεξεργασία των δεδοµένων.

Pkanalix: ένα παραστατικό και διαδραστικό λογισµικό για µη διαµερισµατική και διαµερισµατική ανάλυση

Mlxplore: παραστατικό και διαδραστικό λογισµικό για την ανακάλυψη, εξερεύνηση και οπτικοποίηση δύσκολων φαρµακοµετρικών µοντέλων µέσω της προσοµοίωσης. (Προσδιορίζοντας τις τιµές των παραµέτρων παρουσιάζεται η καµπύλη C-t, αυξοµειώνοντας τις τιµές των παραµέτρων φαίνεται ποιες επηρεάζουν το µοντέλο περισσότερο)

Simulx: Ένας ισχυρός και ευέλικτος προσοµοιωτής για φαρµακοµετρικές κλινικές δοκιµές (σε συνεργασία µε την γλώσσα R)

Sycomore: Λογισµικό που παρατίθενται τα επιθυµητά µοντέλα µε σκοπό την ευκολότερη σύγκριση τους.

2.ΜΕΘΟΔΟΙ

Παρακάτω ακολουθεί σειρά βημάτων για ανάπτυξη μοντέλου. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για το κάθε σκεύασμα.

- **Δεδομένα** – Μετατροπή τους σε μορφή κατάλληλη για ενσωμάτωση στο Monolix. Ύστερα, παρατήρηση και διερεύνηση με σκοπό την ανίχνευση κάποιας τάσης, την εντόπιση διαφορών ανά ασθενή και κατηγοριοποίηση εάν είναι απαραίτητο.
- **Δομικό μοντέλο** - Ανάζητηση δομικού μοντέλου από βιβλιογραφία. Δυνατότητα συγγραφής προσωπικού μοντέλου ή επιλογής έτοιμου δομικού μοντέλου από την βιβλιοθήκη του Monolix. Επιλογή οδού χορήγησης, χρόνου καθυστέρησης, κινητικής απορρόφησης, αριθμού διαμερισμάτων και κινητικής απομάκρυνσης .
- **Αρχικές τιμές** – Αναζήτηση αρχικών τιμών για τις παραμέτρους, ώστε να επιτευχθεί καλύτερη σύγκλιση
- **Μοντέλο σφάλματος** – Επιλογή βέλτιστου μοντέλου σφάλματος
- **Διατομική μεταβλητότητα** – Με ποιους τύπους εκφράζεται , με ποια κριτήρια έγινε η επιλογή της
- **Ενδοατομική μεταβλητότητα**
- **Συσχετίσεις** – Διερεύνηση ύπαρξης συσχετίσεων μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων
- **Συμμεταβλητές** – Διερεύνηση για ύπαρξη συμμεταβλητών.
- **Αξιολόγηση**

2.1 Δεδομένα

Αρχικά έγινε τροποποίηση των αρχείων που περιείχαν τα δεδομένα σε μορφή συμβατή με το λογισμικό του Monolix. Η μορφή αυτή είναι η comma separated values

Τα δεδομένα για την εργασία δόθηκαν από κλινική μελέτη της Pharmathen που πραγματοποιήθηκε στην Ινδία. Είναι μια ανοιχτή, ισορροπημένη, τυχαιοποιημένη, μονής δόσης (5 mg), τριων θεραπειών (Test, Advagraf, Envarsus), τριων ακολουθιών, τριων περιόδων, τριπλά διασταυρωτή, πιλοτική μελέτη Βιοϊσοδυναμίας της Τακρόλιμους σε υγιής ενήλικες κατά την διαπεπτική περίοδο.

Το υπό μελέτη προϊόν Test είναι βραδείας αποδέσμευσης 5 mg. Τα προϊόντα αναφοράς είναι το Envarsus 4 mg και 1 mg βραδείας αποδέσμευσης και το Advagraf 5 mg βραδείας αποδέσμευσης.

Σκοπός της κλινικής μελέτης η σύγκριση του ρυθμού και της έκτασης απορρόφησης του υπό μελέτη προϊόντος, καθώς και η παρακολούθηση του προφίλ ασφάλειας και ανεκτικότητας του φαρμάκου για τους εθελοντές.

Λήψη δεδομένων πραγματοποιήθηκε πριν την χορήγηση του φαρμάκου μέχρι και 144 ώρες. Αναλυτικά δειγματοληψία λάμβανε χώρα μια ώρα πριν την χορήγηση του σκευάσματος (0.00 hours) και ακόλουθα στις 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 4.50, 5.00, 5.50, 6.00, 6.50, 7.00, 7.50, 8.00, 9.00, 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00, 20.00, 24.00, 48.00, 72.00, 96.00, 120.00 και 144.00 ώρες μετά την χορήγηση του σκευάσματος σε κάθε περίοδο. Σε κάθε δειγματοληψία γινόταν λήψη 3 mL αίματος.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με επικυρωμένη βιοαναλυτική μέθοδο (Solid Phase Extraction) και η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με την χρήση του λογισμικού S.A.S version 9.4. Τα δείγματα αποθηκευόντουσαν στους $-78\pm 8^{\circ}\text{C}$ μέχρι να αναλυθούν.

Οι εθελοντές που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη ήταν 12. Όλοι υγιής άνδρες ηλικίας 18 εως 45 ετών με BMI 18.5-30.0 kg/m², και βάρος μεγαλύτερο από 45 kg. Πριν εγκριθούν σαν εθελοντές για την μελέτη, ελέγχθηκε πρώτα το ιατρικό ιστορικό τους, υποβλήθηκαν σε διάφορα τεστ και έγινε έλεγχος για κατάχρηση αλκοολ ή ναρκωτικών την μέρα της εξέτασης. Επιπλέον, δεν επιτρεπόταν η χρήση φαρμάκων ή καπνίσματος ή συμπληρωμάτων διατροφής ένα μήνα πριν την έναρξη της μελέτης μέχρι το τέλος της. Ανάμεσα σε κάθε περίοδο υπήρχε ένα διάστημα έκπλυσης 22 ημερών από την μέρα λήψης του φαρμάκου

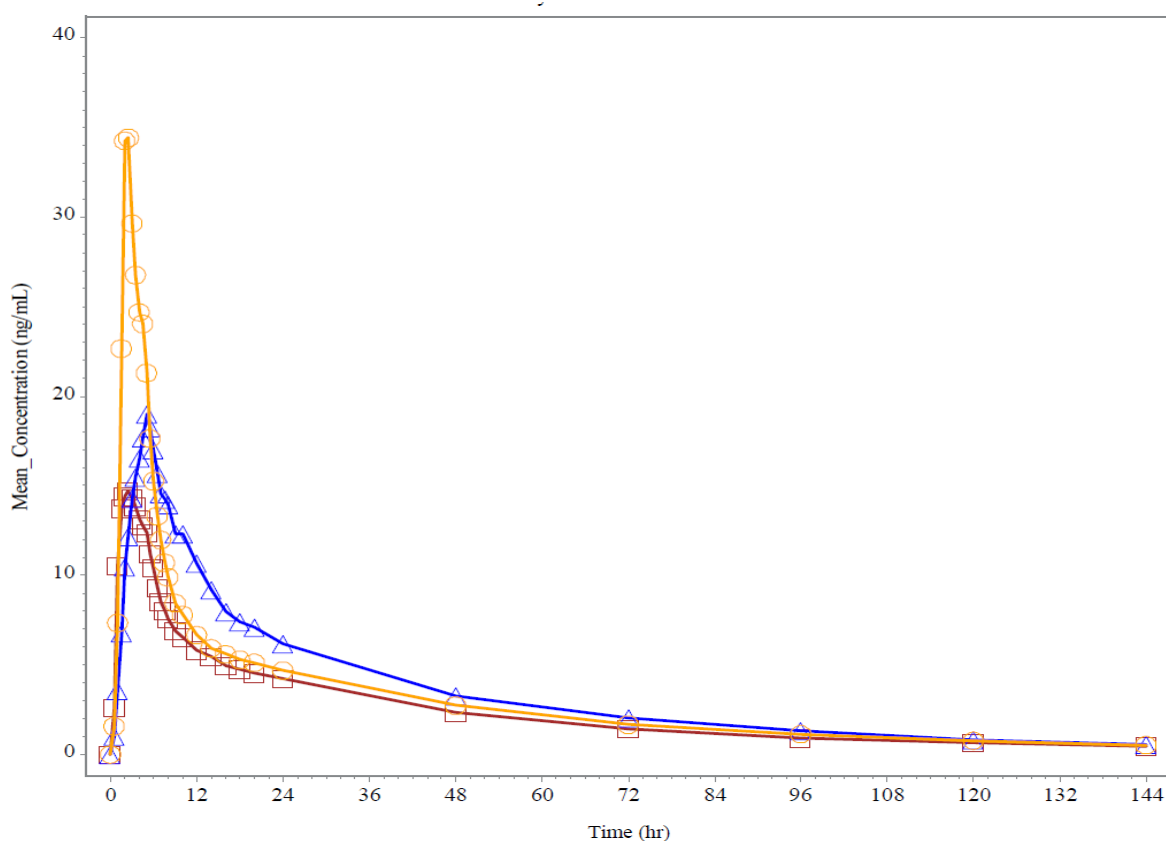
Ακολουθεί πίνακας με τα δημογραφικά στοιχεία των εθελοντών

Πίνακας 2 Δημογραφικά στοιχεία εθελόντων.

Demographic (N=12)	Age (Yrs)	Height (cm)	Weight (Kg)	BMI (Kg/m ²)
Mean	33.33	166.07	62.78	22.76

Standard Deviation	6.40	5.37	8.82	3.06
Median	34.50	167.30	61.60	22.60
Standard Error Mean	1.85	1.55	2.55	0.88
Maximum	43	176.00	81.30	28.90
Minimum	23	158.00	52.50	18.80

Τα τρία σκευάσματα έδειξαν διαφορετικό προφίλ σε απεικόνιση της συγκέντρωσης ως προς τον χρόνο. Ακολουθεί γράφημα C-t με την μέση συγκέντρωση στο πλάσμα από τους δώδεκα εθελοντές για το κάθε σκεύασμα.

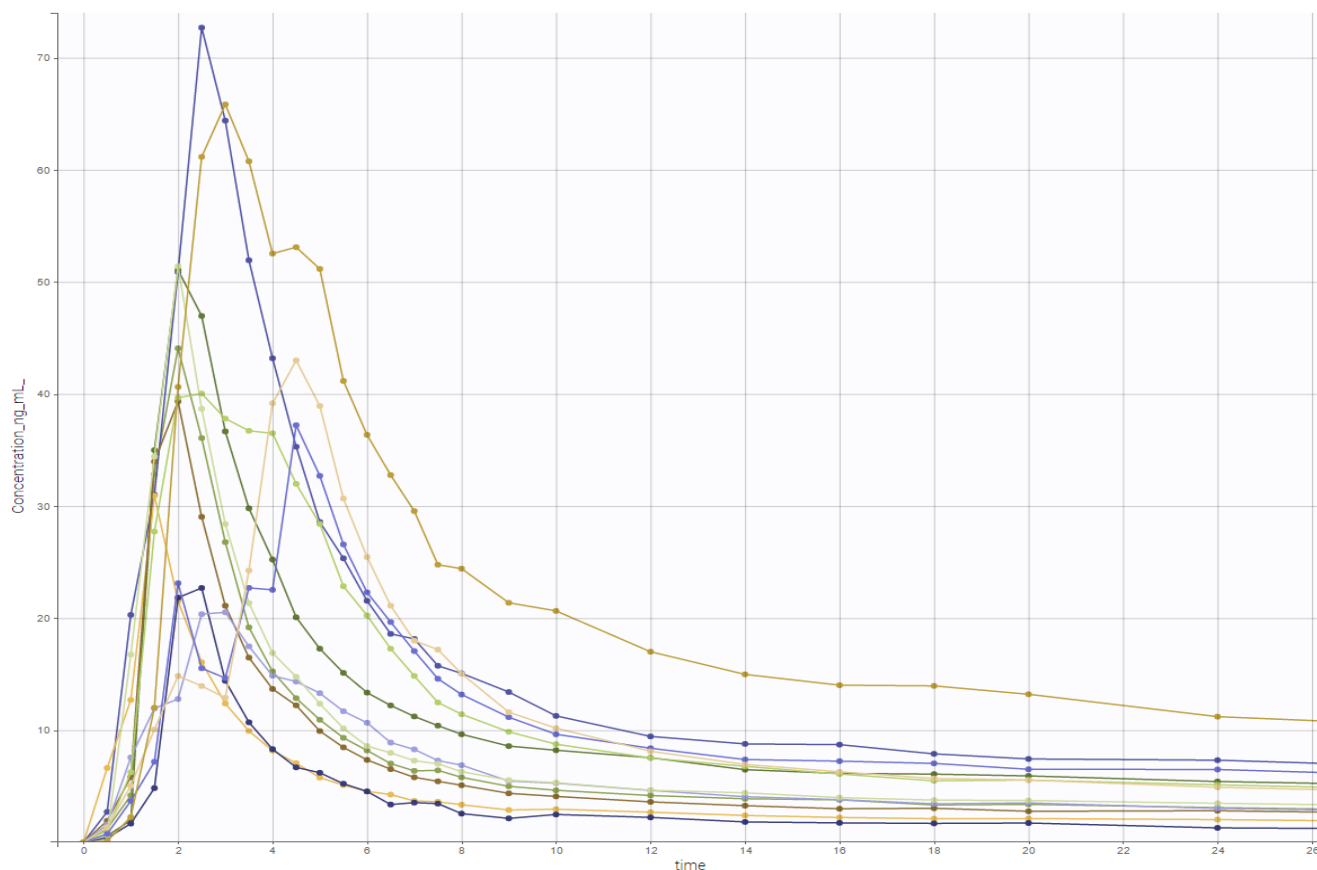


Εικόνα 7 Απεικόνιση μέσης συγκέντρωσης στο αίμα σε συνάρτηση με τον χρόνο. Η κίτρινη γραμμή είναι για το Test Formulation, η κόκκινη για το Advagraf και η μπλέ για το Envarsus

Πίνακας 3 Παρουσιάζονται οι μέσες τιμές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων για κάθε σκεύασμα.

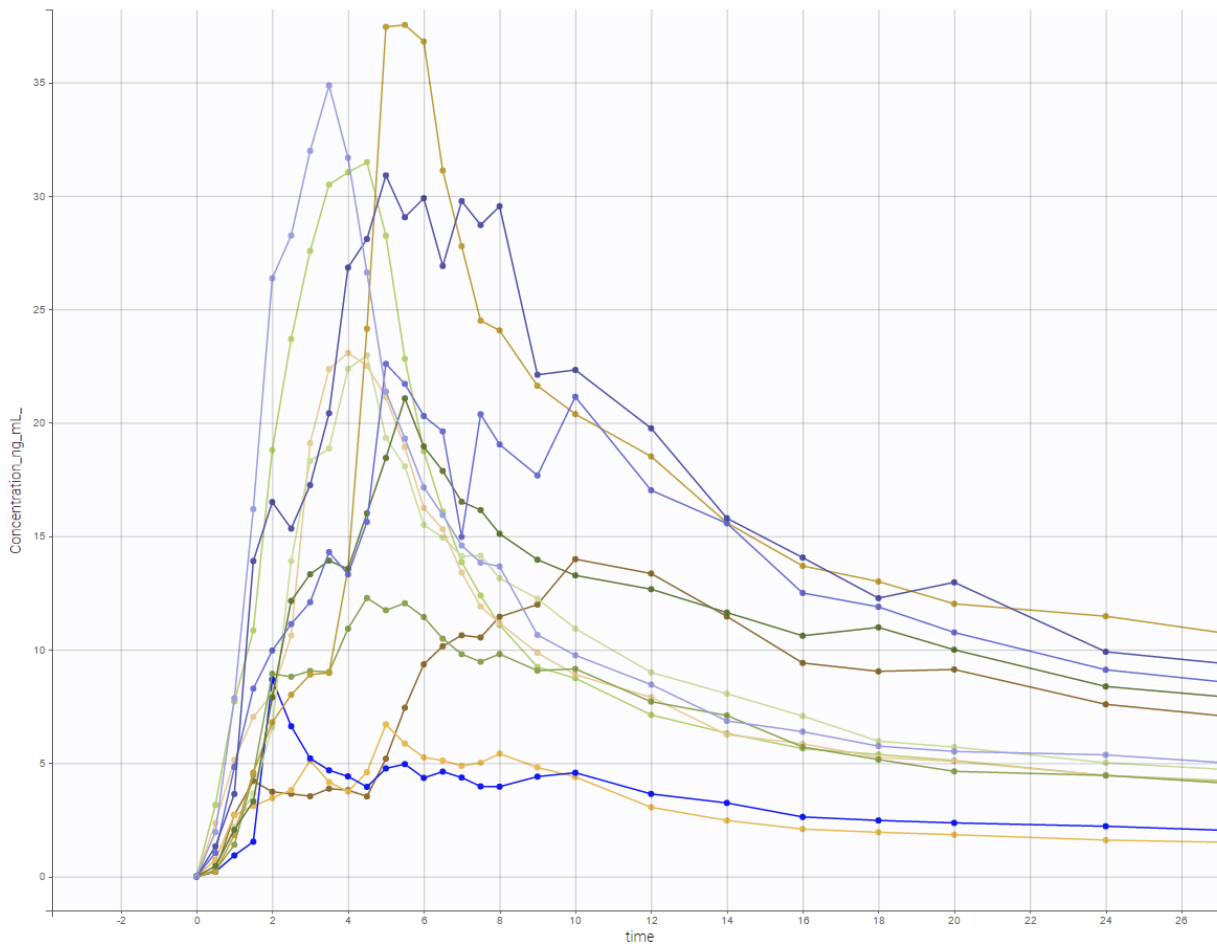
Φαρμακευτικό σκεύασμα	Γεωμετρική μέση τιμή C _{max} (ng/mL)	C _{max} (ng/mL) Μέση τιμή – (CV%)	Διάμεσος t _{max} (h) (min-max)	Μέση AUC t→∞ (h*ng/mL) (CV%)	Μέσο t _{1/2} (h) (CV%)
--------------------------	--	--	---	---------------------------------------	------------------------------------

Test Pharmathen	40.60	43.23-(35.95)	2.50 (1.50-4.50)	494.63 (61.32)	36.91 (18.21)
Envarsus	19.60	22.18- (46.08)	4.75 (2.00-10.00)	540.00 (50.02)	39.00 (15.00)
Advagraf	14.83	16.47- (43.63)	2.75 (1.00-5.00)	382.26 (47.46)	38.52 (17.41)



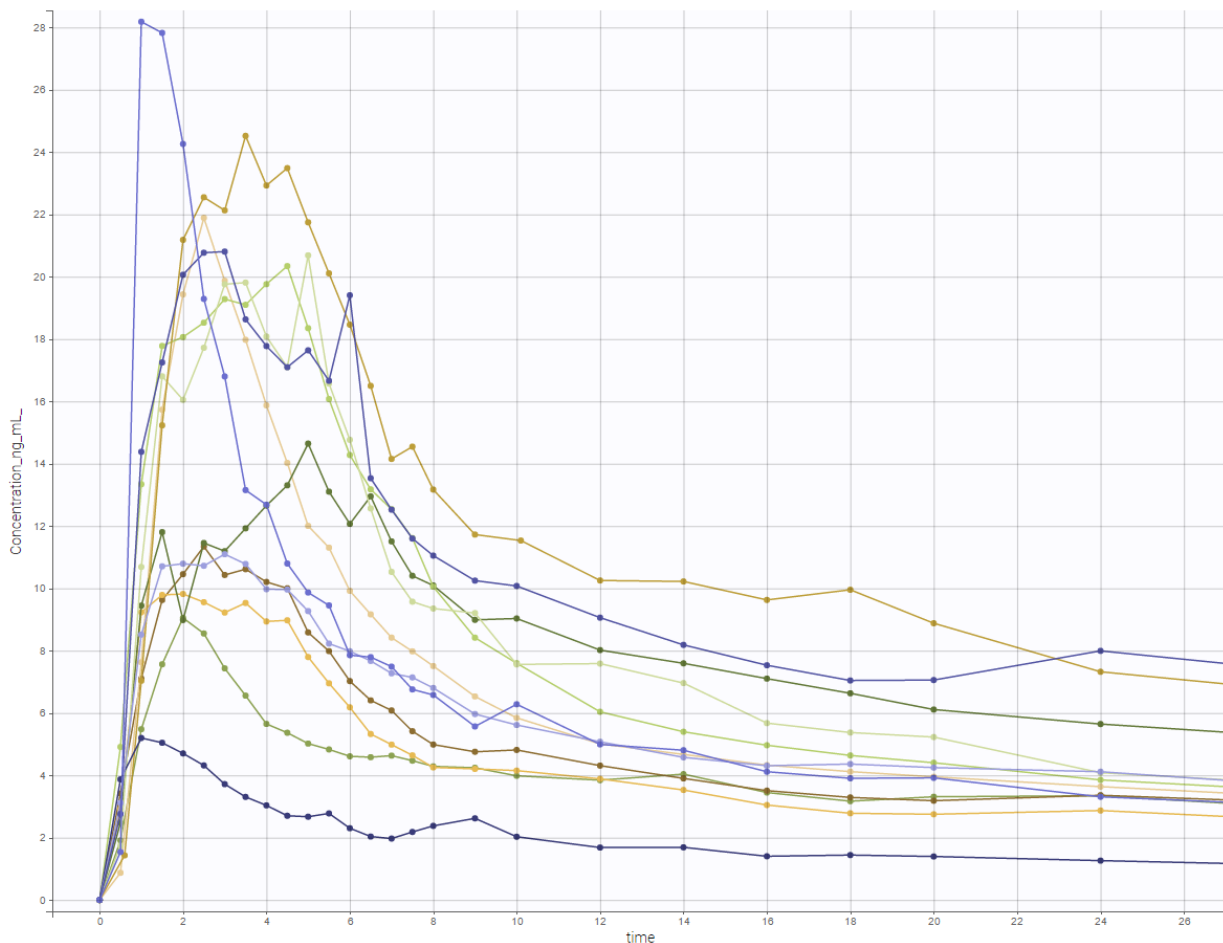
Εικόνα 8 Γράφημα C-t για Test formulation. Παρουσιάζονται οι καμπύλες για όλους τους εθελοντές, από $t=0$ h έως $t= 26$ h

Test formulation: Παρατηρούμε μεγάλη μεταβλητότητα στις τιμές, με την μέγιστη να φτάνει τα 72.7 ng/mL (εθελοντής 2) και την ελάχιστη στα 20.5 ng/mL. Από τους 12 εθελοντές οι 4 εμφανίζουν δυο κορυφές στην καμπύλη τους, ενίοτε και τρεις (με την τρίτη να μην είναι ιδιαίτερα εμφανής. Η δεύτερη κορυφή μπορεί να παρατηρηθεί πριν ή και μετά το C_{max} .



Εικόνα 9 Γράφημα C-t για Envarsus. Παρουσιάζονται οι καμπύλες για όλους τους εθελοντές από 0 h μέχρι 26 h.

Envarsus: Παρατηρείται μεγάλη μεταβλητότητα στην συγκέντρωση της τακρόλιμους με την μέγιστη να φτάνει τα 37.5 ng/mL και την ελάχιστη τα 6.7 ng/mL. Από τους 12 εθελοντές οι 8 εμφανίζουν πάνω από τρεις κορυφές (εώς επτά μαζί με το C_{max}), ενώ οι υπόλοιποι 4 εκτός του C_{max} παρουσιάσουν και μια δεύτερη η οποία δεν είναι πάντα ευδιάκριτη. Οι πολλαπλές κορυφές μπορούν να είναι πριν και μετά το C_{max}.



Εικόνα 10 Γράφημα C-t για Advagraf. Απεικονίζονται καμπύλες για όλους τους εθελοντές από 0 έως 26 ώρες.

Advagraf: Παρατηρούμε μεγάλη μεταβλητότητα για τις τιμές συγκέντρωσης της τακρόλιμους στο πλάσμα. Μέγιστη τιμή 28.2 ng/mL , ελάχιστη 5.2 ng/mL. Από τις 12 καμπύλες οι 11 έχουν από μια έως τέσσερις κορυφές εκτός της C_{max} , μια μόνο καμπύλη είναι χωρίς κορυφές. Οι πολλαπλές κορυφές είναι εκατέρωθεν του C_{max}.

Εν κατακλείδι, φαίνεται πως τα σκευάσματα Envarsus και Advagraf παρουσιάζουν πιο συχνά πάνω από μια κορυφές συγκριτικά με το Test, με το Envarsus να εμφανίζει τις περισσότερες. Οι κορυφές πιθανόν να εμφανίζονται λόγω της τεχνολογίας των σκευασμάτων (πάνω από μια κινητική απορρόφησης), του εντεροηπατικού φαινομένου ή και για άλλους λόγους. Επίσης, από τα τρία σκευάσματα το Envarsus έχει το μεγαλύτερο t_{max} και το Test το μεγαλύτερο C_{max}. Τέλος, αυτό που είναι κοινό και στα τρία σκευάσματα είναι η μεγάλη μεταβλητότητα στις συγκεντρώσεις της τακρόλιμους στο αίμα.

2.2 Αρχικές τιμές

Ο προσδιορισμός αρχικών τιμών είναι σημαντικός, καθώς συμβάλλει στην ταχύτερη επίτευξη σύγκλισης. Αυξάνει την σιγουριά ότι έχει ανιχνευθεί σωστά το τοπικό ελάχιστο, και κατά συνέπεια ότι επιλέχθηκε για την κάθε παράμετρο η τιμή με την μεγαλύτερη πιθανοφάνεια. Στην εργασία πραγματοποιήθηκε αναζήτηση αρχικών τιμών από την βιβλιογραφία και έγινε χρήση της αυτόματης αναζήτησης αρχικών τιμών που παρέχεται από το πρόγραμμα. Σε πολλές περιπτώσεις οι τιμές από την βιβλιογραφία δεν ταιριάζαν για την περιγραφή των δεδομένων. Τότε, γινόταν μια πρόχειρη αναζήτηση αρχικών τιμών, εκτελούταν ένα γρήγορο τρέξιμο του μοντέλου για προσδιορισμό των πληθυσμιακών παραμέτρων (χρήση μόνο του πρώτου task) και τα αποτελέσματα που προέκυπταν χρησιμοποιούνταν σαν αρχικές τιμές για τα υπόλοιπα «τρεξίματα». Σε περίπλοκα μοντέλα (π.χ. διπλής απορρόφησης) η ενέργεια της «αυτόματης αναζήτησης» δεν είναι διαθέσιμη. Εκεί, έγινε αντικατάσταση των τιμών για κάποιες παραμέτρους από τα προηγούμενα μοντέλα ενώ για τις υπόλοιπες ακολούθησαν δοκιμές με αυξομείωση των τιμών, παρακολουθώντας ποιες κάνουν καμπύλη τέτοια που να πλησιάζει όσο το δυνατόν περισσότερο τα δεδομένα. Η παραπάνω διαδικασία εκτός του Monolix έγινε και με την βοήθεια του Mlxlore.

2.3 Δομικό μοντέλο

Για δομικό μοντέλο μπορεί να επιλεγθεί ένα από τα διαθέσιμα της βιβλιοθήκης, διαφορετικά, ο αναλυτής μπορεί να γράψει ένα δικό του σε γλώσσα mlxtran. ^[42] Καθώς μελετάμε την Φαρμακοκινητική των τριών σκευασμάτων σε από του στόματος χορήγηση θα πρέπει να προσδιοριστούν η κινητική της απορρόφησης, η πιθανή ύπαρξη καθυστέρησης, ο αριθμός των διαμερισμάτων και η κινητική της απομάκρυνσης. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, αντλήθηκαν στοιχεία από την βιβλιογραφία μαζί με τα δεδομένα και δοκιμάστηκαν σε διαφορετικά μοντέλα.

Σχετικά με την κινητική της τακρόλιμους έχει αναφερθεί ότι μπορεί να ακολουθεί όλων των ειδών τα μοντέλα.^[9,43-45] Το μονοδιαμερισματικό επικρατούσε σε μελέτες που είτε υπήρχαν λίγα δεδομένα, είτε προερχόντουσαν από δείγματα που λήφθηκαν πριν την χορήγηση της επόμενης δόσης (trough levels). Αντίθετα, το δι- και τρι διαμερισματικό παρουσιάστηκαν σε έρευνες που είχαν μεγάλο πλήθος δεδομένων, με το διδιαμερισματικό να έχει την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης. Αμφότερα, έχουν φυσική σημασία για δυο λόγους. Πρώτον, η τακρόλιμους σαν λιπόφιλο μόριο μπορεί να διεισδύσει σε ιστούς με πολύ μικρό ρυθμό απομάκρυνσης, π.χ λίπος. Δεύτερον, η κατανομή και η ισχυρή πρόσδεση της στα ερυθροκύτταρα δυνητικά δημιουργεί ένα επιπλέον διαμέρισμα. Επιπρόσθετα, ελέγχθηκε πόσες κλίσεις παρουσιάζονται στα δεδομένα μετά από μετασχηματισμό του άξονα $y'y$ σε $\text{Log}(y'y)$ (LogC-t), για παρουσία δυο κλίσεων και παραπάνω έχουμε σίγουρα πολυδιαμερισματικό μοντέλο^[46]. Τα παραπάνω οδήγησαν στην απόρριψη του

μονοδιαμερισματικού και την αναζήτηση βέλτιστου μοντέλου ανάμεσα στο διδιαμερισματικό και το τριδιαμερισματικό.

Για την εισαγωγή «καθυστερήσης» στην έναρξη της απορρόφησης παρατηρήθηκαν τα δεδομένα για τους αρχικούς χρόνους εμφάνισης φαρμάκου στην κυκλοφορία. Εάν εμφανιζόντουσαν χαμηλές τιμές στην συγκέντρωση για κάποιο χρονικό διάστημα και μετά ξαφνική άνοδος, θεωρείτο ένδειξη για εισαγωγή καθυστέρησης. Οι διαθέσιμες επιλογές στην βιβλιοθήκη είναι α) χωρίς καθυστέρηση (no delay), β) με καθυστέρηση (lag time), γ) με διέλευση από σειρά διαμερισμάτων (transit compartments). Οι τρεις επιλογές δοκιμάζονταν στο υποψήφιο μοντέλο. Έπειτα, συγκρίνονταν οι τιμές των $-2LL$, AIC, BIC, οι εικόνες των VPC και των γραφημάτων καλής προσαρμογής. Συγκεκριμένα, στο γράφημα Observed vs Predicted με μετασχηματισμό των αξόνων σε λογαριθμική κλίμακα, ύπαρξη απόκλισης σηματοδοτεί την προσθήκη καθυστέρησης. ^[46]

Αναφορικά με την κινητική απορρόφησης, οι διαθέσιμες επιλογές είναι η μηδενοταξική απορρόφηση και η πρωτοταξική. Στην βιβλιογραφία η πρωτοταξική απορρόφηση επικρατεί ^[9, 43,45, 47], παραταύτα, σε σκευάσματα παρατεταμένης αποδέσμευσης η μηδενοταξική απορρόφηση είναι αντίστοιχα συχνή. Για αυτόν τον λόγο εξετάστηκαν και τα δυο ενδεχόμενα. Αυτό επιτεύχθηκε κρατώντας σταθερές τις υπόλοιπες επιλογές για να φανεί η επίδραση της κινητικής απορρόφησης. Επιλέχθηκε το μοντέλο με την μικρότερη τιμή $-2LL$, AIC, BIC την καλύτερη εικόνα γραφημάτων καλής προσαρμογής και VPC. Επίσης, γινόταν σύγκριση στις τιμές των παραμέτρων και των σφαλμάτων τους.

Σχετικά με την απομάκρυνση, μπορούμε να διαλέξουμε ανάμεσα στην γραμμική κινητική και την Michaelis Menten. Σε όλες τις δημοσιεύσεις κινητική εκλογής ήταν η γραμμική. Επιπρόσθετα, δεν υπάρχουν δεδομένα από διαφορετικές δόσεις για να γινόταν αντιληπτή η Michaelis Menten. Ωστόσο, διερευνήθηκαν και οι δυο περιπτώσεις για σιγουριά. Αυτό έγινε μεταβάλλοντας μόνο την απομάκρυνση για το εκάστοτε μοντέλο, και συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που προκύπτουν. Η διαδικασία επαναληφθηκε αρκετές φορές κατά την διάρκεια αναζήτησης μοντέλου.

Γενικότερα, εξετάστηκαν πολλοί συνδυασμοί για το κάθε σκεύασμα μέχρι να καταλήξουμε σε αποτέλεσμα. Σαν κύρια αρχή ήταν η εισαγωγή των πιο απίθανων επιλογών στο δομικό μοντέλο και η μεταβολή τους με ένα παράγοντα την φορά, για να φανεί ποιος είναι αυτός που προκαλεί βελτίωση. Σαν βελτίωση θεωρείτο η μείωση των κριτηρίων πληροφορίας, η καλύτερη εικόνα VPC και γραφημάτων καλής προσαρμογής, όπως επίσης, η ικανότητα επιτυχούς υπολογισμού των σφαλμάτων εκτίμησης των παραμέτρων και μείωσης τους. Για επαλήθευση, σχεδιάστηκαν και ελέγχθηκαν όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί δομικών μοντέλων. Στο τέλος, έχοντας ελαττώσει τα υποψήφια μοντέλα εφαρμόστηκε bootstrap για το καθένα από αυτά με σκοπό να διακριθεί το καλύτερο.

Η παρουσία πολλαπλών κορυφών στα δεδομένα ώθησε στην αναζήτηση πολυπλοκότερου δομικού μοντέλου. Η εμφάνιση πολλαπλών κορυφών μπορεί να οφείλεται σε ^[48] :

- 1) Περιορισμένη απορρόφηση λόγω χαμηλής διαλυτότητας
- 2) Επιπλοκές στο ανώτερο τμήμα του λεπτού εντέρου
- 3) Παρατεταμένη αποδέσμευση
- 4) Εντεροηπατική κυκλοφορία
- 5) Καθυστερημένη γαστρική εκκένωση
- 6) Μεταβλητότητα στην απορρόφηση κατά μήκος του Γαστρεντερικού σωλήνα
- 7) Επιδράσεις από χειρουργείο ή αναισθησία

Δεδομένου ότι η τακρόλιμος πληρεί τα 1-6, εξετάστηκαν δομικά μοντέλα από την βιβλιοθήκη της διπλής απορρόφησης. Επίσης, έγινε προσπάθεια συγγραφής μοντέλου που να περιγράφει αποκλειστικά την εντεροηπατική κυκλοφορία.

Για την διπλή απορρόφηση, προσδιορίζεται η κινητική της πρώτης απορρόφησης, η κινητική της δεύτερης, αν συμβαίνουν παράλληλα, διαδοχικά, τι χρόνο καθυστέρησης έχει κάθε μια και με κοινό τρόπο περιγράφεται η κατανομή σε διαμερίσματα και η απομάκρυνση. Υπάρχουν πάρα πολλοί δυνατοί συνδυασμοί. Για αρχή, εισάγονταν το πιο κατάλληλο μοντέλο από την απλή απορρόφηση και μεταβαλόταν η πρώτη ή η δεύτερη απορρόφηση αντίστοιχα. Αργότερα, καθώς δεν φάνηκε να βοηθάει αυτό το σύστημα δοκιμάστηκαν όλοι οι συνδυασμοί για γραμμική απομάκρυνση με δι- ή τρι- διαμερισματικό μοντέλο. Η επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου έγινε σύμφωνα με τον τρόπο που αναφέρθηκε νωρίτερα.

Για την συγγραφή μοντέλου αναζητήθηκαν από άλλες έρευνες με ποιο τρόπο περιγράφεται η εντεροηπατική κυκλοφορία ^[49,50] (με την εισαγωγή πρόσθετου διαμερίσματος για την χοληδόχο κύστη, που είτε λειτουργεί σαν απλό διαμέρισμα, είτε εκκρινεί μια φορά με χρονοκαθυστερήση, , είτε ανοιγοκλείνει σαν διακόπτης). Επίσης μελετήθηκε το πρόγραμμα διατροφής των ασθενών για τις ημέρες παραμονής στο νοσοκομείο για να διασταυρωθούν οι κορυφές που παρατηρούνται με τις ώρες φαγητού. Τα μοντέλα που φτιάχτηκαν αξιολογήθηκαν και συγκρίθηκαν με τα υπόλοιπα.

2.4 Μοντέλο σφάλματος

Υπάρχουν τρία είδη μοντέλων που περιγράφουν την υπόλοιπη μεταβλητότητα. Το προσθετικό, το αναλογικό και το συνδυαστικό. ^[51,32]

- Για το προσθετικό το σφάλμα μένει σταθερό σε όλο το εύρος των προβλεπόμενων συγκεντρώσεων.

$$C_j = f(\xi, t_j) + \varepsilon_j.$$

- Για το *αναλογικό* το σφάλμα είναι ανάλογο της προβλεπόμενης από το μοντέλο τιμής της συγκέντρωσης. Για μεγάλες τιμές έχω μεγάλο σφάλμα και για μικρές μικρότερο. $C_j = f(\zeta, t_j) * (1 + \varepsilon_j)$ ή $C_j = f(\zeta, t_j) * \exp(\varepsilon_j)$.
- Για το *συνδυαστικό* το σφάλμα είναι συνδυασμός του αθροιστικού και του αναλογικού σφάλματος. $C_j = f(\zeta, t_j) * (1 + \varepsilon_{1j}) + \varepsilon_{2j}$

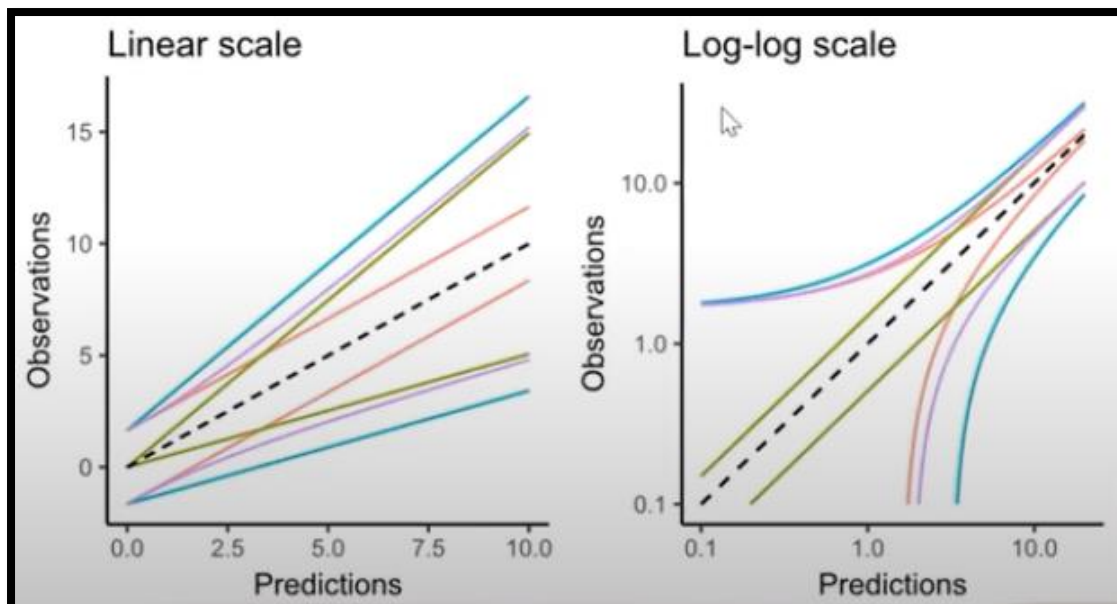
Κατανομή μοντέλου σφάλματος:

Normal: είναι αυτή που χρησιμοποιείται ευρέως, με μέση τιμή 0 και διακύμανση σ^2 ή s^2 (ανάλογα αν έχω πληθυσμό ή δείγμα).

Log-normal: χρησιμεύει σε περίπτωση που όλα τα σφάλματα θέλουμε να έχουν θετική τιμή.

Logit-normal: χρησιμεύει σε περίπτωση που θέλουμε να δεσμεύσουμε τα σφάλματα ανάμεσα σε δυο τιμές (π.χ. 0 και 1).

Για την επιλογή μοντέλου σφάλματος αρχικά επιλέγεται το συνδυαστικό μοντέλο. Στη συνέχεια, ανάλογα τα αποτελέσματα κρίνουμε για το τι είναι καταλληλότερο. Αν μια από τις παραμέτρους λαμβάνει πολύ μικρή τιμή ή εμφανίζει πολύ μεγάλο σφάλμα εκτίμησης τότε αυτό είναι ένδειξη ότι το μοντέλο μας είναι ή προσθετικό ή αναλογικό. Επίσης, ένας άλλος δείκτης για να ελέγξουμε αν κάναμε σωστή επιλογή μοντέλου είναι στο γράφημα Obs vs Pred. Το 90% των εκτιμήσεων να είναι συμμετρικό ως προς την ταυτοτική ευθεία το σχήμα της οποίας καθορίζεται από το αντίστοιχο μοντέλο σφάλματος (εικόνα 11), εναλλακτικά, περιμένουμε σε log-log κλίμακα όλες οι εκτιμήσεις να βρίσκονται εντός των 90% διαστημάτων εμπιστοσύνης^[52]. Το παραπάνω ισχύει όταν η διαφορά ανάμεσα σε προβλεπόμενες τιμές και δεδομένα οφείλεται μόνο στο υπολειπόμενο σφάλμα. Τέλος, για το μοντέλο σφάλματος είναι πολύ χρήσιμο να δοκιμαστούν οι τρεις δυνατές επιλογές και να συγκριθούν οι τιμές των -2LL, AIC ή BIC, αυτό με την χαμηλότερη τιμή θα είναι και καλύτερο.



Εικόνα 11 Απεικονίζονται τα 90% διαστήματα εμπιστοσύνης για κάθε διαφορετικό σφάλμα σε ένα δείγμα. Η ροζ γραμμή αντιπροσωπεύει το προσθετικό σφάλμα, η πράσινη το αναλογικό, η μπλε το συνδυαστικό 1 και η μωβ το συνδυαστικό 2 στο Monolix.

Όσον αφορά την κατανομή του σφάλματος, μπορεί να ελεγχθεί από τα τεστ συμμετρίας των σφαλμάτων. [53]

2.5 Διατομική μεταβλητότητα

Η διατομική μεταβλητότητα είναι η μεταβλητότητα που εμφανίζει η τιμή μιας παραμέτρου για τον κάθε ασθενή και εκφράζεται σαν η (eta) που ακολουθεί κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση ω^2 . Στο Monolix υπάρχει η δυνατότητα αφαίρεσης ή προσθήκης διατομικής μεταβλητότητας για μια παράμετρο, ανάλογα με το αν αυτή παρουσιάζει μεταβλητότητα. Σε περίπτωση εισαγωγής επιλέγεται μια από τις παρακάτω κατανομές για την παράμετρο [54]

- Normal: τα eta ακολουθούν κανονική κατανομή και η παράμετρος παίρνει θετικές και αρνητικές τιμές. Μαθηματικός τύπος : $E_0 = E_{0pop} + \eta_{E0}$
- Log-normal: τα λογαριθμημένα eta ακολουθούν κανονική τιμή. Απαντάται συχνά στην φαρμακοκινητική διότι οι φυσικές παράμετροι (Cl, V, ka) λαμβάνουν μόνο θετικές τιμές, άρα και τα eta πρέπει να είναι θετικά. Οι παράμετροι ακολουθούν ασύμμετρη κατανομή. Μαθηματικός τύπος : $Log(V) = Log(V_{pop}) + \eta_v$ ή $V = V_{pop} * e^{\eta_v}$
- Logit-normal: μοιάζει με την Log-normal, μόνο που χρησιμοποιείται για παραμέτρους που εκφράζουν λόγο και παίρνουν τιμές από 0 έως 1 όπως για παράδειγμα η βιοδιαθεσιμότητα. Μαθηματικός τύπος: $Logit(F) = Logit(F_{pop}) + \eta_F$
- Probit-normal: μοιάζει με την logit-normal. Μαθηματικός τύπος: $Probit(F) = Probit(F_{pop}) + \eta_F$

Ο έλεγχος για την καταλληλότητα της κατανομής γίνεται με δυο τρόπους. Στον πρώτο, παρακολουθούμε την τιμή του p-value για το Shapiro-Wilk test στα test results. Σε p-value μικρότερο του 0.05 απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση και υποδηλώνεται ότι πρέπει να επιλέξουμε άλλο τύπο κατανομής για την παραμετρό μας. Στον δεύτερο, παρατηρούμε το γράφημα κατανομής των ατομικών παραμέτρων (συγκεκριμένα των εμπειρικών μπασιανών εκτιμήσεων). Όταν το σχήμα που προκύπτει ταιριάζει με αυτό της κατανομής που έχουμε επιλέξει, τότε έχουμε διαλέξει σωστά, διαφορετικά πρέπει να αλλάξει. Επιπρόσθετα, από το ίδιο γράφημα μπορούμε να δούμε και το η-shrinkage. Το η-shrinkage δείχνει πόσο τα δεδομένα είναι διεσπαρμένα ή τείνουν προς την μέση πληθυσμιακή τιμή. Για δεδομένα που είναι ελλιπή σε πληροφορία το η-shrinkage είναι μεγάλο και οι ατομικές εκτιμήσεις αδυνατώντας να υπολογιστούν, παίρνουν την πληθυσμιακή τιμή. Το η-shrinkage εκτιμάται από τον τύπο $\eta_{sh} = 1 - (SD \hat{\eta} / \omega)$, όσο μικρότερο τόσο το καλύτερο. Επιπρόσθετα, στρεβλώνει τα συμπεράσματα που αντλούμε από ένα γράφημα, καθώς υποκρύπτονται σχέσεις μεταξύ των παραμέτρων.^[55] Το πρόβλημα αυτό λύνεται στο Monolix με επιλογή απεικόνισης των τιμών των παραμέτρων από την προσωπική κατανομή που εκτιμάται για τον κάθε εθελοντή, έτσι τα δεδομένα γίνονται πιο περιεκτικά σε πληροφορία ρίχνοντας το shrinkage, και τα γραφήματα συσχέτισης παραμέτρων πιο αξιόπιστα.

2.6 Ενδοατομική μεταβλητότητα

Δεν έγινε εκτίμηση της ενδοατομικής μεταβλητότητας διότι στους εθελοντές χορηγήθηκε μία δόση των 5 mg από το κάθε σκεύασμα και ανάμεσα στις χορηγήσεις μεσολαβούσε περίοδος έκπλυσης 22 ημερών.

2.7 Συσχετίσεις

Διερεύνηση συσχετίσεων έγινε στα υποψήφια τελικά δομικά μοντέλα για το κάθε σκεύασμα. Για αρχή, στο κάθε μοντέλο, παρατηρούνταν το γράφημα συσχέτισης μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων (correlation between random effects). Ειδικότερα, επιλέγονταν η απεικόνιση σύμφωνα με την εξαρτημένη κατανομή των παραμέτρων (conditional distribution) ώστε να γίνει φανερή η ύπαρξη συσχέτισης, και να μην επηρεαστεί το αποτέλεσμα από την παρουσία shrinkage. Σε όσα γραφήματα οι παράμετροι είχαν κλίση καμπύλης συσχέτισης μεγαλύτερη από 0,3 θεωρείτο ότι εμφανίζουν συσχέτιση και καταγράφονταν για δοκιμή στο μοντέλο. Ύστερα, ελέγχονταν η τιμή του p-value από το T-test που εφαρμόζεται για να ελέγξει την στατιστική ισχύ συσχέτισης μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων. Τιμή του p-value μικρότερη του 0.05 σημαίνει μικρή πιθανότητα οι παράμετροι να είναι ανεξάρτητες, συνεπώς καταγράφονταν και εδώ οι παράμετροι με τιμή <0.05 ^[61]. Αργότερα, έγινε εισαγωγή των παραμέτρων μεμονωμένα στο μοντέλο. Μετά από αυτό, εξετάζονταν η τιμή του p-value, της -2LL/AIC/BIC, η εικόνα του VPC, η τιμή των παραμέτρων και των RSE% (Relative Standard Error). Η εισαγωγή ήταν επιτυχής, όταν το p-value αυξανόταν σε τιμή (το θεμιτό ήταν να πλησιάζει το 1), το OFV έπεφτε σε τιμή, βελτιωνόταν η εικόνα του VPC και οι τιμές των παραμέτρων είχαν μικρότερο RSE. Καθώς, η αβεβαιότητα των εκτιμήσεων δεν ήταν πάντα εφικτό να υπολογιστεί, μια συσχέτιση θεωρείτο καλή όταν η προσθήκη της βοηθούσε στην εκτίμηση των RSE ή σταθεροποιούσε τα αποτελέσματα των

παραμέτρων (πτώση RSE για όλες τις παραμέτρους). Επιπρόσθετα, ελέγχονταν η φυσική σημασία ύπαρξης συσχέτισης. Αν κάποιες παράμετροι έδειχναν να συσχετίζονται όλες μαζί, δοκιμάζονταν σε συνδυασμό και αξιολογούνταν όσα αναφέρθηκαν παραπάνω για να φανεί αν βελτιώνουν το μοντέλο. Επίσης, αλλάζονταν σειρά προσθήκης συσχετίσεων ή αφαιρούνταν με τυχαία σειρά για να ελεγχθεί ξανά ποιες από αυτές έχουν πραγματική σημασία. Για τα καλύτερα μοντέλα πραγματοποιήθηκε bootstrap και συγκρίθηκε με το bootstrap του απλού δομικού μοντέλου. Τελικά, το βέλτιστο μοντέλο επιλέχθηκε έτσι ώστε :

- οι συσχετίσεις να έχουν φυσική σημασία,
- οι τιμές bootstrap να είναι παρεμφερής με αυτές του Monolix
- να είναι ικανό να υπολογίζει την τυπική απόκλιση στην πλειονότητα των παραμέτρων
- να έχει την καλύτερη εμφάνιση VPC και observed vs predicted plot
- την χαμηλότερη τιμή OFV/AIC/BIC.

2.8 Συμμεταβλητές

Οι συμμεταβλητές είναι παράγοντες που ερμηνεύουν μερικώς την διατομική μεταβλητότητα. Απλοϊκά θα μπορούσαμε να πούμε ότι αναλαμβάνουν κάποιο μερίδιο ευθύνης για την διαφορά στις τιμές μεταξύ των παραμέτρων και εισάγονται στο μοντέλο αφού έχουμε επιλέξει δομικό μοντέλο και συσχετίσεις. Πρώτου πραγματοποιηθεί έλεγχος για παρουσία συμμεταβλητών από τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών (ύψος, βάρος), διερευνήθηκε στην βιβλιογραφία ποιοι παράγοντες έχουν χρησιμοποιηθεί ή ήταν υποψηφίοι σαν συμμεταβλητές σε άλλα μοντέλα. Τέτοιοι είναι οι ημέρες μετά το χειρουργείο (χρόνος μετά την μεταμόσχευση), η δόση συνοδών φαρμάκων, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), το βάρος, ο αιματοκρίτης, το αλληλόμορφο CYP3A5, η χολερυθρίνη, η κάθαρση κρεατινίνης και το AST που είναι δείκτης άμεσης βλάβης του ήπατος ^[27,43,44,47]. Καθώς στα δεδομένα μας υπήρχαν στοιχεία για το βάρος και το BMI δόθηκε έμφαση σε αυτούς τους δυο παράγοντες χωρίς όμως αυτό να σημαίνει ότι δεν εξετάστηκαν και οι υπόλοιποι με προσοχή για εισαγωγή στο μοντέλο. Αντίστοιχα με την εύρεση συσχετίσεων για την δοκιμή συμμεταβλητών μελετήθηκαν τα γραφήματα καλής προσαρμογής και η τιμή του p-value στο Pearson correlation test ή την ANOVA ^[61]. Στα γραφήματα καλής προσαρμογής εξετάστηκε το γράφημα των ατομικών παραμέτρων σε σχέση με τις συμμεταβλητές. Αφού έγινε απεικόνιση με τιμές από την εξαρτημένη κατανομή για να μην παραπλανήσει το shrinkage, δοκιμάστηκαν στο μοντέλο οι παράγοντες με συντελεστή συσχέτισης ψηλότερο του 0,3. Στα αποτελέσματα των στατιστικών τεστ, δοκιμάστηκαν σαν συμμεταβλητές οι παράγοντες με τιμή p-value μικρότερη του 0,05. Για παραμονή ή απόρριψη συμμεταβλητής στο μοντέλο παρακολούθηθηκαν τα εξής :

α) πτώση της OFV, AIC ή BIC μεγαλύτερη από 3.84 για διάστημα εμπιστοσύνης 95% και βαθμό ελευθερίας ίσο με 1 (αυτό διότι, στην κατανομή χ^2 που εκφράζει την διαφορά των -2LL για το μοντέλο αναφοράς και το

μοντέλο δοκιμής για το συγκεκριμένο επίπεδο σημαντικότητας και βαθμό ελευθερίας αυτή είναι η κρίσιμη τιμή).

β) μείωση της διατομικής μεταβλητότητας για την παράμετρο που εισάγεται η συμμεταβλητή, καθώς θα πρέπει η προσθήκη της να «εξηγεί» τμήμα της μεταβλητότητας.

γ) θα πρέπει να γίνει παράλληλη στον χ^2 η γραμμή συσχέτισης μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων της παραμέτρου και της συμμεταβλητής στο γράφημα ατομικών παραμέτρων- συμμεταβλητών.

Επιπλέον καλό θα είναι να βελτιώνει την εικόνα των υπόλοιπων γραφημάτων καλής προσαρμογής, του VPC, να έχει φυσική σημασία και να έχει μικρή τιμή το σφάλμα εκτίμησης της τιμής της συμμεταβλητής.

Για να διασφαλιστεί ότι η προσθήκη των συμμεταβλητών δεν ήταν τυχαία, οι υποψήφιας συμμεταβλητές δοκιμάστηκαν με διαφορετική σειρά για να φανεί αν προκαλούν την ίδια βελτίωση στο μοντέλο ή εισάγονταν όλες μαζί στο μοντέλο και αφαιρούνταν διαδοχικά.

Ο τρόπος εισαγωγής της συμμεταβλητής στο μοντέλο εξαρτάται από τον αναλυτή. Συνηθώς εισάγεται γραμμικά ή σαν μορφή δύναμης και κανονικοποιημένη ως προς την μέση τιμή της παραμέτρου. Για παράδειγμα γραμμικά θα γραφτεί σαν $CL = CL_{pop} + \beta_{CL} * [(\text{συμ} - \overline{\text{συμ}}) / sd(\text{συμ})]$, ενώ σε μορφή δύναμης θα είναι $CL = CL_{pop} * (\text{συμ} / \overline{\text{συμ}})^{\beta_{CL}}$ η οποία γράφεται αλλιώς $\log(CL) = \log(CL_{pop}) + \beta_{CL} * \log(\text{συμ} / \overline{\text{συμ}})$.^[32,60] Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι ορισμένες συμμεταβλητές μπορεί να επικαλύπτονται, για παράδειγμα σε συμμεταβλητή το βάρος, το ύψος και το BMI αν αποδειχθεί ότι και το βάρος και το ύψος επηρεάζουν την διατομική μεταβλητότητα θα πρέπει να εισαχθεί το BMI σαν συμμεταβλητή διότι, περιλαμβάνει τα άλλα δυο.

2.9 Κριτήρια επιλογής μοντέλου/ Επικύρωση/Αξιολόγηση

Για τον σχηματισμό του μοντέλου και την επιλογή όλων των επιμέρους στοιχείων που το συνθέτουν χρησιμοποιήθηκαν κριτήρια που έχουν αναφερθεί νωρίτερα. Ακολουθεί επεξήγηση τους, ξεκινώντας με αυτά που χρησιμεύουν στην ανάπτυξη του μοντέλου και ολοκληρώνεται με αυτά που χρησιμοποιούμε για επικύρωση του μοντέλου.

Likelihood

Στην μη γραμμική μεικτών επιδράσεων μοντελοποίηση οι τιμές των παραμέτρων εκτιμώνται σύμφωνα με την μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας σε συνδυασμό με προγενέστερη γνώση για τις πληθυσμιακές τιμές των παραμέτρων. Η συνάρτηση που εκφράζει τα παραπάνω είναι η -2LL της οποίας το πρώτο σκέλος αφορά την απόσταση των παραμέτρων από τις πληθυσμιακές τιμές και το δεύτερο μέρος την απόσταση του μοντέλου από τα δεδομένα.

$$F(\xi) = \sum_{k=1}^p (\theta_k - \xi_k)^2 / \Omega_k + \sum_{j=1}^n (C_j - f(\xi, t_j))^2 / \sigma^2$$

Ιδανικά η συνάρτηση αυτή θέλουμε να πλησιάσει το 0, επειδή όμως κάτι τέτοιο είναι αδύνατο, όσο χαμηλότερη η τιμή της, τόσο καλύτερο το μοντέλο. Το Log Likelihood ratio test είναι ένα στατιστικό τεστ που εξετάζει την καλύτερη προσαρμογή των μοντέλων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει φωλιασμένα μοντέλα. Δηλαδή μοντέλα, στα οποία το ένα εμπεριέχεται στο άλλο π.χ. μοντέλο με προσθήκη καθυστέρησης και χωρίς καθυστέρηση. Καθώς η προσθήκη πολλών παραμέτρων μπορεί να μειώσει αρκετά την τιμή που παίρνει η συνάρτηση, ένας αντικειμενικός τρόπος αξιολόγησης της βελτίωσης είναι ο λόγος των τιμών των συναρτήσεων των μοντέλων. Για L_{π} : μοντέλο με πρόσθετες παράμετρους και L_{α} : αρχικό μοντέλο, Είναι $LR = L_{\alpha} / L_{\pi} = 2 (LL_{\pi} - LL_{\alpha})$.

Η διαφορά αυτή ακολουθεί περίπου χ^2 κατανομή. Για να εκτιμηθεί αν η διαφορά ανάμεσα στα μοντέλα είναι στατιστικά σημαντική πρέπει να ληφθούν υπόψη τα επίπεδα σημαντικότητας και η διαφορά βαθμών ελευθερίας. Η διαφορά βαθμών ελευθερίας είναι ίση με τον αριθμό των παραμέτρων που προστίθενται στο νέο μοντέλο. Έπειτα προσδιορίζουμε την κρίσιμη τιμή από πίνακες της χ^2 κατανομής. [32,36,56,57]

Chi-square Distribution Table

d.f.	.995	.99	.975	.95	.9	.1	.05	.025	.01
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	2.71	3.84	5.02	6.63
2	0.01	0.02	0.05	0.10	0.21	4.61	5.99	7.38	9.21
3	0.07	0.11	0.22	0.35	0.58	6.25	7.81	9.35	11.34
4	0.21	0.30	0.48	0.71	1.06	7.78	9.49	11.14	13.28
5	0.41	0.55	0.83	1.15	1.61	9.24	11.07	12.83	15.09
6	0.68	0.87	1.24	1.64	2.20	10.64	12.59	14.45	16.81
7	0.99	1.24	1.69	2.17	2.83	12.02	14.07	16.01	18.48
8	1.34	1.65	2.18	2.73	3.49	13.36	15.51	17.53	20.09
9	1.73	2.09	2.70	3.33	4.17	14.68	16.92	19.02	21.67
10	2.16	2.56	3.25	3.94	4.87	15.99	18.31	20.48	23.21

Εικόνα 12 Τμήμα του πίνακα της χ^2 κατανομής

AIC και BIC

Τα AIC (Akaike information criterion) και BIC (Bayesian information criterion) είναι κριτήρια που βασίζονται στη θεωρία πληροφορίας. Ένα μοντέλο που αναπαριστά κάποια δεδομένα είναι επόμενο ότι δεν θα είναι ποτέ ακριβές και κάποια πληροφορία θα χαθεί. Το AIC εκτιμά την πληροφορία που χάθηκε, θεωρώντας ποιοτικά ανώτερο αυτό που έχασε την λιγότερη πληροφορία. Δεν μπορεί να εκτιμήσει ακριβώς πόση ποσότητα χάθηκε αλλά για 2 μοντέλα μπορεί να υπολογίσει ποιο έχασε την περισσότερη ή λιγότερη αντίστοιχα.

Συγκεκριμένα $AIC = 2p - 2LL$,

όπου p ο αριθμός των παραμέτρων και LL η πιθανοφάνεια. Το κριτήριο επικροτεί την καλή προσαρμογή από μέγιστη πιθανοφάνεια έχοντας χαμηλές τιμές και τιμωρεί για κάθε επιπλέον παράμετρο. Με την ποινή αυτή

αποθαρρύνει την υπερβολική προσαρμογή, γιατί η αύξηση παραμέτρων σε μοντέλα σχεδόν πάντα αυξάνει την προσαρμοστικότητα.

Το AIC δεν αναφέρει τίποτα για την απόλυτη ποιότητα του μοντέλου, μόνο για την ποιότητα σχετικά με τα υπόλοιπα μοντέλα. Συνεπώς αν όλα τα υποψήφια μοντέλα δεν είναι καλά, το κριτήριο αυτό δεν θα δώσει καμία ειδοποίηση. Ανάμεσα σε πολλά μοντέλα επιλέγουμε αυτό με την μικρότερη τιμή AIC. [32,57,58]

Για το BIC ισχύουν όσα αναφέρθηκαν για το AIC με την διαφορά ότι ευνοεί περισσότερο τα απλούστερα μοντέλα, διότι έχει υψηλότερο συντελεστή ποινής για την προσθήκη δεδομένων.

$$BIC = p \ln(n) - 2LL, \text{ όπου}$$

p: αριθμός των παραμέτρων, (όλες, ξ , σ , συσχετίσεις και συμμεταβλητές)

n: το μέγεθος του δείγματος,

-2LL: η πιθανοφάνεια

Περιορισμός για την χρήση του BIC είναι ο αριθμός του δείγματος να είναι σημαντικά μεγαλύτερος από τον αριθμό των παραμέτρων στο μοντέλο. Επιλέγουμε πάλι αυτό με την μικρότερη τιμή. Τα κριτήρια αυτά μπορούν να συγκριθούν και για μη φωλιασμένα μοντέλα του ίδιου dataset. [57,59]

Γραφήματα καλής προσαρμογής

Τα γραφήματα καλής προσαρμογής είναι ένα πλήθος γραφημάτων τα οποία δείχνουν πόσο καλά ταιριάζει το υπό μελέτη μοντέλο με τα δεδομένα. Μπορούν να αντληθούν πολλά συμπεράσματα από αυτά σχετικά με το δομικό μοντέλο, με το μοντέλο σφάλματος και άλλα πολλά.

Στο Monolix μπορούμε να επιλέξουμε την απεικόνιση διάφορων γραφημάτων, τα καλής προσαρμογής είναι αυτά που σχετίζονται με την απεικόνιση των παρατηρήσεων.^[32,42] Ειδικότερα είναι τα

- Individual fits (ατομική προσαρμογή του μοντέλου στις παρατηρήσεις του κάθε ατόμου ξεχωριστά)
- Observed vs Predicted (απεικόνιση των παρατηρήσεων στον άξονα y'y και των προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο στον χ'χ)
- Scatter plot of the residuals (απεικόνιση του υπολειπόμενου σφάλματος σε σχέση με τον χρόνο και σε σχέση με την συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα. Παρουσιάζονται τα PWRES (πληθυσμιακά σταθμισμένα υπόλοιπα), τα IWRES (ατομικά σταθμισμένα υπόλοιπα) και τα NPDE (κανονικοποιημένα σφάλματα κατανομής πρόβλεψης Normalized Prediction Distribution Errors)
- Distribution of the residuals (απεικόνιση της κατανομής πυκνότητας και πιθανότητας ως προς τα ατομικά υπολειπόμενα σφάλματα των NPDE, WRES και IWRES)

Τα υπόλοιπα γραφήματα σχετίζονται με την απεικόνιση των ατομικών παραμέτρων.

- Distribution of the individual parameters (απεικόνιση της κατανομής των ατομικών παραμέτρων)
- Distribution of the standardized random effects (κατανομή των τυποποιημένων τυχαίων επιδράσεων)
- Correlation between random effects (απεικόνιση συσχέτισης ανάμεσα στις τυχαίες αλληλεπιδράσεις)
- Individual parameters vs covariates (απεικόνιση ατομικών παραμέτρων στον $y'y$ με τις συμμεταβλητές στον $x'x$).

Για τις ατομικές προσαρμογές (individual fits) περιμένουμε το μοντέλο να περνάει όσο πιο κοντά γίνεται από τις τιμές των παρατηρήσεων του κάθε ατόμου ξεχωριστά. Για το observed vs predicted θέλουμε οι παρατηρήσεις να βρίσκονται κοντά στην ευθεία $y=x$ και το κυριώτερο θέλουμε οι παρατηρήσεις να είναι συμμετρικές ως προς την ευθεία αυτή. Υψηλό ποσοστό αποκλίσεων από την ευθεία δηλώνουν σφάλμα στο δομικό μοντέλο. Κάποια από αυτά αναφέρθηκαν στην διαδικασία επιλογής δομικού μοντέλου. Για τα γραφήματα παρουσίασης σφαλμάτων θέλουμε οι παρατηρήσεις να κατανέμονται ομοιόμορφα γύρω από το 0 (από τον άξονα $x'x$), να μην παρατηρείται κάποια τάση και να βρίσκονται εντός απόστασης 2 τυπικών αποκλίσεων.^[32] Αναφορικά, με την κατανομή πυκνότητας των σφαλμάτων θέλουμε να εμπίπτουν στην κατανομή που έχουμε επιλέξει. Για κανονική θέλουμε να είναι συμμετρικά από το μηδέν και το πλήθος των σφαλμάτων να βρίσκεται στο κέντρο και η μειονότητα στις άκρες^[52]. Σχετικά με την κατανομή των παραμέτρων σε γράφημα κατανομής πυκνότητας πιθανότητας περιμένουμε το ιστόγραμμα των EBE να ακολουθεί αυτήν που επιλέχθηκε νωρίτερα στο πανελ statistical model and tasks, επιλέγοντας την απεικόνιση πληροφορίας παρουσιάζεται και η τιμή του η shrinkage, ανάλογη εικόνα περιμένουμε για την κατανομή των τυχαίων επιδράσεων. Δίνεται η δυνατότητα απεικόνισης σε μορφή BOX PLOT. Τα γραφήματα αυτά σχετίζονται με τα αποτελέσματα Shapiro Wilk test για την κατανομή των παραμέτρων.

RSE (Relative Standard Error)

Εκφράζει την αβεβαιότητα εκτίμησης της παραμέτρου. Προκύπτει από τον λόγο της τυπικής απόκλισης προς την πληθυσμιακή τιμή της παραμέτρου επί τις %. Όσο μεγαλύτερη η τιμή τόσο μικρότερη η ασφάλεια ότι έχει υπολογιστεί σωστά η παράμετρος. Γενικότερα επιλέγονταν μοντέλα με όσο το δυνατόν μικρότερο RSE%.

VPC (Visual Predictive Check)

Το VPC (οπτικός έλεγχος προβλεπτικής ικανότητας) είναι ένα εργαλείο για αξιολόγηση του μοντέλου σε ολιστικό επίπεδο. Για το δομικό μοντέλο, για μοντέλο σφάλματος, συμμεταβλητών και διαμερισματικής μεταβλητότητας. Σαν αρχή λειτουργίας του VPC είναι να αξιολογήσει γραφικά αν οι προσομοιώσεις ενός μοντέλου είναι ικανές να αναπαράγουν την κεντρική τάση και την μεταβλητότητα των δεδομένων προς τον χρόνο.^[62] Συγκεκριμένα, στο VPC εκτελούνται προσομοιώσεις σύμφωνα με το μοντέλο με χρήση της σχεδιαστικής δομής των δεδομένων (δόση, χρόνοι δειγματοληψίας και μέγεθος δείγματος). Έπειτα, για τις προσομοιώσεις αυτές υπολογίζονται εκατοστημόρια είτε για κάθε τιμή της ανεξάρτητης μεταβλητής είτε για κάθε bin της ανεξάρτητης μεταβλητής, σαν bin ορίζεται μια ομάδα παρατηρήσεων. Κατά τον υπολογισμό των

εκατοστημορίων για κάθε σετ αναπαραγμένων δεδομένων προκύπτει ένα μη παραμετρικό διάστημα εμπιστοσύνης για το προβλεπόμενα εκατοστημόρια. Αργότερα υπολογίζονται τα εκατοστημόρια για τα δεδομένα, συνήθως υπολογίζονται το 5°, το 50° και το 95° εκατοστημόριο. Σκοπός είναι τα εκατοστημόρια των παρατηρήσεων με των προσομοιώσεων να συμπίπτουν ή τουλάχιστον τα εκατοστημόρια των δεδομένων να εμπίπτουν στο μη παραμετρικό διάστημα εμπιστοσύνης των προσομοιώσεων. Το διάστημα μεταξύ των εξωτερικών εκατοστημορίων όλων των προσομοιωμένων δεδομένων ονομάζεται διάστημα πρόβλεψης.⁶²

Bootstrap

Το Bootstrap είναι ένα δυνατό στατιστικό εργαλείο, χρήσιμο στον υπολογισμό της αβεβαιότητας των παραμέτρων. Το ιδανικό για να εκτιμηθεί η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου, θα ήταν να εφαρμοσθεί σε νέες βάσεις δεδομένων και να συγκριθούν οι τιμές των παραμέτρων που προκύπτουν. Καθώς κάτι τέτοιο δεν είναι εφικτό, το bootstrap αναπαράγει νέες βάσεις ανασυνδυάζοντας (τους ασθενείς) την πληροφορία που του παρέχεται, φτιάχνοντας καινούργιες με το ίδιο μέγεθος που είχε αρχική. Για παράδειγμα, μπορεί να έχει φτιάξει ένα σετ δεδομένων με τον ίδιο ασθενή 8 φορές και έναν άλλο 4. Ύστερα υπολογίζει τις τιμές των παραμέτρων για το κάθε σετ. Η μέση τιμή συγκρίνεται με τα αποτελέσματα του Monolix και η τυπική απόκλιση με το σφάλμα εκτίμησης. Το bootstrap είναι ικανοποιητικό όταν η μέση τιμή που προκύπτει από το μοντέλο είναι εντός διαστήματος εμπιστοσύνης που προκύπτει από το bootstrap. Για να θεωρηθεί αξιόπιστο το αποτέλεσμα του bootstrap αρκούν 100 bootstrap, για να υπολογιστούν και τα διαστήματα εμπιστοσύνης θα χρειαστούν πάνω από 500. Το μειονέκτημα του, είναι ότι είναι χρονοβόρο και ότι δεν φαίνονται λάθη στην δημιουργία του μοντέλου.^[32,36] Στο Monolix δεν υπάρχει διαθέσιμος τρόπος να πραγματοποιηθεί bootstrap, για αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα R και τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν σε αρχείο Excel.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα για το κάθε σκεύασμα ξεχωριστά μαζί με άλλα μοντέλα που απορρίφθηκαν προκειμένου να φτάσουμε σε αυτό το αποτέλεσμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει σωστό ή λάθος μοντέλο. Υπάρχει μόνο κατάλληλο για τον σκοπό που το χρειαζόμαστε.

1. Test Pharmaten
2. Advagraf
3. Envarsus

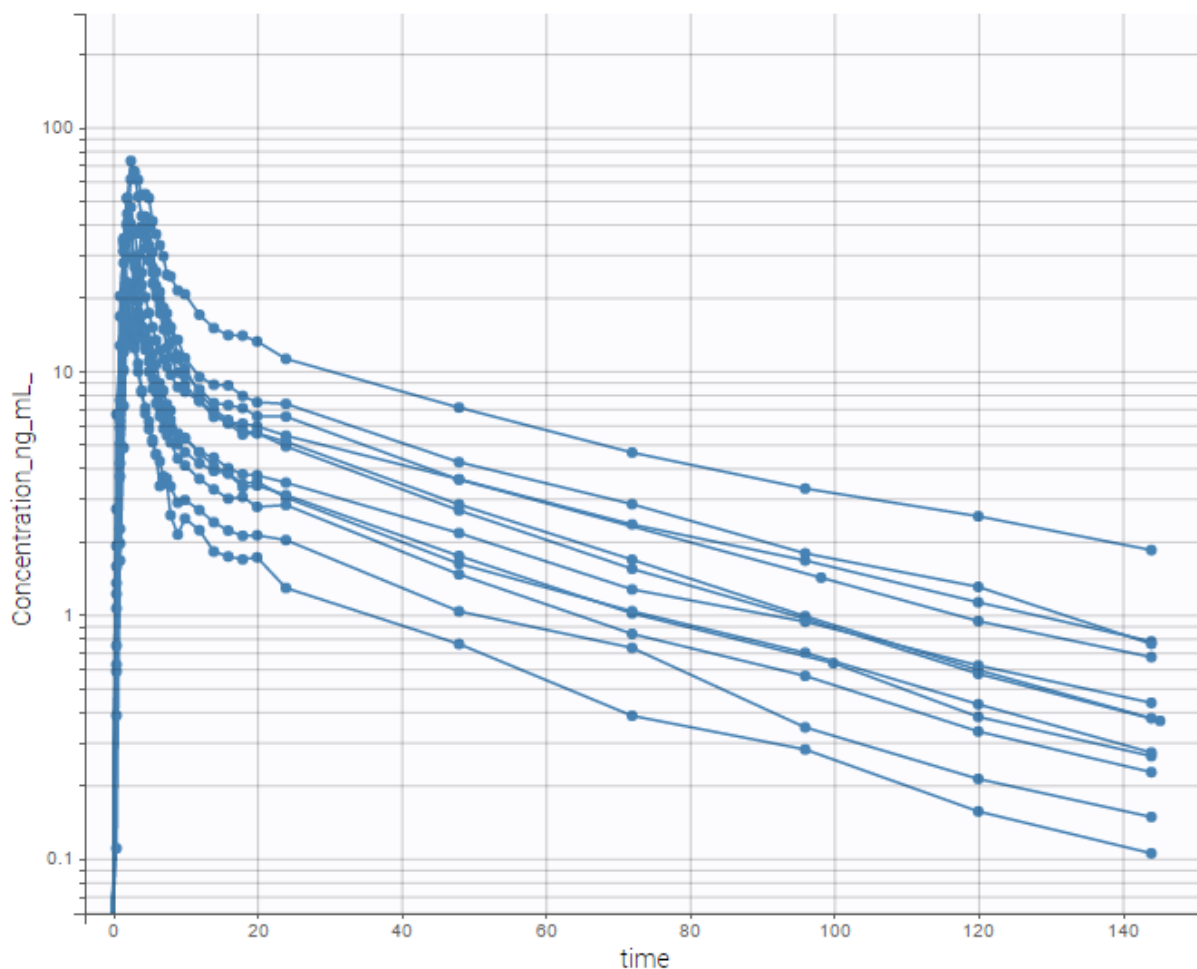
-Κάθε αναλυτής βλέπει ένα μοντέλο από διαφορετική οπτική γωνία, με το κάθε μοντέλο πιθανώς να είναι μια έγκυρη ερμηνεία των δεδομένων, χωρίς κανένα να είναι σωστό-

Bonate et al^[32]

3.1 Test Formulation

Για την ανάπτυξη μοντέλου αναζητήθηκαν πληροφορίες στην βιβλιογραφία και χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι που αναφέρθηκαν νωρίτερα. Γενικότερα, δοκιμάστηκαν όλα τα πιθανά μοντέλα ξεκινώντας από τα απλούστερα προς τα περίπλοκα. Στοιχεία από γραφήματα χρησιμοποιήθηκαν σαν κατευθυντήριες γραμμές.

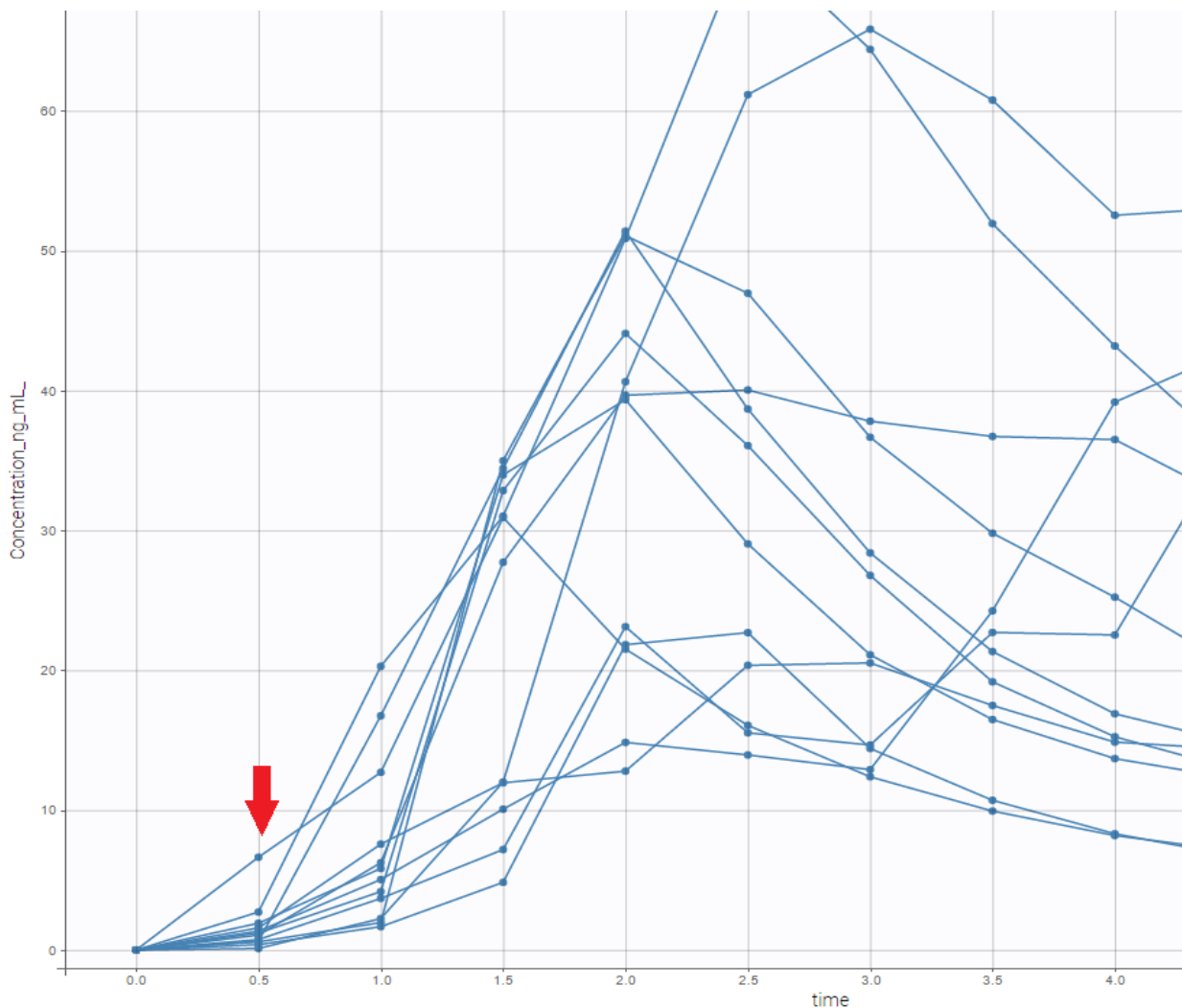
α) Αριθμός διαμερισμάτων



Εικόνα 13 Παρουσίαση των δεδομένων Test Formulation σε κλίμακα $\text{Log}(y')-x'$.

Στο παραπάνω γράφημα απεικονίζονται τα δεδομένα σε κλίμακα $\text{Log}(C)-t$. Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν στις μεθόδους, για ύπαρξη δυο ή επιπλέον κλίσεων σε αυτό το γράφημα έχουμε τουλάχιστον διδιαμερισματικό μοντέλο. Παρατηρούμε σίγουρα δυο κλίσεις και σε ορισμένα σημεία πιθανόν να έχουμε και τρίτη. Για αυτόν τον λόγο αναζητήθηκε το δομικό μοντέλο με χρήση δι- και τρι- διαμερισματικού μοντέλου.

β) Προσθήκη χρονοκαθυστέρησης



Εικόνα 14 Γράφημα C-t για το Test Formulation με μεγέθυνση στις πρώτες ώρες.

Παρατηρώντας την συγκέντρωση για την πρώτη ώρα συγκριτικά με τις επόμενες, βλέπουμε ότι όλες οι τιμές είναι χαμηλές και ξαφνικά αυξάνονται σημαντικά. Αυτό υποδηλώνει χρονοκαθυστέριση.

γ) Μοντέλο σφάλματος

Στα αρχικά μοντέλα εφαρμόστηκε συνδυαστικό μοντέλο, σε όλες τις περιπτώσεις το αποτέλεσμα για το προσθετικό σφάλμα ήταν ίσο με 10^{-16} , και το αναλογικό έπαιρνε τιμές από 0-1.5 ng/mL. Αυτό οδήγησε στην επιλογή του αναλογικού μοντέλου.

δ) Βιβλιοθήκη διπλής απορρόφησης

Από τα δεδομένα είδαμε ότι 4/12 ασθενείς είχαν πάνω από μια κορυφές. Αυτό ώθησε στη δοκιμή δομικού μοντέλου με διπλή απορρόφηση.

ε) Κινητική απορρόφησης

Στην βιβλιογραφία αναφέρεται πιο συχνά η πρωτοταξική κινητική απορρόφησης, παραταύτα τα σκευάσματα παρατεταμένης αποδέσμευσης συχνά ακολουθούν μηδενοταξική κινητική. Για αυτό η αναζήτηση μοντέλου ξεκίνησε με εφαρμογή μηδενοταξικής.

Στα μοντέλα που θα ακολουθήσουν η λέξη lag time αντικαθιστά την χρονοκαθυστέρηση, η 0,1 απορρόφηση αντικαθιστά την μηδενοταξική και πρωτοταξική απορρόφηση και τα 2,3 διαμερίσματα την χρήση δι- ή τρι-διαμερισματικού μοντέλου.

Μοντέλο

-2LL/ AIC

Χωρίς lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 689.78/ 723.78
συνδυαστικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 690.36/728.36
συνδυαστικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 701.77/727.77
συνδυαστικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 702.47/732.47
συνδυαστικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 688.26/720.26
προσθετικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 808.74/832.74
προσθετικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 808.69/840.69
προσθετικό σφάλμα

Χωρίς lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 812.10/837.53
προσθετικό σφάλμα

Για τα 4 πρώτα μοντέλα ήταν αδύνατη η εκτίμηση του Fisher matrix correlation δηλαδή του σφάλματος εκτίμησης των παραμέτρων. Το αποτέλεσμα για το μοντέλο σφάλματος ήταν το παρακάτω σε όλα τα μοντέλα.

Error Model Parameters			
a	2.22e-16	nan	nan
b	0.0872	0.00388	4.45

Εικόνα 15 Αποτέλεσμα για χρήση συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος

όπου για Monolix το συνδυαστικό μοντέλο είναι **combined**: $y=f+(a+bf^c)\epsilon$.

Το a αντιπροσωπεύει το σταθερό σφάλμα το οποίο λαμβάνει πολύ μικρή τιμή, για αυτό τον λόγο επιλέχθηκε το αναλογικό σφάλμα. Με την αλλαγή αυτή διευκολύνθηκε ο υπολογισμός των σφάλμάτων εκτίμησης.

Δεν ήταν δυνατή η λήψη απόφασης για την κινητική απομάκρυνσης αφού οι τιμές τις $-2LL$ ήταν παραπλήσιες, οι τιμές του AIC παραπέμπουν στην χρήση γραμμικής κινητικής αλλά δεν είναι αρκετές για να απορριφθεί η Michaelis Menten. Για τον αριθμό διαμερισμάτων έχουμε επίσης παρεμφερής τιμές. Συνεπώς οι επιλογές αυτές θα δοκιμαστούν στα μεταγενέστερα μοντέλα.

Σχετικά με την κινητική της απομάκρυνσης η μηδενοταξική δείχνει σημαντικά καλύτερη.

Ακολούθησε η εισαγωγή χρονοκαθυστέρησης στα μοντέλα για να εξακριβωθεί αν βελτιώνει το μοντέλο.

Lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 463.24/491.24
προσθετικό σφάλμα

Lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 468.80/500.80
προσθετικό σφάλμα

Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, προσθετικό σφάλμα 552.47/580.47
σφάλμα

Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 591.01/623.01
προσθετικό σφάλμα

Transit model, 0 απορρόφηση – Δεν υπάρχει μοντέλο που να έχει μηδενοταξική -
απορρόφηση και transit model. Είναι δυνατό μόνο με πρωτοταξική

Transit model, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 590.14/622.14
προσθετικό σφάλμα

**Lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 459.53/495.53
προσθετικό σφάλμα**

Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 602.09/642.09
προσθετικό σφάλμα

Lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 475.95/515.95
προσθετικό σφάλμα

Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, προσθετικό 579.95/615.95
σφάλμα

**Transit model, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, 407.78/447.78
προσθετικό σφάλμα**

Transit model, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση, 415.21/459.21
προσθετικό σφάλμα

Τα μοντέλα που έχουν τονιστεί είναι αυτά με τις χαμηλότερες τιμές $-2LL/AIC/BIC$ και τα καλύτερα γραφήματα.

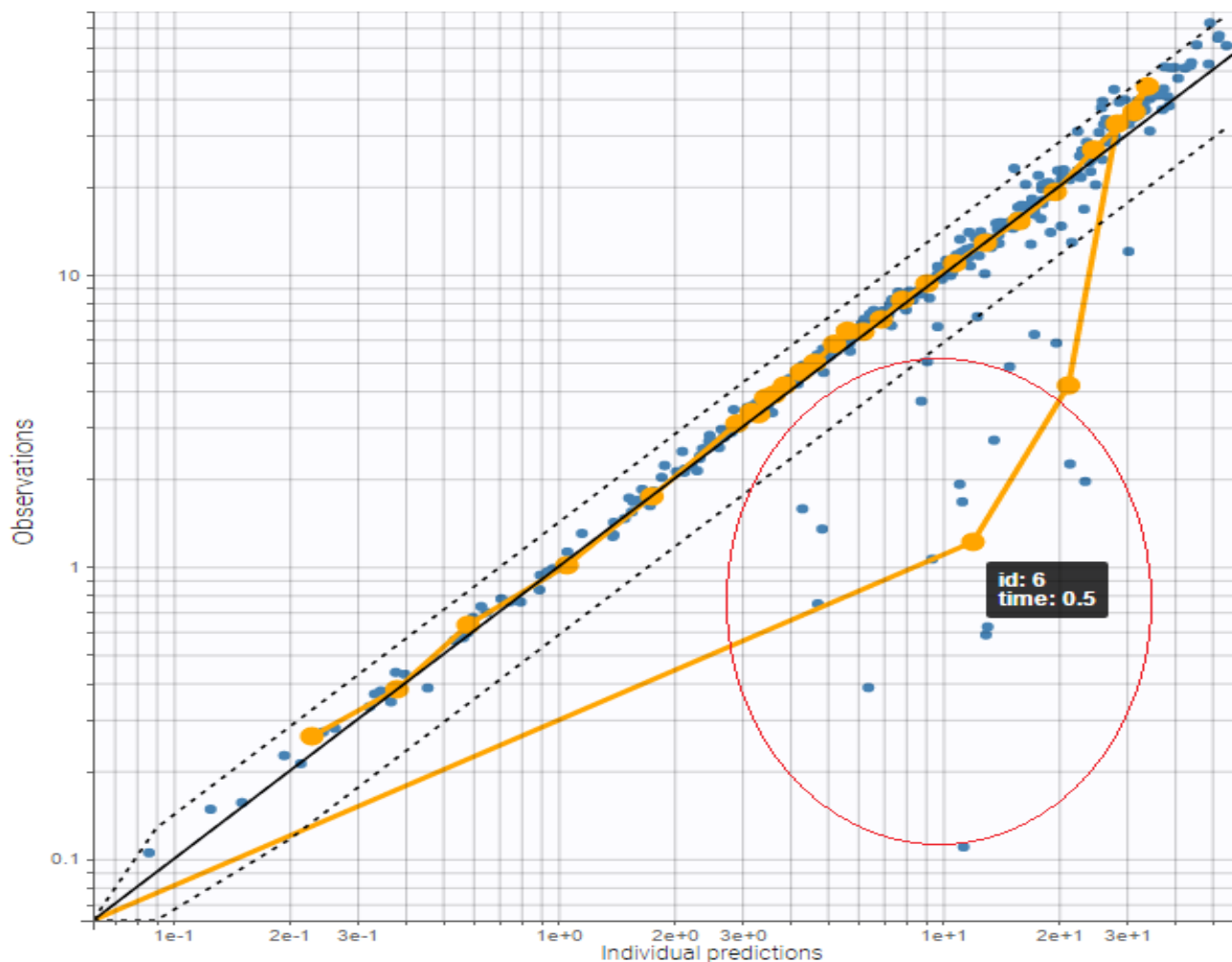
Από τα παραπάνω βλέπουμε ότι η προσθήκη χρονοκαθυστέρησης βελτίωσε σημαντικά το μοντέλο. Αυτό φαίνεται από την σύγκριση των $-2LL$ (διαφορά μεγαλύτερη των 200 μονάδων) και από τα γραφήματα Obs-Pred που θα παρουσιαστούν παρακάτω.

Επίσης, παρατηρούμε ότι σε όλες τις περιπτώσεις για ίδια μοντέλα με διαφορά την κινητική απομάκρυνσης η Michaelis Menten προκαλούσε αύξηση $-2LL/AIC$, χωρίς να βελτιώνει το VPC ή τα γραφήματα καλής προσαρμογής.

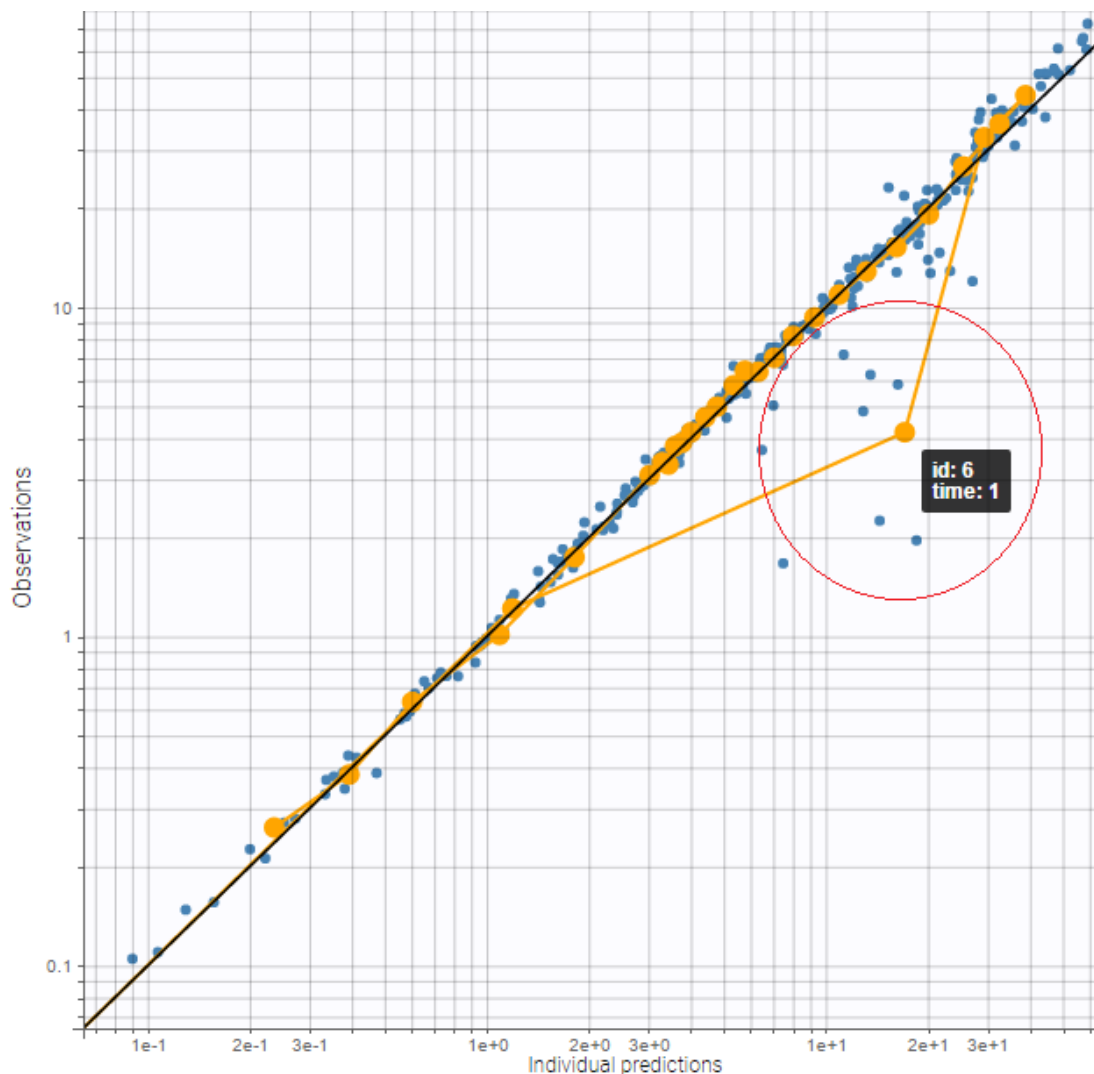
Σχετικά με την απορρόφηση, η πρωτοταξική αυξάνει την τιμή $-2LL$ και χειροτερεύει γραφήματα προσαρμογής. Εξάιρεση αποτελεί η εφαρμογή της με transit model για χρονοκαθυστέρηση.

Τέλος, για τον αριθμό των διαμερισμάτων σε πρωτοταξική κινητική η εισαγωγή τρίτου διαμερίσματος χειροτέρευε τις $-2LL/AIC$ και το VPC, αντίθετα σε μηδενοταξική προκαλούσε βελτίωση. Η βελτίωση όμως για τα δυο μοντέλα είναι οριακά σημαντική, διότι 463.24 (2 διαμερίσματα) - 459.53 (3 διαμερίσματα) = $3.71 < 3.84$, επιπλέον τα VPC των δυο μοντέλων είναι όμοια, με το τριδιαμερισματικό να είναι ελαφρώς χειρότερο.

Ακολουθούν τα γραφήματα Obs-Pred πριν και μετά προσθήκη χρονοκαθυστέρησης. Ενδεικτικά χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο χωρίς καθυστέρηση, μηδενοταξική απορρόφηση, διδιαμερισματικό και με γραμμική κινητική.



Εικόνα 16 Χωρίς χρονοκαθυστέρηση Τεστ σκεύασμα. $\text{Log}(y'y) - \text{Log}(x'x)$. Υπαρξη πολλών αποκλίσεων για τις πρώτες ώρες.



Εικόνα 17 Με Lag time Τεστ σκεύασμα. $\text{Log}(y'y) - \text{Log}(x'x)$.

Σε λογαριθμική κλίμακα φαίνονται καλύτερα οι αποκλίσεις, μετακίνηση του κέρσορα στις παρατηρήσεις αυτές δείχνει τον εθελοντή και την ώρα που αντιστοιχεί. Πριν την εισαγωγή χρονοκαθυστέρησης υπήρχαν πολλές παρατηρήσεις μακριά από την ταυτοτική ευθεία, με χρόνο 0.5 ώρες. Μετά την εισαγωγή οι παρατηρήσεις ελαττώθηκαν και παρέμειναν κάποιες με χρόνο 1 ώρα. Συνεπώς η εισαγωγή χρονοκαθυστέρησης βελτίωσε σημαντικά το μοντέλο αλλά δεν ήταν αρκετή για να περιγράψει τα δεδομένα επαρκώς. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τις διπλές κορυφές που παρατηρήθηκαν στα δεδομένα οδήγησε στην χρήση μοντέλων με διπλή απορρόφηση.

Μοντέλα διπλής απορρόφησης ^[63]

-Σκεπτόμενοι ότι η μηδενολογική απορρόφηση ταιριάζει καλύτερα στην περιγραφή των δεδομένων, ελέγχθηκαν αρχικά μοντέλα με δυο μηδενολογικές απορροφήσεις, εν συνέχεια μεταβάλλοταν η μια από τις δυο σε πρωτοταξική και τέλος μετατράπηκαν και οι δυο σε πρωτοταξική.

-Η καθυστέρηση όπως και νωρίτερα εισήχθη σταδιακά

-Σαν κινητική απομάκρυνσης σύμφωνα με τα προηγούμενα έμεινε η γραμμική. Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθεί ότι στην βιβλιογραφία δεν αναφέρθηκε πουθενά κινητική Michaelis Menten, παρά μόνο στην αναζήτηση δραστηριότητας των ενζύμων CYP450.

-Σαν διαμερίσματα εφαρμόστηκαν και το δι- και το τρι- διαμερισματικό

-Η σχέση μεταξύ των δυο απορροφήσεων (ταυτόχρονες ή διαδοχικές) δοκιμάστηκε με τυχαίο τρόπο. Για δυο σχέσεις που δεν είναι διαδοχικές και εμφανίζουν αμφότερες χρονοκαθυστέρηση υπάρχει η επιλογή true και false. Στην true περίπτωση η παράμετρος για την καθυστέρηση της δεύτερης απορρόφησης πρέπει να είναι μεγαλύτερη σε διάρκεια $Tlag2 = Tlag1 + diffTlag2$. Στην false περίπτωση οι παράμετροι για τις απορροφήσεις είναι ανεξάρτητες και υπολογίζονται ξεχωριστά, $Tlag1 \neq Tlag2$.

Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται τα μοντέλα που δοκιμάστηκαν. Όπου δυο λέξεις ή αριθμοί χωρίζονται με το σύμβολο « / » σημαίνει ότι στο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε «ή το ένα ή το άλλο»

0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 0 απορρόφ., χωρίς καθυστ. διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2/3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[1] Απαραίτητη προσθήκη Lag time. Άσχημο VPC και γραφήμα
--	--

0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, 2/3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[2] Δεν έδειξε σημαντική βελτίωση
--	-----------------------------------

0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 0 απορρόφ., lag time διαδοχικά, 2/3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[3] Δεν έδειξε σημαντική βελτίωση
---	-----------------------------------

0 απορρόφ., lag time., 0 απορρόφ., χωρίς καθυστέρηση διαδοχικά/ταυτόχρονα, 3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[4] Μικρή βελτίωση, δυσκολία εκτίμησης παραμέτρων
--	---

0 απορρόφ., lag time., 0 απορρόφ., χωρίς καθυστέρηση διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[5] Μικρή βελτίωση, καλύτερη εκτίμηση παραμέτρων
--	--

0 απορρόφ., lag time, 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[6] VPC μέτριο, πολύ καλή εικόνα OBS-PRED plot.
---	--

0 απορρόφ., lag time, 0 απορρόφ., lag time, διαδοχικά, false 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[7] κακό OBS-PRED plot, κακό VPC
---	----------------------------------

0 απορρόφ., lag time, 0 απορρόφ., lag time διαδοχικά/ταυτόχρονα, 3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[8] κακό OBS-PRED plot, κακό VPC
0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 1 απορρόφ., χωρίς καθυστ. διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2/3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[9] κακό OBS-PRED Απαραίτητη προσθήκη χρονοκαθυστέρησης
0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 1 απορρόφ., lag time, διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[10] μέτριο προς καλο VPC και γραφήματα
0 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 1 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα/διαδοχικά, 3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[11] Άσχημο
0 απορρόφ., lag time, 1 απορρόφ., χωρίς καθυστ. διαδοχικά, 2 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[12] πολύ καλή εικόνα VPC OBS-PRED καλή
0 απορρόφ., lag time, 1 απορροφ., χωρίς καθυστ. διαδοχικά, 3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[13] πολύ καλή εικόνα VPC OBS-PRED καλή
0 απορρόφ., lag time, 1 απορροφ., lag time, διαδοχικά, 2/3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[14] μέτριο VPC και OBS-PRED
0 απορρόφ., lag time, 1 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, false, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[15] μέτριο VPC, ικανοποιητικά γραφήματα
0 απορρόφ., lag time, 1 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, true, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[16] Δεν έδειξε βελτίωση, λίγο χειρότερο από το [15]
1 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 0 απορρόφ., lag time, διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2/3 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση	[17] άσχημο
1 απορρόφ., lag time, 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	[18] πολύ καλή εικόνα VPC, αρκετά καλά γραφήματα

1 απορρόφ., lag time, 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, false, 2 [19]
διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

1 απορρόφ., transit, 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, true 2 [20] ικανοποιητικό VPC, πολύ
καλό OBS-PRED
διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

1 απορρόφ., transit comp, 0 απορρόφ., lag time, ταυτόχρονα, false, 2 [21] ικανοποιητικό VPC, πολύ
καλό OBS-PRED
διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση

1 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 1 απορρόφ., χωρίς καθυστ. [22] πολύ άσχημο
διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2 διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση

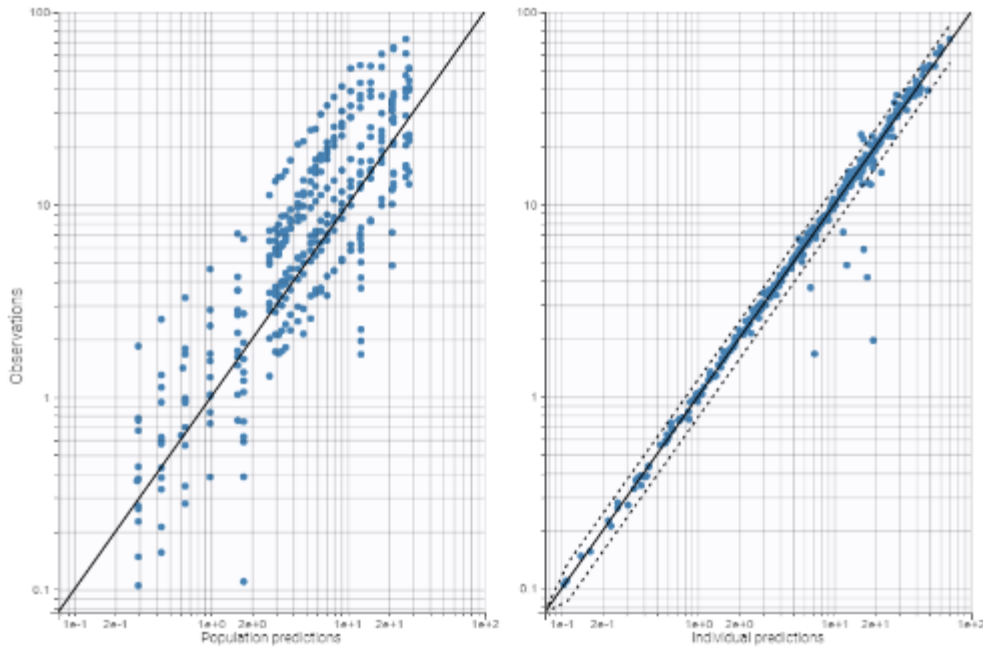
1 απορρόφ., χωρίς καθυστ., 1 απορρόφ., lag time, [23] μέτριο
διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

1 απορρόφ., lag time, 1 απορρόφ., lag time, διαδοχικά/ταυτόχρονα, 2/3 [24] μέτριο προς κακό
διαμερίσματα., γραμμική απομάκρυνση

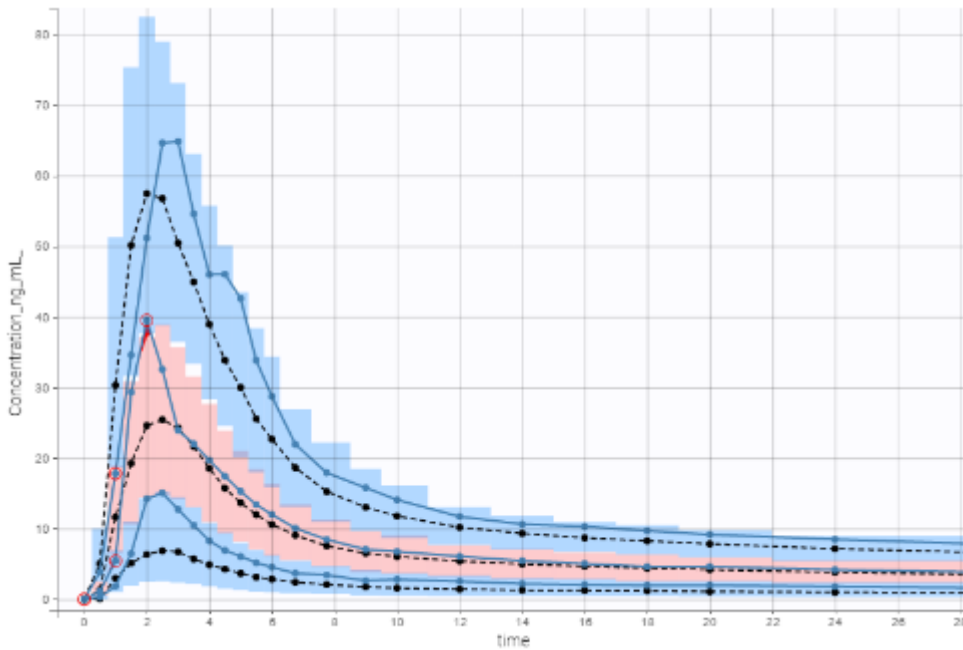
Τα μοντέλα παρουσιάζαν πολλές ομοιότητες στα γραφήματα, στο VPC, στις τιμές των παραμέτρων, στην ικανότητα εκτίμησης των σφαλμάτων και στις τιμές των $-2LL/AIC/BIC$. Κάποια που ήταν ακατάλληλα ξεχώριζαν αμέσως, στα υπόλοιπα οι διαφορές ήταν πολύ λεπτές. Γενικότερα μοντέλα με διδιαμερισματικό μοντέλο υπολόγιζαν καλύτερα τα σφάλματα της εκτίμησης των παραμέτρων, αλλά είχαν λίγο χειρότερο VPC σε σχέση με τα τριδιαμερισματικά. Επίσης πρέπει να αναφερθεί ότι στην πλειονότητα τους τα μοντέλα με διπλή απορρόφηση βελτίωναν την περιγραφή των δεδομένων

Για να είναι εύκολη η σύγκριση των μοντέλων, εισήχθησαν τα αποτελέσματα τους στο sycamore. Χρησιμοποιήθηκαν τα μοντέλα που έχουν τονισμένη γραμματοσειρά από όλους τους πίνακες. Καλύτερο θεωρήθηκε το μοντέλο που είχε καλά γραφήματα, καλά αποτελέσματα και ικανοποιητικά σφάλματα εκτίμησης.

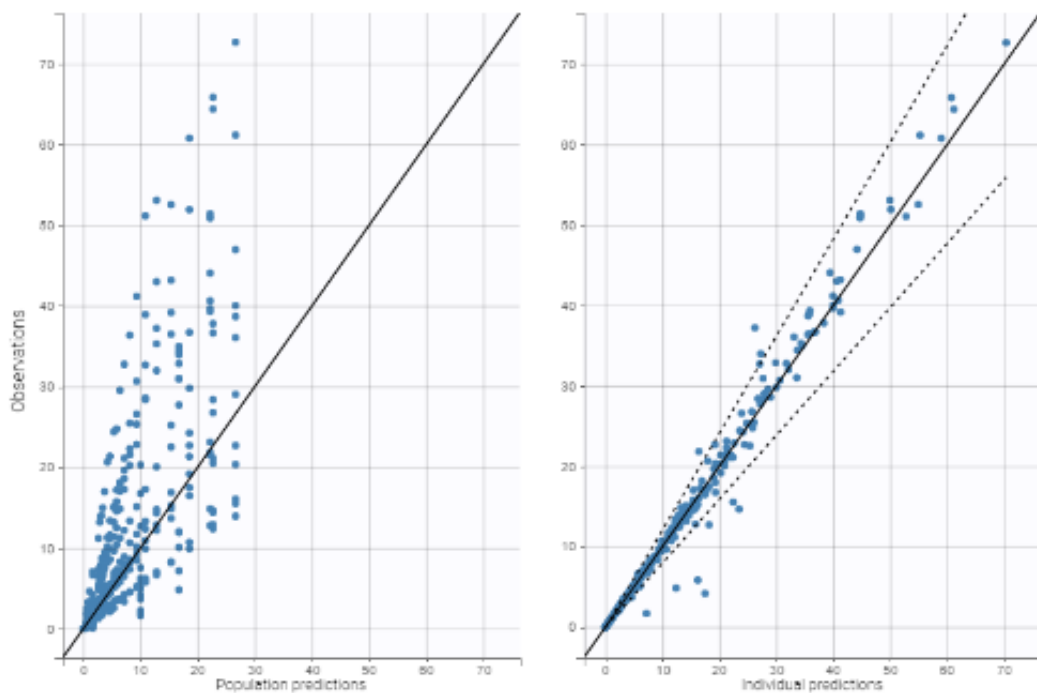
Ενδεικτικά θα παρουσιαστούν κάποια από τα γραφήματα των μοντέλων



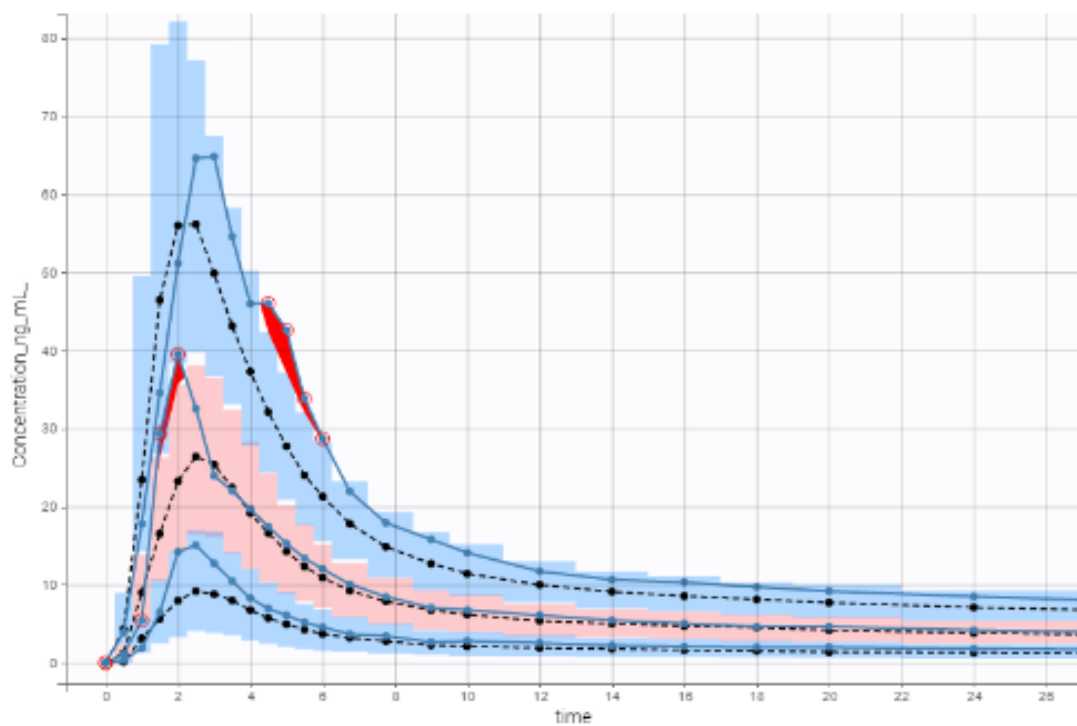
Εικόνα 18 Γράφημα obs-pred (Log-Log) για το μοντέλο [13]. Δεξιά ατομικές εκτιμήσεις, αριστερά, πληθυσμιακές εκτιμήσεις. Παρατηρούμε απόκλιση μερικών σημείων από το 90% διάστημα πρόβλεψης που ορίζουν οι δυο παράλληλες ευθείες.



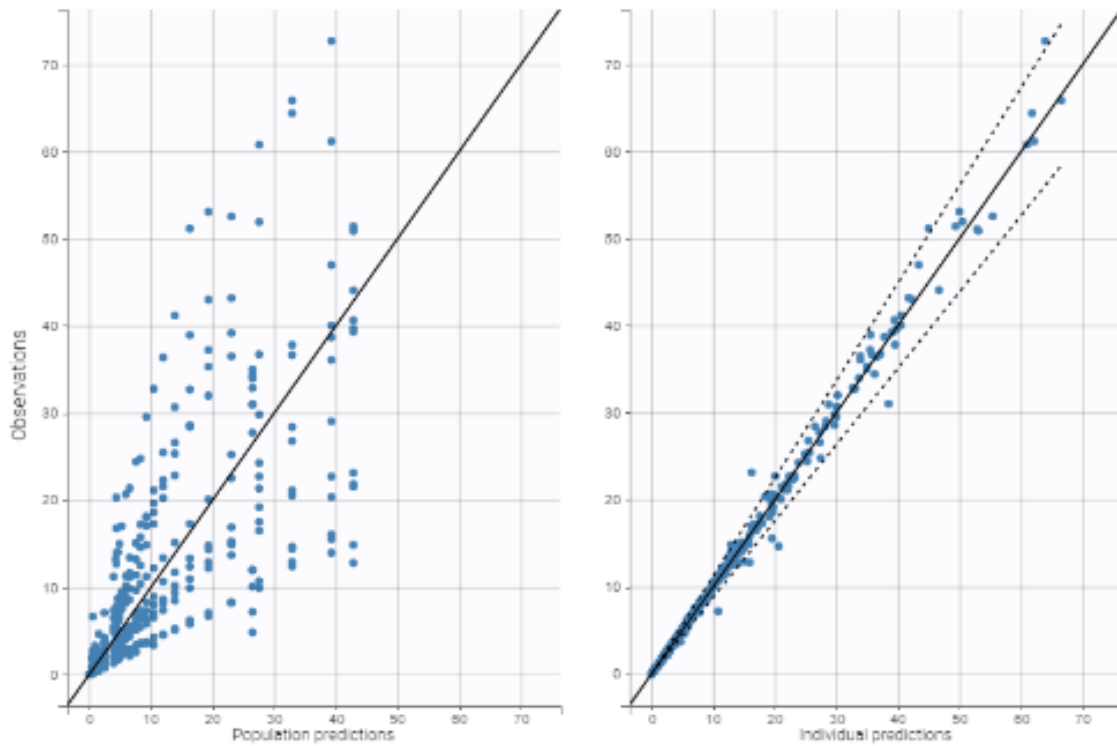
Εικόνα 19 VPC για μοντέλο[13]. Παρουσιάζονται το 5^ο, 50^ο και 95^ο εκατοστημόριο για τα δεδομένα (συνεχής μπλε γραμμή) και τις προβλέψεις (μαύρη διακεκομμένη γραμμή). Οι έγχρωμες μάντες είναι τα μη παραμετρικά διαστήματα εμπιστοσύνης που προκύπτουν για τις προβλέψεις. Για τις πρώτες ώρες υπάρχουν πολλά σημεία εκτός διαστημάτων εμπιστοσύνης. Επίσης τα εκατοστημόρια πρόβλεψης υποεκτιμούν την συγκέντρωση συγκριτικά με τα εκατοστημόρια των δεδομένων για $t=t_{max}$.



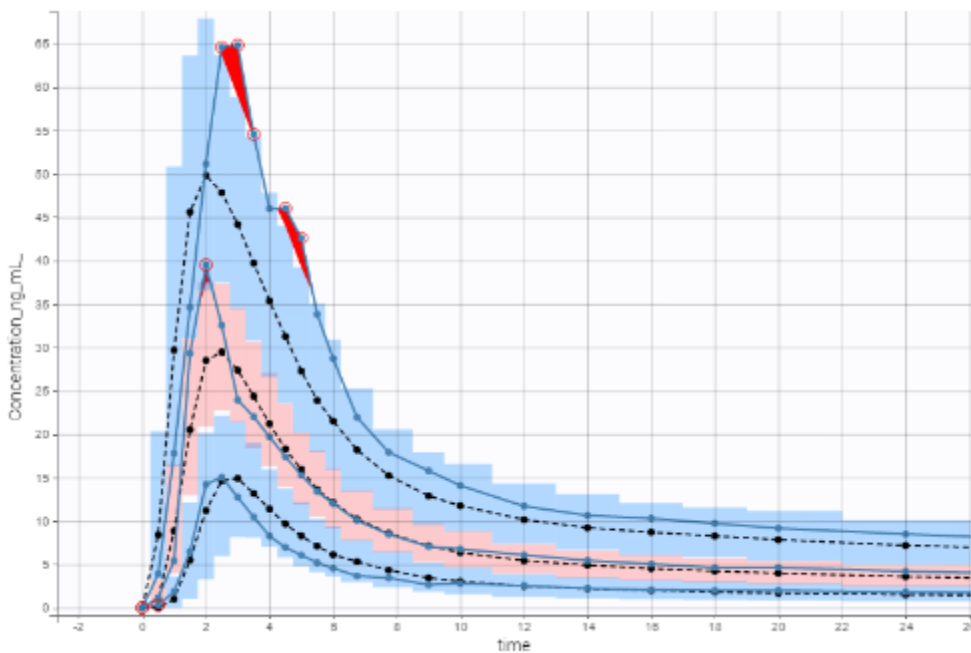
Εικόνα 20 Γράφημα obs-pred για το μοντέλο [15], δεξιά οι ατομικές εκτιμήσεις, αριστερά οι πληθυσμιακές εκτιμήσεις. Στις 8-24 ώρες παρατηρούμε απόκλιση, συγκεκριμένα έχουμε υπερεκτίμηση του μοντέλου για κάποια από τα δεδομένα.



Εικόνα 21 VPC για μοντέλο[15]. Παρατηρούνται πολλά σημεία εκτός των μη παραμετρικών διαστημάτων εμπιστοσύνης για την διάμεσο και το 95^ο εκατοστημόριο. Συνεπώς, το μοντέλο σε σύγκριση με άλλα μοντέλα κρίνεται ακατάλληλο.



Εικόνα 22 Γράφημα obs-pred για το μοντέλο [21], δεξιά οι ατομικές εκτιμήσεις, αριστερά οι πληθυσμιακές εκτιμήσεις. Οι παρατηρήσεις είναι εντός των 90% διαστημάτων εμπιστοσύνης, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές αποκλίσεις.



Εικόνα 23 VPC για μοντέλο[21]. Παρατηρούμε πολλά σημεία για το 95^ο εκατοστημόριο να είναι εκτός των διαστημάτων πρόβλεψης. Επιπλέον, για την διάμεσο και το 95^ο εκατοστημόριο έχουμε υποεκτίμηση των παρατηρήσεων από το μοντέλο για $t \approx t_{max}$.

Έπειτα από αξιολόγηση των παραπάνω γραφημάτων οδηγήθηκαμε στην ακόλουθη σειρά κατάταξης από το καλύτερο προς το χειρότερο.

VPC	Obs-Pred plot	BIC	Residual errors scatter plot
[12]	[20]=[21]	[20]	[14]
[13]	[18]	[18]	[13]
[18]	[6]	[6]	
[20]=[21]	[10]	[21]	

Γενικότερα καλύτερη καταταξη στον πίνακα έχουν τα [20],[21],[18],[14],[13],[12]. Για αυτά πραγματοποιήθηκε bootstrap ώστε να υπολογιστούν ακριβώς τα σφάλματα εκτίμησης των παραμέτρων.

- Τα μοντέλα [14],[13],[12] εμφάνισαν εξαιρετικά υψηλή αβεβαιότητα για την εκτίμηση ορισμένων παραμέτρων: ka2 (CV \approx 950%), omega_ka2 (CV \approx 150%), omega_V2 (CV \approx 68%) με αποτέλεσμα να απορριφθούν.
- Το μοντέλα [18], [20] και [21] είχαν σχετικά χαμηλές τιμές CV% για τις παραμέτρους τους (μικρότερες από 30%), με τα μοντέλα [20] και [21] να έχουν παρόμοιες τιμές. Συγκριτικά με το μοντέλο [18] τα [20] και [21] είχαν ψηλότερο CV% και σε περισσότερες παράμετρους. Συγκεκριμένα, για [20] και [21]: 6 παράμετροι με εύρος CV 38.63-62.61% και για το [18] 4 παράμετροι με εύρος CV 30.83-44.25 %

Κατά συνέπεια σαν μοντέλο εκλογής λήφθηκε το μοντέλο [18].

Ακολούθησε αναζήτηση για συσχετίσεις και συμμεταβλητές με τον τρόπο που αναφέρθηκε στις μεθόδους.

Σύμφωνα με το correlation test των τυχαίων επιδράσεων και τα γραφήματα συσχέτισης των τυχαίων επιδράσεων δυνητικά συσχέτιση εμφανίζουν οι παρακάτω παράμετροι:

- | | |
|------------------|--------------|
| - ηTk02-ηTlag1 | - ηQ-ηCL |
| - ηTk02-ηF1 | - ηQ-ηTlag1 |
| - ηF1-ηka1 | - ηV2-ηTk02 |
| - ηF1-ηTk02 | - ηQ-ηTk02 |
| - ηF1-ηdiffTlag2 | - ηQ-ηV1 |
| - ηCL-ηTlag1 | - ηV2-ηTlag1 |
| - ηV2-ηQ | - ηV2-ηCL |
| - ηV2-ηV1 | |

Εξετάστηκαν όλες στο μοντέλο, όσες προκαλούσαν μείωση -2LL/AIC/BIC, διορθώναν το p-value στα στατιστικά τεστ συσχέτισης, σταθεροποιούσαν τον υπολογισμό σφαλμάτων εκτίμησης των παραμέτρων και είχαν αποδεκτή τιμή RSE μένανε.

Παρουσιάζονται οι τιμές για τα κριτήρια πληροφορίας και οι τιμές των p-value πριν την προσθήκη συσχέτισης

-2 x log-likelihood	115.79
Akaike Information Criteria (AIC)	153.79
Bayesian Information Criteria (BIC)	163.01
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	196.99

		STATISTICS	P-VALUE
eta_ka1	eta_Tk02	-1.39432	0.190742
eta_ka1	eta_F1	2.19179	0.0508095
eta_ka1	eta_Tlag1	-0.316934	0.757228
eta_ka1	eta_diffTlag2	0.0422578	0.96705
eta_ka1	eta_CI	0.071457	0.944317
eta_ka1	eta_V1	-0.250373	0.806914
eta_ka1	eta_Q	0.415163	0.686005
eta_ka1	eta_V2	-0.0323553	0.974768
eta_Tk02	eta_F1	-1.41027	0.186106
eta_Tk02	eta_Tlag1	2.62792	0.0234942
eta_Tk02	eta_diffTlag2	-1.29918	0.220454
eta_Tk02	eta_CI	-2.81058	0.016951
eta_Tk02	eta_V1	-1.68566	0.119985
eta_Tk02	eta_Q	-3.08078	0.0104567
eta_Tk02	eta_V2	-3.17243	0.00888002
eta_F1	eta_Tlag1	-0.331632	0.7464
eta_F1	eta_diffTlag2	2.04679	0.0653363
eta_F1	eta_CI	1.46562	0.170744

		STATISTICS	P-VALUE
eta_F1	eta_V1	-0.0299045	0.976679
eta_F1	eta_Q	1.30361	0.218991
eta_F1	eta_V2	1.23804	0.241474
eta_Tlag1	eta_diffTlag2	2.24919	0.0459554
eta_Tlag1	eta_CL	-2.0763	0.0620937
eta_Tlag1	eta_V1	-0.92849	0.373079
eta_Tlag1	eta_Q	-2.22393	0.0480341
eta_Tlag1	eta_V2	-2.38319	0.0362957
eta_diffTlag2	eta_CL	-0.189126	0.853439
eta_diffTlag2	eta_V1	0.664597	0.519997
eta_diffTlag2	eta_Q	-0.197553	0.846998
eta_diffTlag2	eta_V2	-0.565968	0.582777
eta_CL	eta_V1	1.69945	0.117301
eta_CL	eta_Q	2.77839	0.0179556
eta_CL	eta_V2	2.79362	0.0174732
eta_V1	eta_Q	1.90583	0.0831252
eta_V1	eta_V2	1.702	0.116813
eta_Q	eta_V2	3.12617	0.00964337

Πολλές παράμετροι φάνηκαν να έχουν συσχέτιση αναμεταξύ τους, μετά από διάφορες δοκιμές τα βέλτιστα μοντέλα ήταν τα εξής :

1)Με συσχέτιση Tk02-Tlag1-CL και V2-Q-V1

2)Με συσχέτιση CL-Q-V2

Για το 1 έχουμε:		Για το 2 έχουμε:	
-2 x log-likelihood	55.77	-2 x log-likelihood	42.57

Akaike Information Criteria (AIC)		105.77		Akaike Information Criteria (AIC)		86.57	
Bayesian Information Criteria (BIC)		117.90		Bayesian Information Criteria (BIC)		97.24	
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)		151.88		Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)		131.22	
		STOCH. APPROX.				STOCH. APPROX.	
VALU E		S.E.		R.S.E.(%)		S.E.	
						R.S.E.(%)	
Fixed Effects				Fixed Effects			
ka1_pop	0.361	nan	nan	ka1_pop	0.418	nan	nan
Tk02_pop	0.861	0.584	67.8	Tk02_pop	0.871	0.238	27.3
F1_pop	0.421	0.0804	19.1	F1_pop	0.421	0.133	31.5
Tlag1_pop	0.388	0.0465	12	Tlag1_pop	0.394	0.0228	5.79
diffTlag2_pop	0.927	0.525	56.6	diffTlag2_pop	0.944	0.207	21.9
Cl_pop (kL/h)	0.0119	0.0019	16.2	Cl_pop (kL/h)	0.0119	0.00202	16.9
V1_pop (kL)	0.0604	0.018	29.7	V1_pop (kL)	0.0625	0.0305	48.7
Q_pop (kL/h)	0.0248	0.0039	15.9	Q_pop (kL/h)	0.025	0.00367	14.7
V2_pop (kL)	0.381	0.0538	14.1	V2_pop (kL)	0.378	0.053	14
Standard Deviation of the Random Effects				Standard Deviation of the Random Effects			
omega_ka1	0.486	nan	nan	omega_ka1	0.526	nan	nan
omega_Tk02	0.723	nan	nan	omega_Tk02	0.629	nan	nan
omega_F1	0.917	0.383	41.7	omega_F1	0.961	0.821	85.4
omega_Tlag1	0.137	0.0482	35.3	omega_Tlag1	0.134	0.0489	36.6
omega_diffTlag2	0.514	nan	nan	omega_diffTlag2	0.478	0.146	30.6
omega_Cl	0.56	0.114	20.3	omega_Cl	0.56	0.122	21.7
omega_V1	0.311	0.136	43.6	omega_V1	0.326	0.542	166
				omega_Q	0.484	0.111	22.9
				omega_V2	0.481	0.106	22.1

omega_Q	0.488	0.105	21.5
omega_V2	0.476	0.0994	20.9
Correlations			
corr_Tk02_Cl	-0.566	0.226	40
corr_Tlag1_Cl	-0.645	0.219	33.9
corr_Tlag1_Tk02	0.711	nan	nan
corr_V1_Q	0.726	nan	nan
corr_V2_Q	0.994	0.0245	2.47
corr_V2_V1	0.722	nan	nan
Error Model Parameters			
b	0.0801	0.0335	41.8

Correlations			
corr_Q_Cl	0.95	0.0488	5.14
corr_V2_Cl	0.971	0.0171	1.76
corr_V2_Q	0.993	0.00878	0.884
Error Model Parameters			
b	0.0807	0.0104	12.9

		STATISTICS	P-VALUE
eta_ka1	eta_Tk02	-1.58707	0.140805
eta_ka1	eta_F1	1.2306	0.244138
eta_ka1	eta_Tlag1	-0.792708	0.444709
eta_ka1	eta_diffTlag2	-0.815671	0.431996
eta_ka1	eta_Cl	0.635562	0.538059
eta_ka1	eta_V1	0.595308	0.563685
eta_ka1	eta_Q	0.467436	0.649311
eta_ka1	eta_V2	0.427435	0.67731
eta_Tk02	eta_F1	-1.02459	0.327561
eta_Tk02	eta_Tlag1	1.99264	0.071702
eta_Tk02	eta_diffTlag2	-0.270153	0.792044
eta_Tk02	eta_Cl	-2.45758	0.031815
eta_Tk02	eta_V1	-3.07863	0.010497
eta_Tk02	eta_Q	-2.43076	0.033364

		STATISTICS	P-VALUE
eta_ka1	eta_Tk02	-1.62491	0.132464
eta_ka1	eta_F1	1.21968	0.248092
eta_ka1	eta_Tlag1	-0.239832	0.814871
eta_ka1	eta_diffTlag2	-0.813033	0.433444
eta_ka1	eta_Cl	0.454089	0.658593
eta_ka1	eta_V1	0.718136	0.487646
eta_ka1	eta_Q	0.322894	0.75283
eta_ka1	eta_V2	0.292789	0.775132
eta_Tk02	eta_F1	-0.862825	0.406653
eta_Tk02	eta_Tlag1	1.96283	0.07545
eta_Tk02	eta_diffTlag2	-0.63205	0.540268
eta_Tk02	eta_Cl	-2.3409	0.039110
eta_Tk02	eta_V1	-2.17896	0.051959
eta_Tk02	eta_Q	-2.27949	0.043575

eta_Tk02	eta_V2	-2.56247	0.026402	eta_Tk02	eta_V2	-2.42499	0.033707
eta_F1	eta_Tlag1	-0.532086	0.605246	eta_F1	eta_Tlag1	-0.181403	0.859351
eta_F1	eta_diffTlag2	2.52931	0.028007	eta_F1	eta_diffTlag2	2.76514	0.018386
eta_F1	eta_CI	1.12696	0.283743	eta_F1	eta_CI	1.17739	0.263886
eta_F1	eta_V1	-0.00869393	0.993219	eta_F1	eta_V1	-0.019099	0.985104
eta_F1	eta_Q	1.01967	0.329786	eta_F1	eta_Q	1.05016	0.316169
eta_F1	eta_V2	0.965199	0.355186	eta_F1	eta_V2	1.06358	0.310308
eta_Tlag1	eta_diffTlag2	0.866566	0.404686	eta_Tlag1	eta_diffTlag2	1.14867	0.275057
eta_Tlag1	eta_CI	-1.9567	0.076241	eta_Tlag1	eta_CI	-1.94451	0.077841
eta_Tlag1	eta_V1	-2.05844	0.064037	eta_Tlag1	eta_V1	-2.33489	0.039527
eta_Tlag1	eta_Q	-2.12976	0.056602	eta_Tlag1	eta_Q	-2.13649	0.055945
eta_Tlag1	eta_V2	-2.1362	0.055973	eta_Tlag1	eta_V2	-2.09032	0.060607
eta_diffTlag2	eta_CI	-0.042682	0.96672	eta_diffTlag2	eta_CI	-0.620849	0.547348
eta_diffTlag2	eta_V1	0.297178	0.771867	eta_diffTlag2	eta_V1	-0.000306	0.999761
eta_diffTlag2	eta_Q	-0.330046	0.747565	eta_diffTlag2	eta_Q	-0.832087	0.423056
eta_diffTlag2	eta_V2	-0.49063	0.633329	eta_diffTlag2	eta_V2	-0.900973	0.386904
eta_CI	eta_V1	2.23601	0.047028	eta_CI	eta_V1	2.28123	0.043442
eta_CI	eta_Q	2.78097	0.017872	eta_CI	eta_Q	2.75809	0.018619
eta_CI	eta_V2	2.79732	0.017357	eta_CI	eta_V2	2.76535	0.018379
eta_V1	eta_Q	2.34168	0.039056	eta_V1	eta_Q	2.30468	0.041687
eta_V1	eta_V2	2.27056	0.044263	eta_V1	eta_V2	2.20384	0.049750
eta_Q	eta_V2	3.13899	0.009425	eta_Q	eta_V2	3.08317	0.010412

Από τις τιμές των p-value δεν μπορεί να αντληθεί κάποιο συμπέρασμα γιατί είναι παραπλήσιες, έτσι βασιζόμαστε στις τιμές των παραμέτρων. Για τις συσχετίσεις του μοντέλου 1 δεν είναι υπολογίζονται τα σφάλματα εκτίμησης των παραμέτρων, επιπλέον έχει υψηλότερες τιμές -2LL/AIC/BIC και το γράφημα VPC ήταν ίδιο. Συμπερασματικά, καταλήγουμε στο μοντέλο [18]-2.

Ακολούθησε προσπάθεια εισαγωγής συµµεταβλητών, ειδικότερα του $\log\text{BMI}$ στο $F1$ και την CL και του $\log\text{Height}$ στον $V1$. Οι προσπάθειες ήταν ανεπιτυχείς διότι ακόµα και αν προκαλούσαν βελτίωση δεν ήταν στατιστικά σηµαντική για να παραµείνει στο µοντέλο.

Τελικά το µοντέλο εκλογής για την περιγραφή των παρατηρήσεων του Τεστ σκευάσµατος είναι:

∆ιαµερισµατικό µοντέλο, διπλής απορρόφησης µε αναλογικό σφάλµα και γραµµική κινητική αποµάκρυνσης. Οι δυο απορροφήσεις συµβαίνουν ταυτόχρονα και έχουν ένα µικρό χρονικό διάστηµα καθυστέρησης. Η πρώτη απορρόφηση έχει καθυστέρηση $Tlag1$, παρουσιάζει πρωτοταξική κινητική απορρόφησης µε ρυθµό ka_1 και απορροφά κλάσµα $F1$ του φαρµάκου. Η δεύτερη έχει καθυστέρηση $Tlag2=Tlag1+diffTlag2$, παρουσιάζει µηδενοταξική απορρόφηση διάρκειας $Tk02$ και απορροφά κλάσµα $1-F1$ του φαρµάκου. Στο µοντέλο βρέθηκε συσχέτιση ανάµεσα στην κάθαρση την διαµερισµατική κάθαρση και τον όγκο του δεύτερου διαµερίσµατος, $CL-Q-V2$.

Τα σφάλµατα ακολουθούν κανονική κατανοµή και οι παράµετροι ka_1 , $Tk02$, $Tlag1$, $diffTlag2$, CL , $V1$, Q , $V2$ εκτός της $F1$ ακολουθούν \log -κανονική κατανοµή. Η παράµετρος $F1$ ακολουθεί logit -κανονική κατανοµή.

Παρουσιάζεται ο τύπος που είναι γραµµένη η διατοµική µεταβλητότητα.

```
log(ka1) = log(ka1_pop) + eta_ka1
log(Tk02) = log(Tk02_pop) + eta_Tk02
log( F1 / ( 1 - F1 ) ) = log( F1_pop / ( 1 - F1_pop ) ) + eta_F1
log(Tlag1) = log(Tlag1_pop) + eta_Tlag1
log(diffTlag2) = log(diffTlag2_pop) + eta_diffTlag2
log(CL) = log(CL_pop) + eta_CL
log(V1) = log(V1_pop) + eta_V1
log(Q) = log(Q_pop) + eta_Q
log(V2) = log(V2_pop) + eta_V2
Correlations
ID : {Q, V1, V2}, {CL, Tk02, Tlag1}
```

Τιμές για $-2LL$ και κριτήρια πληροφορίας

$-2 \times \log\text{-likelihood}$	42.57
Akaike Information Criteria (AIC)	86.57
Bayesian Information Criteria (BIC)	97.24
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	131.22

Αποτελέσµατα των παραµέτρων σε πίνακα.

Πίνακας 4 Αποτελέσματα παραμέτρων για το τελικό μοντέλο του σκευάσματος Τεστ.

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
Fixed Effects			
ka1_pop	0.418	nan	nan
Tk02_pop	0.871	0.238	27.3
F1_pop	0.421	0.133	31.5
Tlag1_pop	0.394	0.0228	5.79
diffTlag2_pop	0.944	0.207	21.9
Cl_pop (L/h)	11.9	0.202	16.9
V1_pop (L)	62.5	3.05	48.7
Q_pop (L/h)	25.0	0.367	14.7
V2_pop (L)	378	53.0	14
Standard Deviation of the Random Effects			
omega_ka1	0.526	nan	nan
omega_Tk02	0.629	nan	nan
omega_F1	0.961	0.821	85.4
omega_Tlag1	0.134	0.0489	36.6
omega_diffTlag2	0.478	0.146	30.6
omega_Cl	0.56	0.122	21.7
omega_V1	0.326	0.542	166
omega_Q	0.484	0.111	22.9
omega_V2	0.481	0.106	22.1
Correlations			
corr_Q_Cl	0.95	0.0488	5.14
corr_V2_Cl	0.971	0.0171	1.76
corr_V2_Q	0.993	0.00878	0.884

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
Error Model Parameters			
b	0.0807	0.0104	12.9

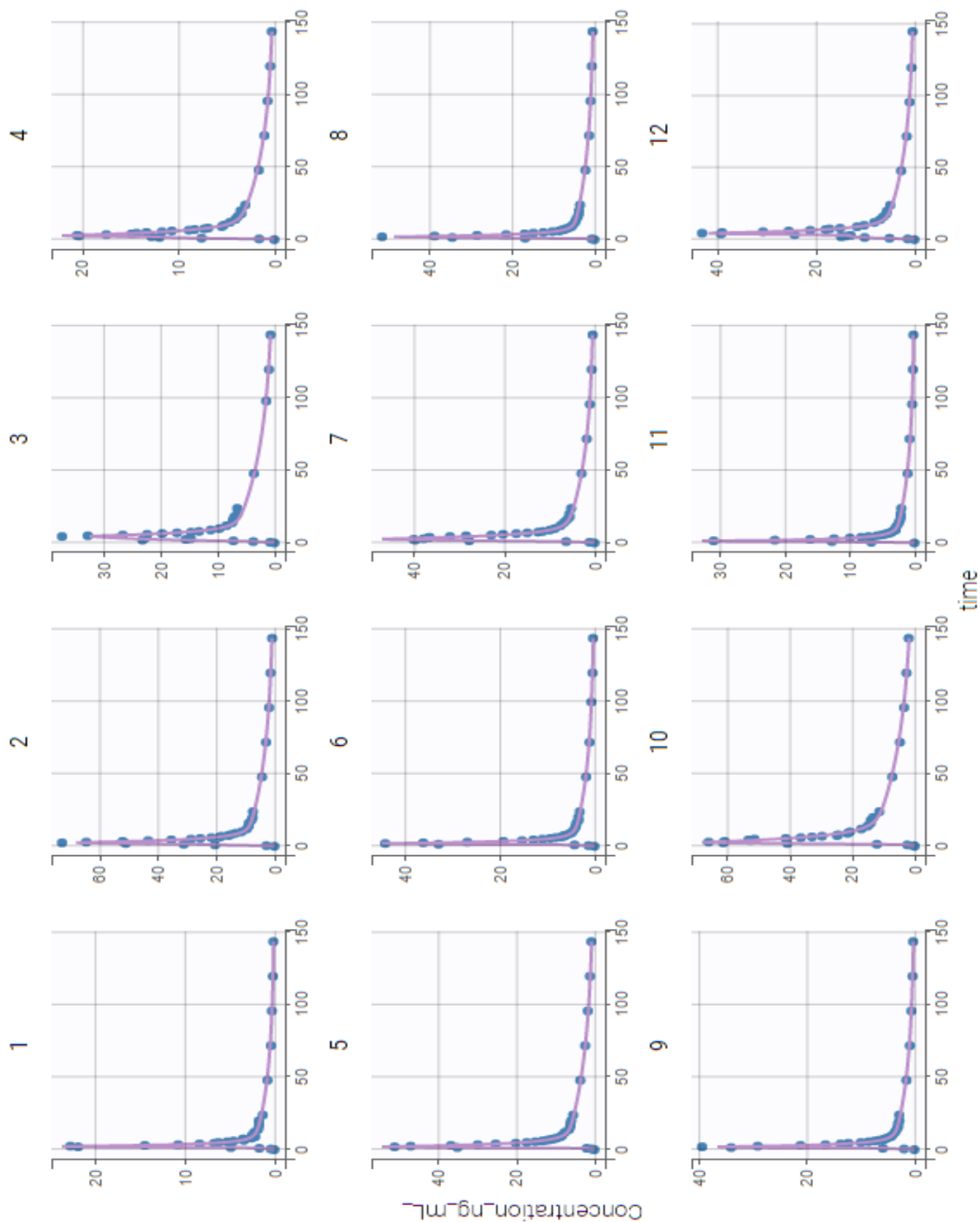
Η πρώτη απορρόφηση έχει $ka = 0.42 \text{ h}^{-1}$, με χρονοκαθυστέρηση 0.39 ώρες και κλάσμα απορρόφησης 0.42

Διάρκεια 2^{ης} απορρόφησης 0.87 ώρες με χρονοκαθυστέρηση περίπου 1.33 ώρες.

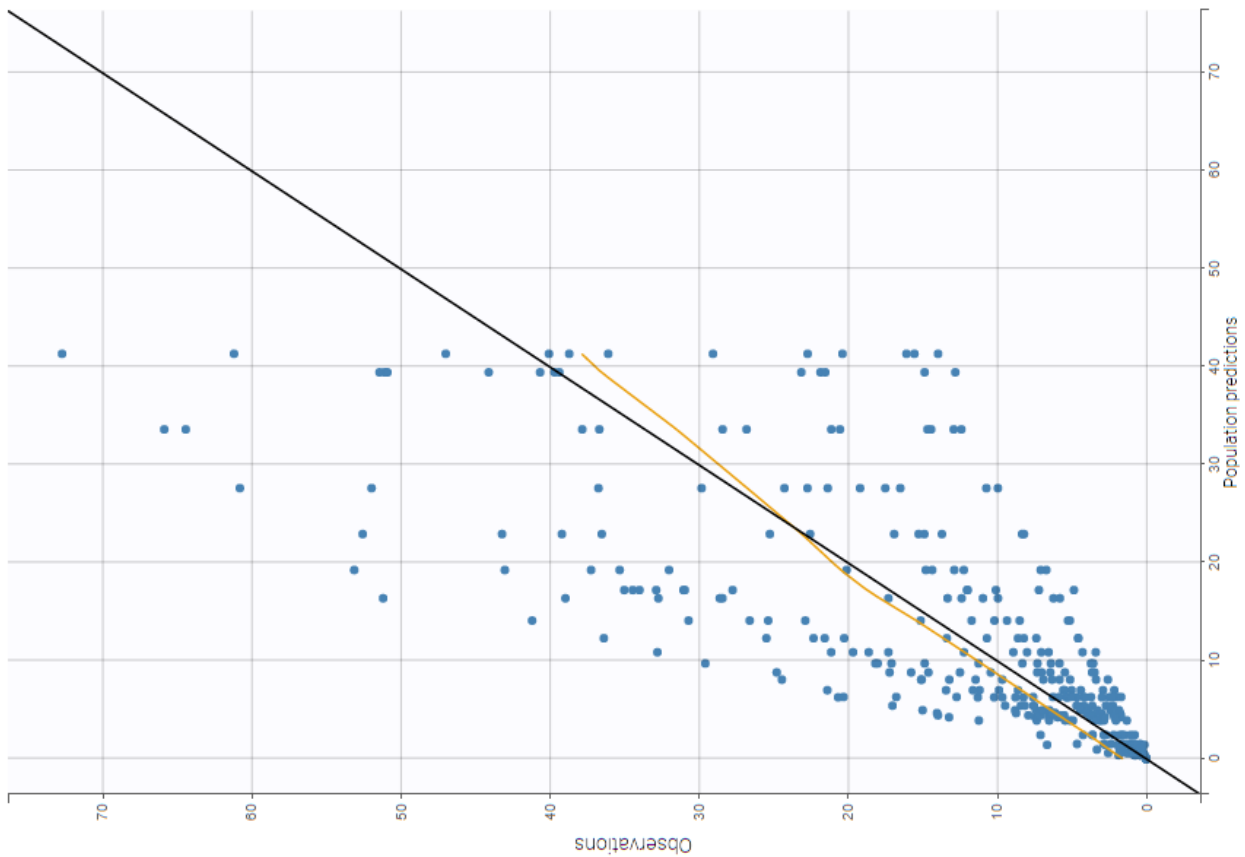
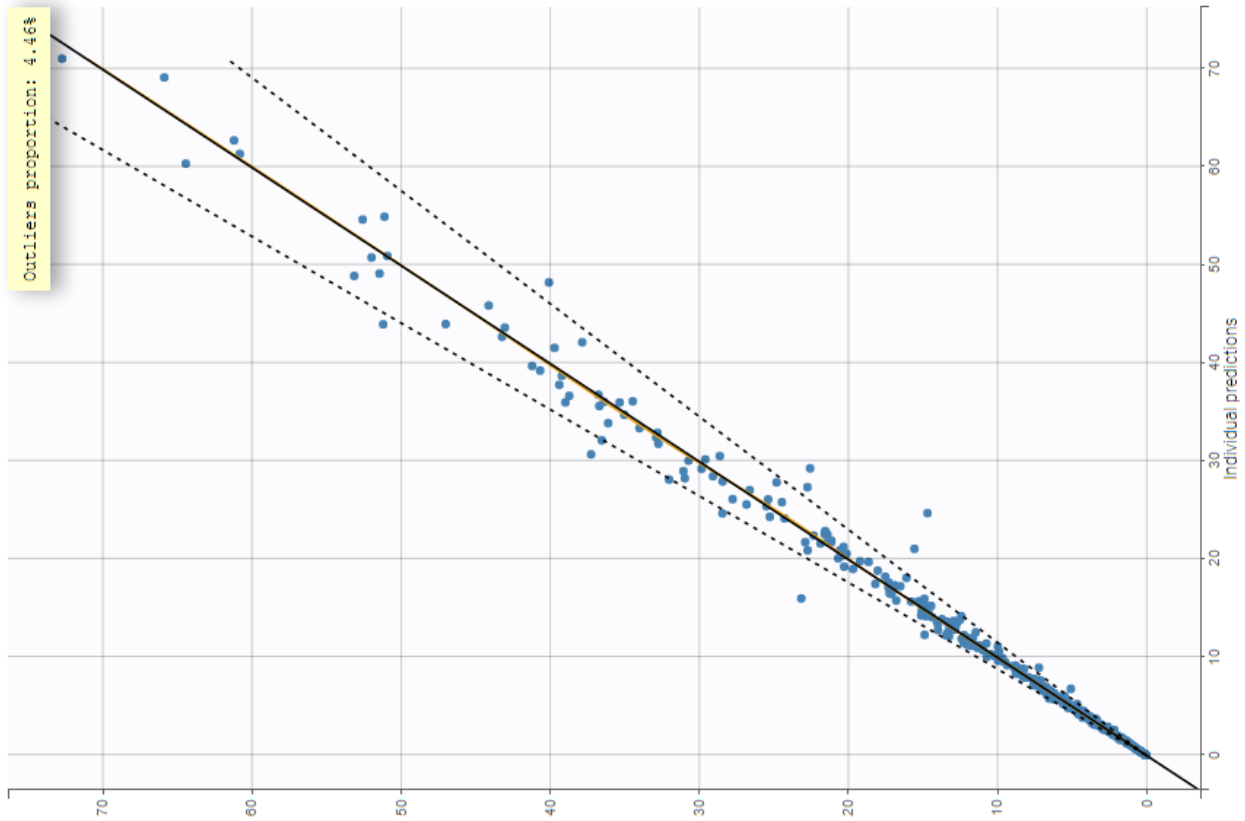
Διατομική μεταβλητότητα κάθαρσης 56 % , V1 32.6%, διαδιαμερισματικής κάθαρσης 48.4 % και V2 48.1%.

Υπόλοιπη μεταβλητότητα 8.1%.

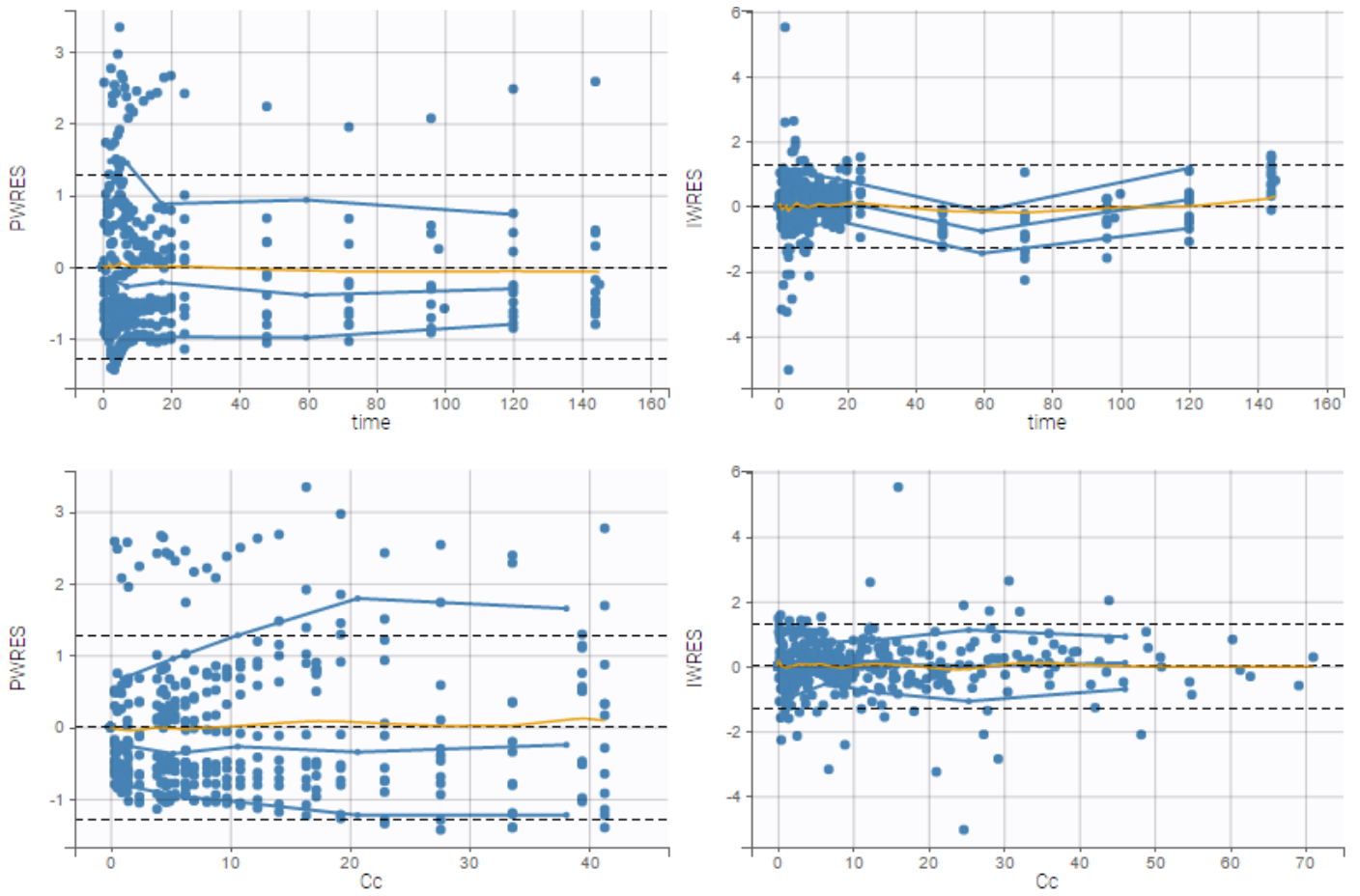
Ακολουθούν τα γραφήματα καλής προσαρμογής.



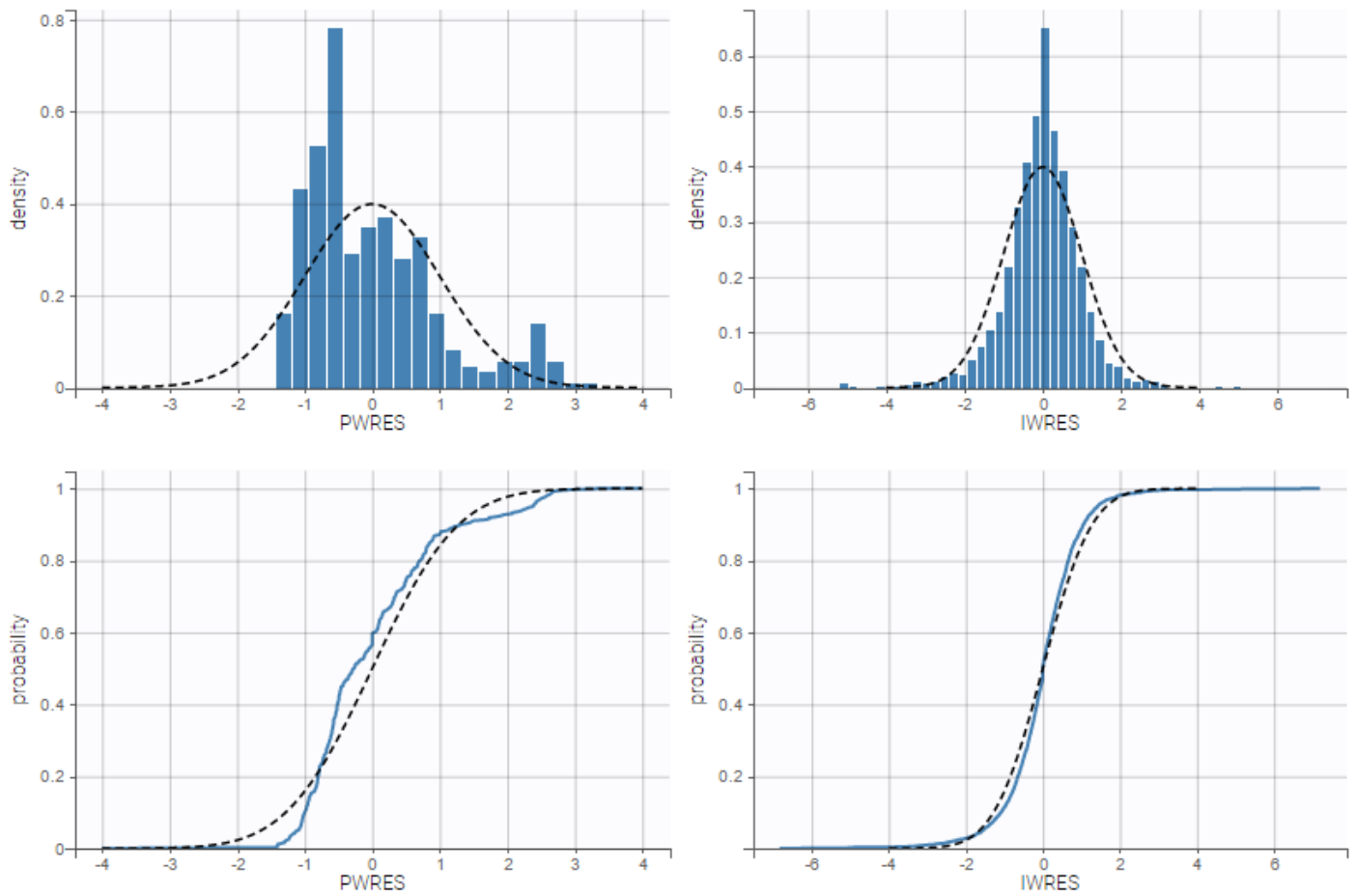
Εικόνα 24 Γράφημα ατομικής προσαρμογής μοντέλου στους εθελοντές. Οι παρατηρήσεις απεικονίζονται με τις μπλε κουκκίδες και το προβλεπόμενο μοντέλο με την συνεχή μωβ ευθεία. Το μοντέλο φαίνεται να περιγράφει ικανοποιητικά τα δεδομένα αφού περνάει ακριβώς πάνω από τις παρατηρήσεις.



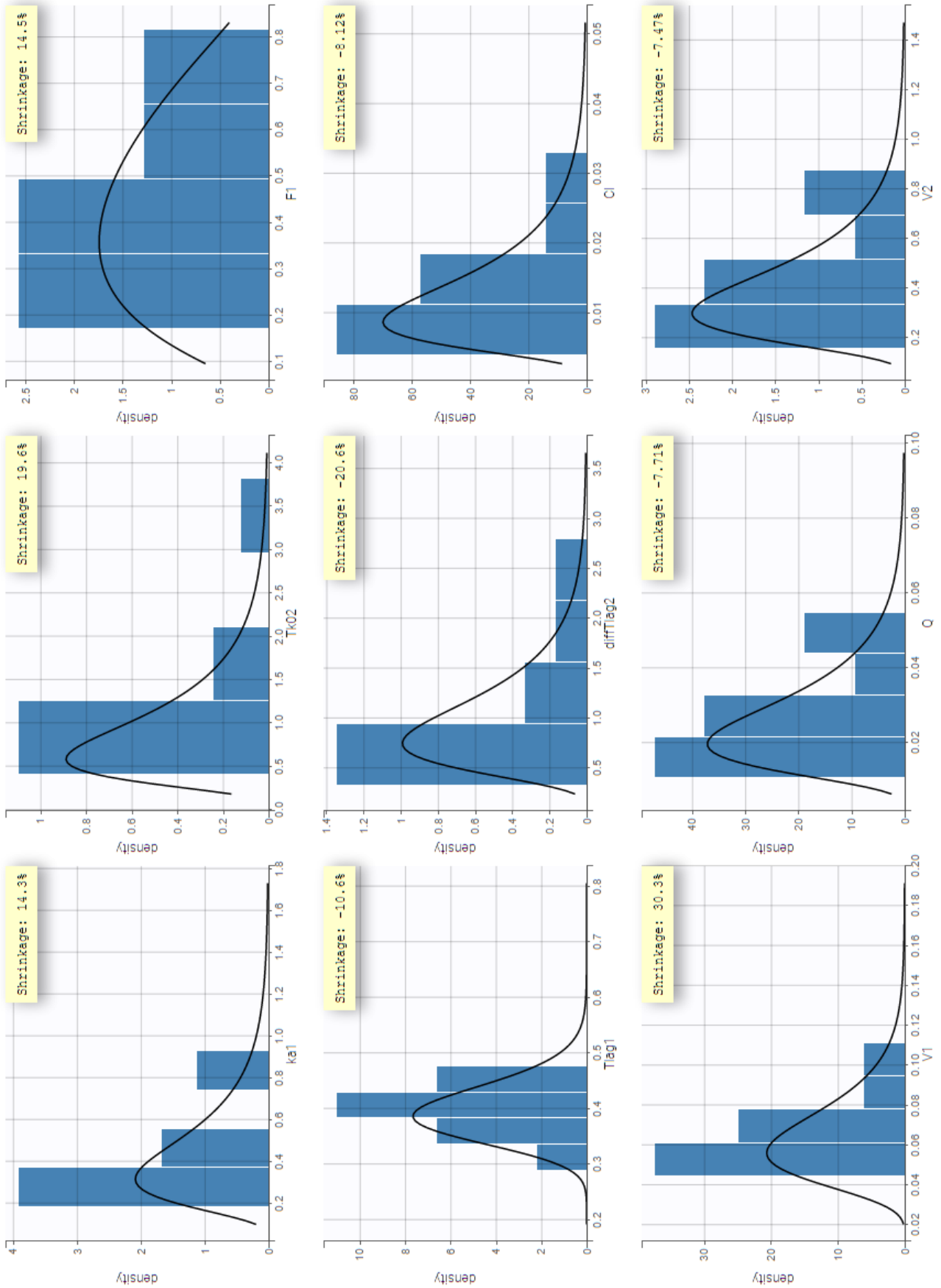
Εικόνα 25 Γράφημα *observed vs predicted*. Οι παρατηρήσεις βρίσκονται εντός του 90% διαστήματος πρόβλεψης που ορίζεται από τις ευθείες και είναι συμμετρικές ως προς την ταυτοτική ευθεία.



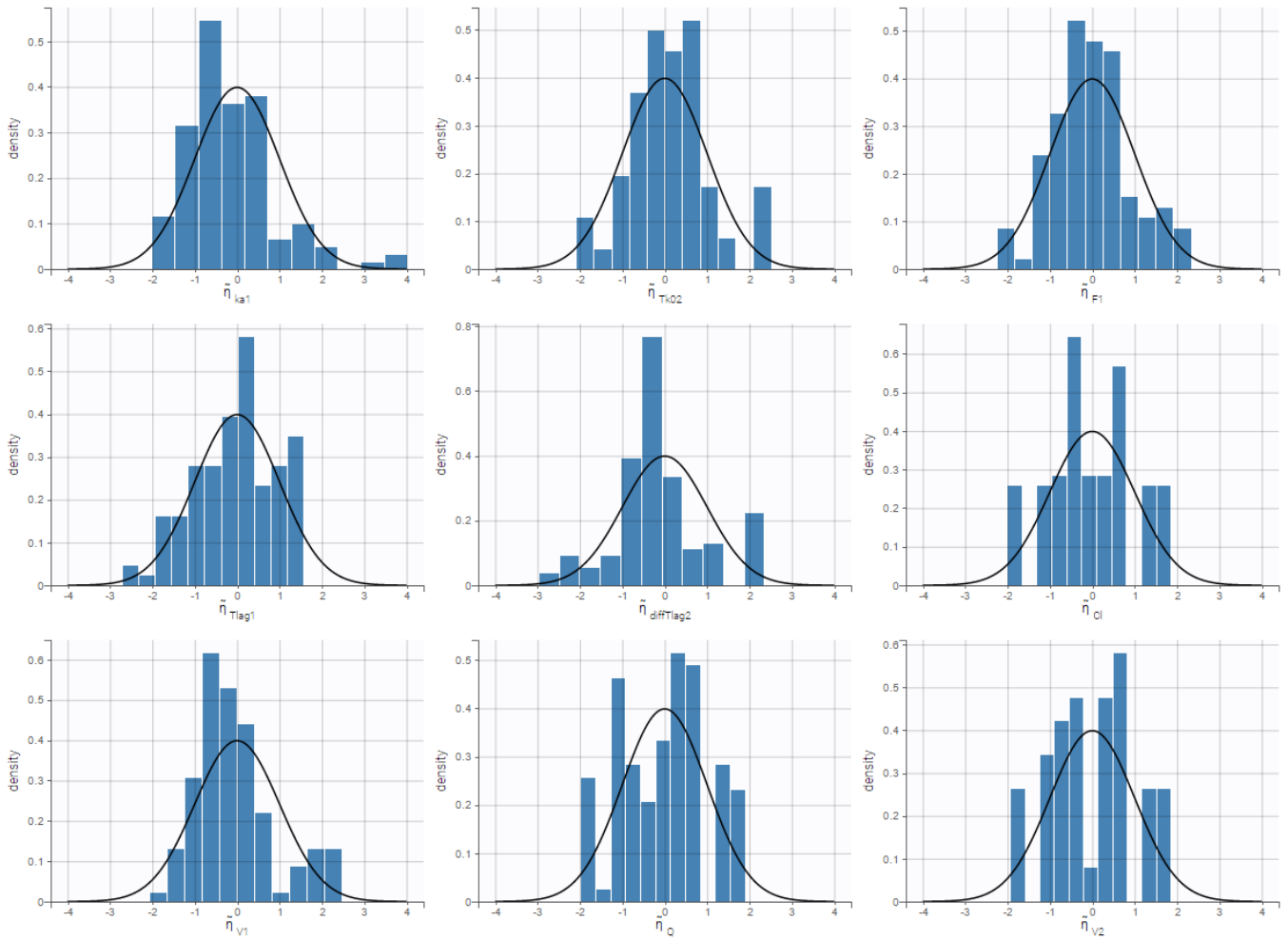
Εικόνα 26 Γράφημα διασποράς πληθυσμιακών και ατομικών σφαλμάτων ως προς τον χρόνο και την συγκέντρωση. Παρατηρείται τάση και πολλές τιμές εκτός του διαστήματος εμπιστοσύνης που ορίζεται από τις ευθείες. Χρήση τριδιαμερισματικού μοντέλου βελτίωσε το γράφημα, ωστόσο απορρίφθηκε λόγω υψηλής αβεβαιότητας.



Εικόνα 27 Γράφημα κατανομής σφαλμάτων (αριστερά για πληθυσμιακές τιμές, δεξιά για ατομικές τιμές). Για τις ατομικές τιμές τα γραφήματα είναι πολύ ικανοποιητικά, για τις πληθυσμιακές επιδέχονται βελτίωσης.



Εικόνα 28 Γράφημα κατανομής ατομικών παραμέτρων. Συγκεκριμένα των EBEs . Στο κίτρινο πλαίσιο παρουσιάζεται το η-shrinkage. Τα γραφήματα είναι ικανοποιητικά, διότι το εκάστοτε ιστόγραμμα είναι εντός της καμπύλης που ορίζεται σαν λογαριθμοκανονική.

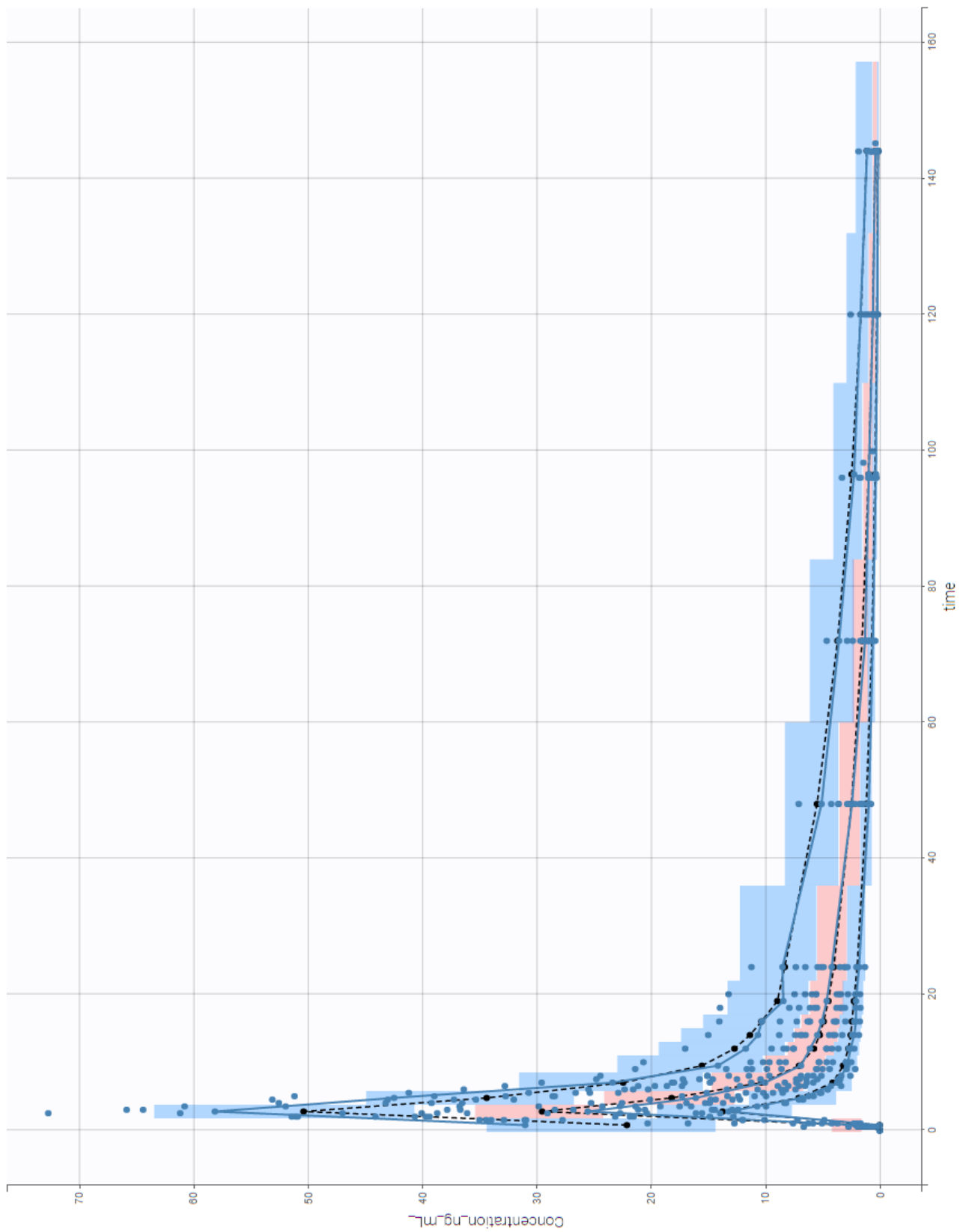


Εικόνα 29 Κατανομή των η . Ορισμένα γραφήματα είναι ικανοποιητικά, άλλα επιδέχονται βελτίωσης όπως αυτό της παραμέτρου V2.

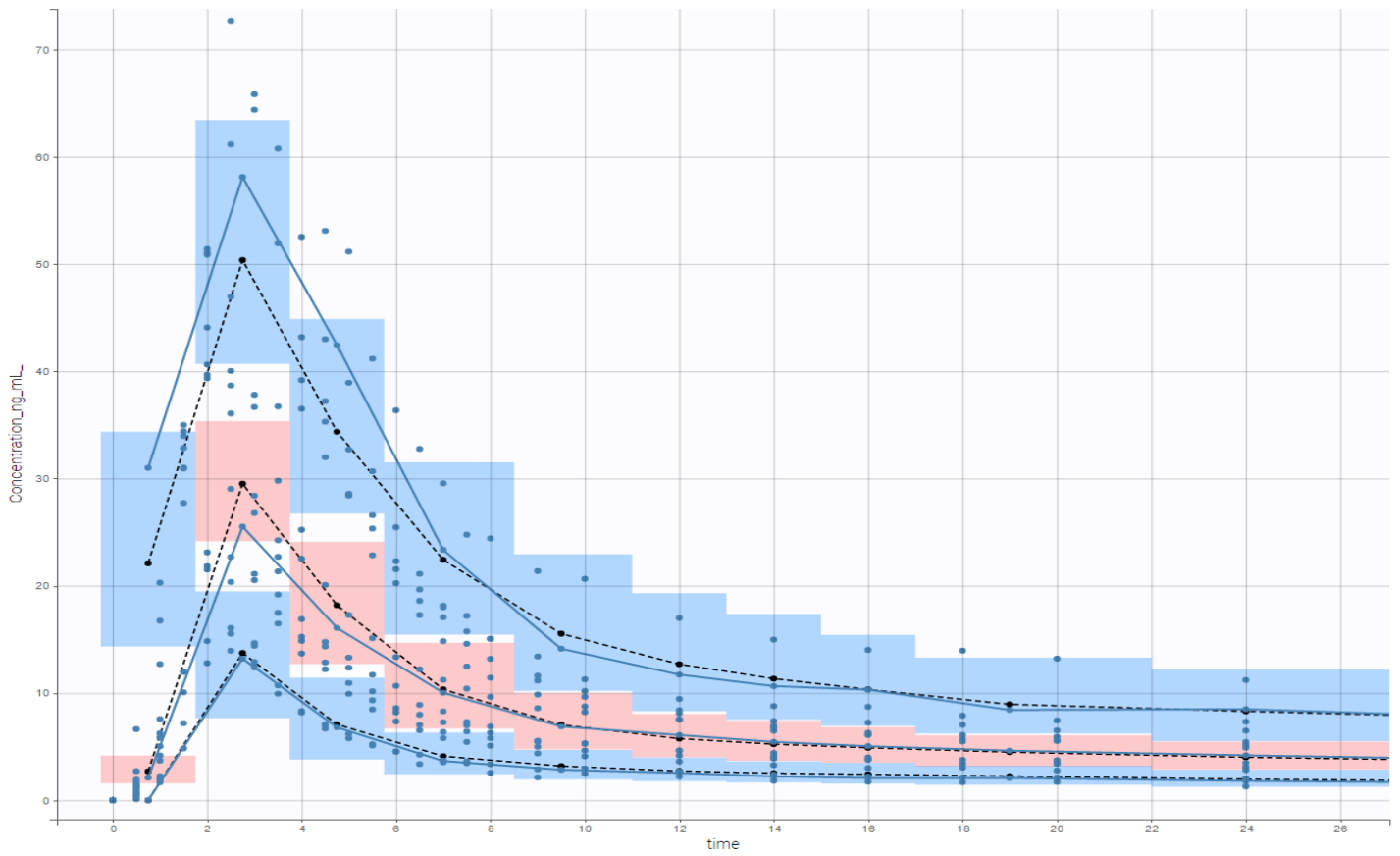
STATISTICS P-VALUE

eta_ka1	0.901752	0.0900821
eta_Tk02	0.928461	0.276131
eta_F1	0.938892	0.801502
eta_Tlag1	0.958303	0.949456
eta_diffTlag2	0.928179	0.649342
eta_Cl	0.988386	0.99999
eta_V1	0.908986	0.104803
eta_Q	0.972798	0.982542
eta_V2	0.981118	0.999785

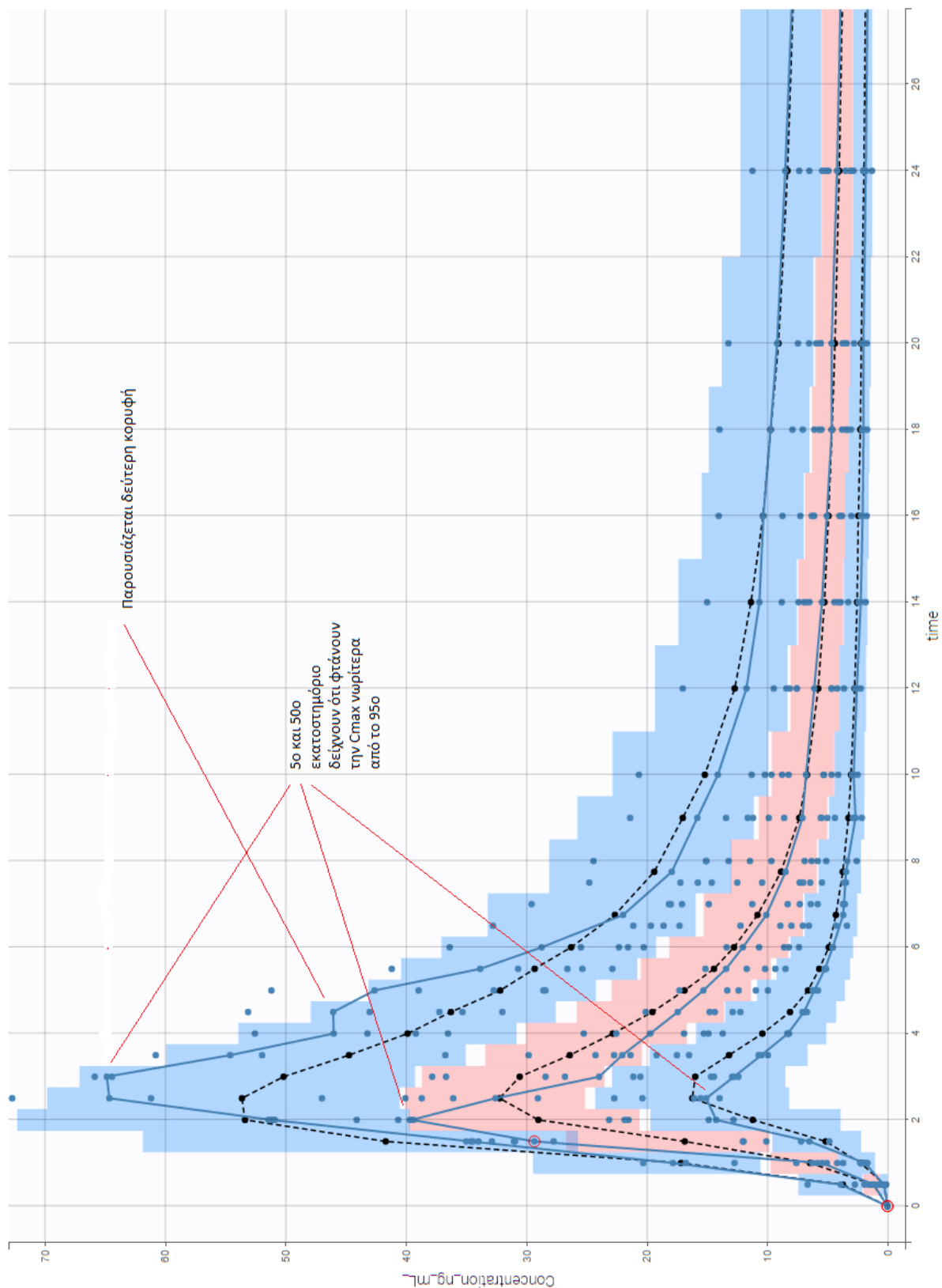
Πίνακας 5 Έλεγχος κατανομής για Shapiro Wilk test . P-value μεγαλύτερο του 0.05 δηλώνει σωστή επιλογή τύπου κατανομής των παραμέτρων.



Εικόνα 30 VPC για 15 fixed bins. Παρουσιάζονται τα 5°, 50° και 95° εκατοστημόρια. Το μοντέλο φαίνεται επιτυχές καθώς τα εκατοστημόρια των παρατηρήσεων είναι εντός των μη παραμετρικών διαστημάτων εμπιστοσύνης που προκύπτουν από την εκτίμηση των εκατοτημορίων πρόβλεψης.



Εικόνα 31 VPC 15 fixed bins 5°, 50° και 95° εκατοστημόριο. Μεγέθυνση στις πρώτες 24 ώρες.



Εικόνα 32 VPC με 29 bins με μεγέθυνση τις πρώτες 24 ώρες. Παρουσιάζονται το 5^ο, το 50^ο και το 95^ο εκατοστημόριο. 29 bins γιατί τόσες ήταν οι δειματοληψίες. Ελαφρώς χειρότερη εικόνα VPC συγκριτικά με αυτήν των 15 bins.

Στις πρώτες ώρες τα εκατοστημόρια των δεδομένων δεν συμπίπτουν απόλυτα με των προσομοιώσεων, ωστόσο εμπίπτουν στα μη παραμετρικά διαστήματα εμπιστοσύνης των προσομοιώσεων πλην ενός σημείου

της διαμέσου για τις πρώτες ώρες. Αυτό μάλλον συμβαίνει γιατί με τα περισσότερα bin μοιράζεται η πληροφορία.

Πίνακας 6 Αποτελέσματα για 500 bootstraps.

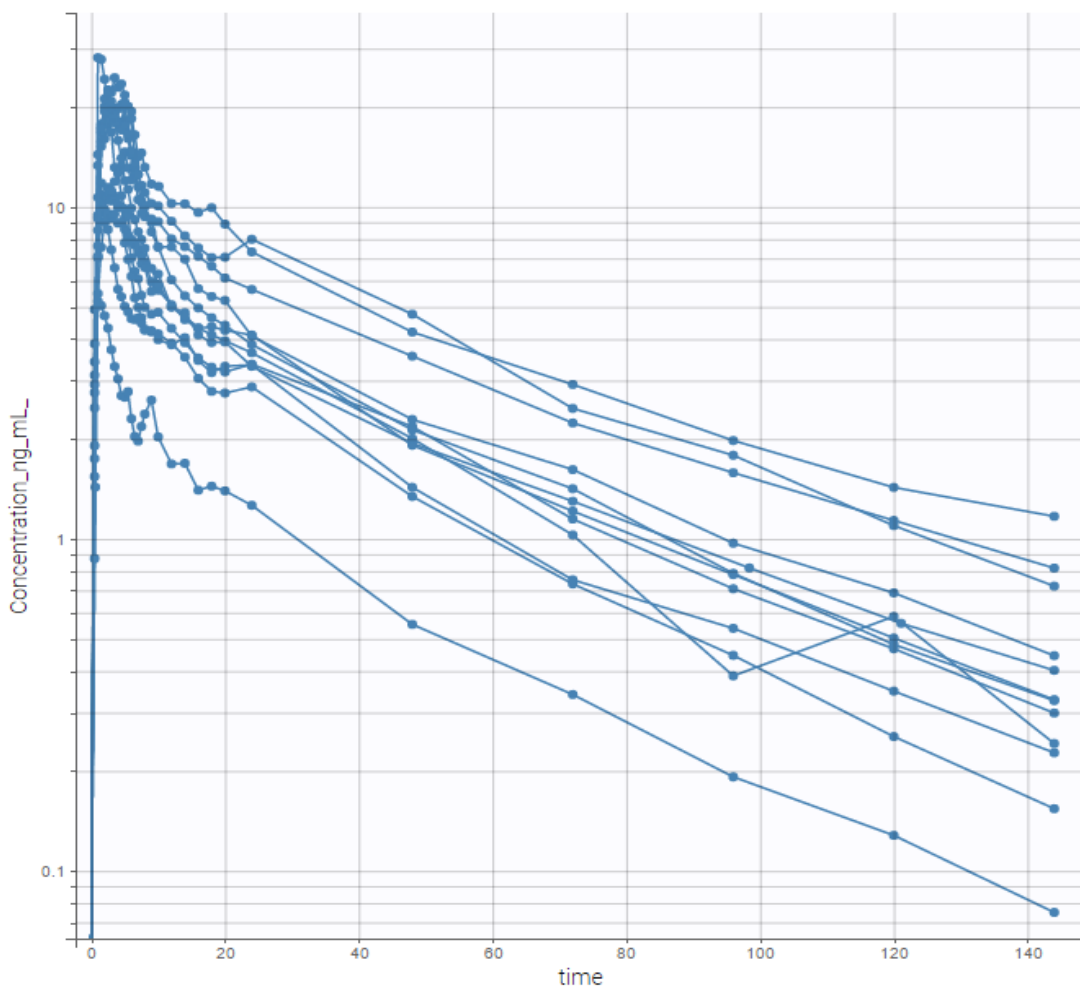
Παράμετροι	Μέση τιμή Bootstrap	Bootstrap CV%	Bootstrap Confidence Interval 95%
Ka1_pop	0.430	29.6	0.286-0.744
Tk02_pop	0.965	22.3	0.602-1.40
F1_pop	0.384	15.2	0.271-0.485
Tlag1_pop	0.388	4.6	0.353-0.422
diffTlag2_pop	0.874	15.1	0.644-1.19
Cl_pop	11.9	15.9	8.68-15.4
V1_pop	62.7	12.9	51.3-85.0
Q_pop	24.6	14.3	18.1-31.7
V2_pop	376.5	13.7	283.3- 474.5
omega_ka1	0.567	50.1	0.141-1.01
omega_Tk02	0.600	32.7	0.291-1.03
omega_F1	0.848	25.9	0.440-1.19
omega_Tlag1	0.121	33.0	0.057-0.193
omega_diffTlag2	0.459	31.6	0.125-0.725
omega_Cl	0.534	19.0	0.338-0.712
omega_V1	0.296	36.7	0.051-0.477
omega_Q	0.457	19.4	0.293-0.599
omega_V2	0.455	17.2	0.314-0.592
corr_Q_Cl	0.947	5.01	0.834-0.989
corr_V2_Cl	0.969	2.53	0.913-0.997
corr_V2_Q	0.992	1.10	0.964-0.999
b	0.078	16.6	0.057-0.102

Η μέση τιμή του bootstrap είναι εντός του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης. Οι παράμετροι με σχετικά υψηλή τιμή CV έχουν τονισμένη γραμματοσειρά.

3.2 Advagraf

Όμοια με το Test σκεύασμα εκμεταλεύτηκαν πληροφορίες από την βιβλιογραφία και αναπτύχθηκε το μοντέλο σύμφωνα με τις μεθόδους που αναφέρθηκαν νωρίτερα. Καθώς έχουμε την ίδια δραστική σε διαφορετική φαρμακοτεχνολογική μορφή έγινε εστίαση στην κινητική απορρόφησης και στην ύπαρξη χρονοκαθυστερήσεως, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν διερευνήθηκε ενδελεχώς ο αριθμός των διαμερισμάτων και η κινητική απομάκρυνσης. Αρχικά θα παρουσιαστούν ενδείξεις από τα γραφήματα των δεδομένων και στην συνέχεια θα αναφερθούν τα μοντέλα που δοκιμάστηκαν με σκοπό την κατάλληλη στο τελικό μοντέλο.

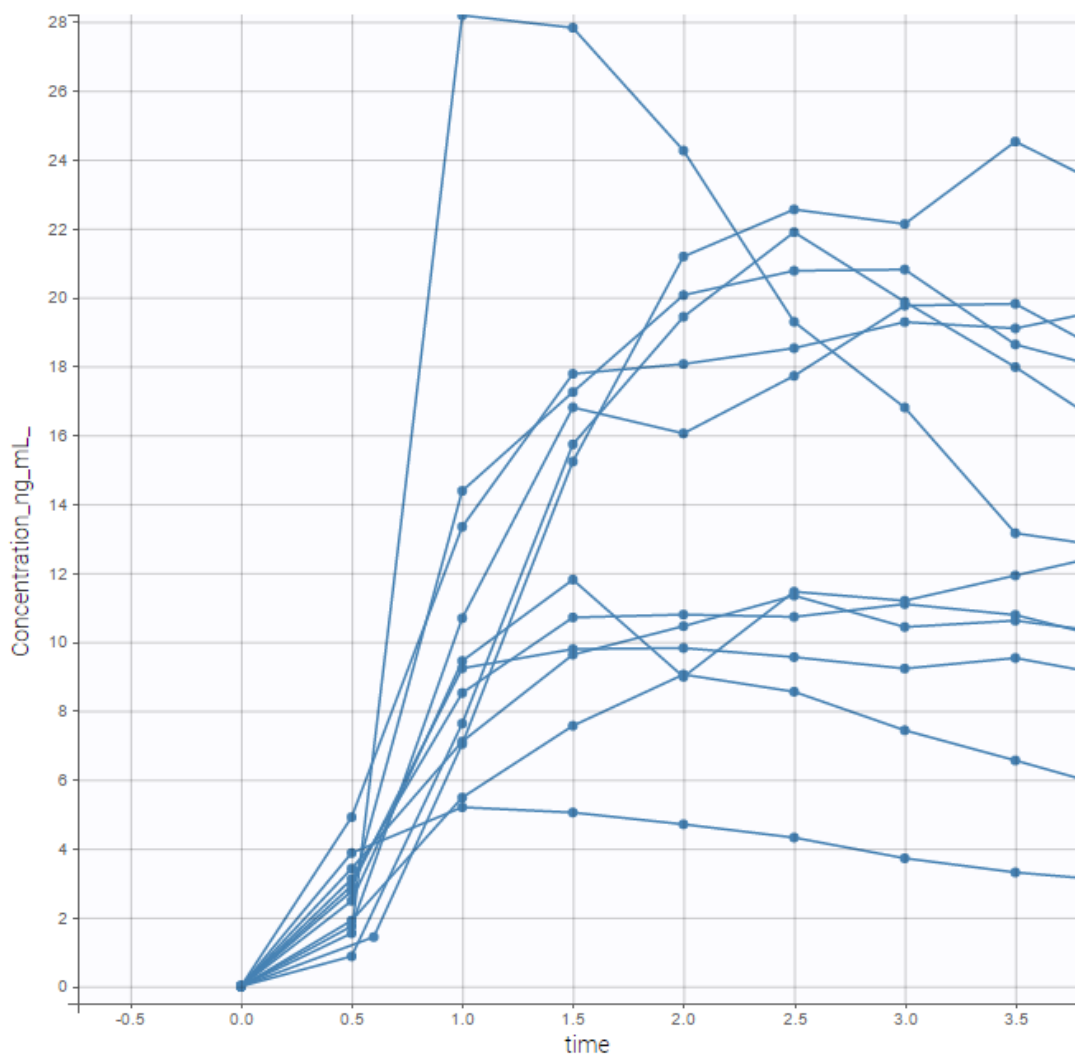
A) Αριθμός διαμερισμάτων



Εικόνα 33 Απεικόνιση των δεδομένων για το Advagraf σε spaghetti plot σε κλίμακα $\text{Log}(C)-t$

Αντίστοιχα με πριν είναι ορατή η ύπαρξη δυο κλίσεων. Ενδέχεται όμως να υπάρχουν και παραπάνω, για αυτό τον λόγο θα μελετηθούν το δι- και τρι- διαμερισματικό μοντέλο.

B) Προσθήκη χρονοκαθυστερήσεως



Εικόνα 34 Advagraf για τις πρώτες ώρες

Η μέτρηση στην μισή ώρα υποδηλώνει την ύπαρξη χρονοκαυστέρησης. Για επαλήθευση θα εφαρμοστεί στο μοντέλο και ανάλογα τα αποτελέσματα θα διατηρηθεί ή θα αποκλειστεί.

Γ) Κινητική απομάκρυνσης

Πιθανότερη κινητική απομάκρυνσης θεωρείται η γραμμική για λόγους που έχουν γραφτεί προηγουμένως. Για παν ενδεχόμενο θα δοκιμαστεί η εφαρμογή της Michaelis Menten και θα αξιολογηθεί ανάλογα.

Δ) Μοντέλο σφάλματος

Επιλέχθηκε το αναλογικό μοντέλο σφάλματος για τον ίδιο λόγο που επιλέχθηκε στο προηγούμενο σκεύασμα.

Η κινητική της απορρόφησης δεν είναι γνωστή έτσι ξεκίνησε να δοκιμάζεται μια σειρά μοντέλων με διαφορετική τάξη απορρόφησης.

Μοντέλα που δοκιμάστηκαν για μηδενοταξική απορρόφηση -2LL/AIC

Χωρίς καθυστέρηση, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 176.16

Χωρίς καθυστέρηση, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 165.81

Lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 15.86/41.08

Lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 0.16/33.02

Μοντέλα που δοκιμάστηκαν για πρωτοταξική απορρόφηση -2LL/AIC

Χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 213.12

Χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 192.98

Χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση 215.84

Χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, Michaelis Menten απομάκρυνση 195.15

Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση -34.96/-24.28

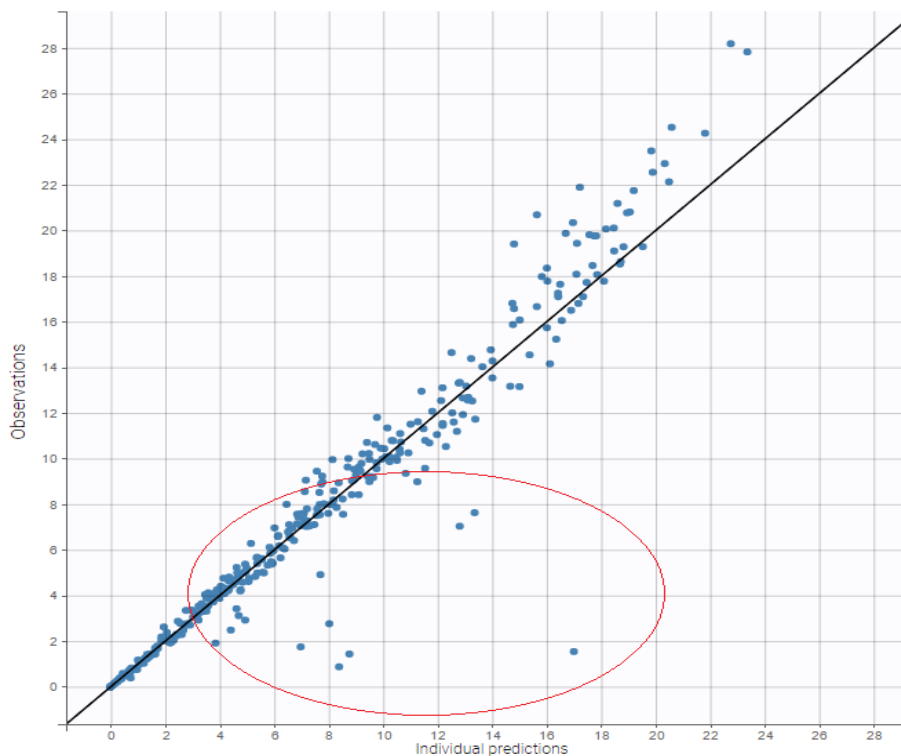
Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση -70.00/ -67.43

Transit comp., 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση 4.15/17.46

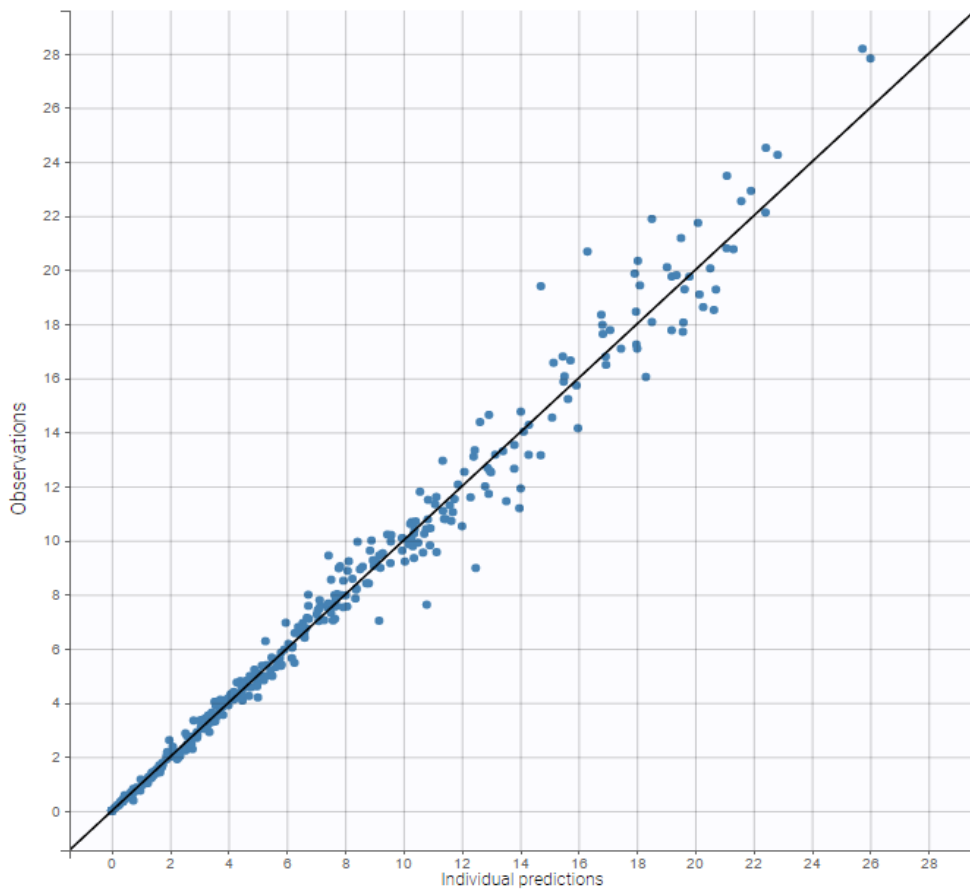
Transit comp., 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση -49.00

Σύμπερασμα : Κρίνοντας από τις τιμές των -2LL των μοντέλων είναι σαφές ότι η προσθήκη χρονοκαθυστέρησης βελτιώνει πολύ το μοντέλο είτε σε μορφή lag time είτε σε μορφή transit compartment. Αυτό είναι ορατό και από τα γραφήματα observed-predicted, στα οποία είναι ορατά λάθη που αφορούν το δομικό μοντέλο. Επίσης, παρατηρούμε ότι μοντέλα με τριδιαμερισματικό μοντέλο παρουσιάζουν χαμηλότερη τιμή -2LL η οποία σύμφωνα με το LRT (Likelihood Ratio Test) είναι στατιστικά σημαντική, αφού σε όλες

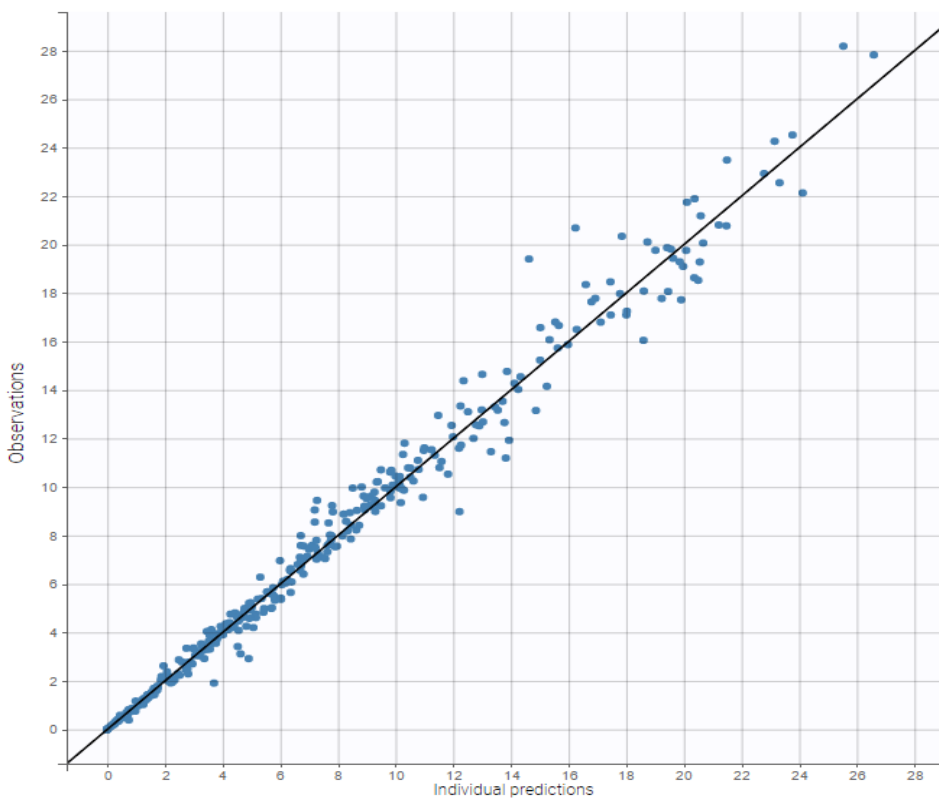
τις περιπτώσεις σύγκρισης φωλιασμένων μοντέλων η διαφορά των $-2LL$ είναι μεγαλύτερη από 3.84. Όσον αφορά την απορρόφηση, βλέπουμε ότι μοντέλα με πρωτοταξική απορρόφηση εμφανίζουν μικρότερες τιμές AIC όταν συγκρίνονται με αντίστοιχα που έχουν μηδενοταξική απορρόφηση, έτσι, θα διατηρηθεί η πρωτοταξική απόρροφηση. Τέλος, η χρήση Michaelis Menten δεν προκαλεί βελτίωση στο μοντέλο, λαμβάνοντας υπόψη ότι δεν ταίριαζε ούτε στο προηγούμενο σκεύασμα απορρίφθηκε.



Εικόνα 35 Χωρίς καθυστέρηση , πρωτοταξική απορρόφηση, διδιαμερισματικό, γραμμική απομάκρυνση. εντός του κύκλου περιλαμβάνονται παρατηρήσεις για 0,5 και 1 ώρα. Γράφημα. C-t



Εικόνα 36 Lag time, πρωτοταξική απορρόφηση, διδιαμερισματικό, γραμμική απομάκρυνση. Γράφημα C-t



Εικόνα 37 Transit compartments, πρωτοταξική απορρόφηση, διδιαμερισματικό μοντέλο, γραμμική απομάκρυνση. C-t γράφημα

Παρατηρούμε ότι με την χρήση χρονοκαθυστέρησης το γράφημα OBS vs PRED βελτιώθηκε πολύ, αφού οι παρατηρήσεις που υπήρχαν στην περιοχή του κόκκινου κύκλου εξαφανίστηκαν.

Η ύπαρξη πολλαπλών κορυφών στους περισσότερους εθελοντές (11/12) ώθησε στην διερεύνηση για μοντέλο με διπλή απορρόφηση, επιπρόσθετα δοκιμάστηκε και μοντέλο με εντεροηπατική κυκλοφορία.

Μοντέλα που δοκιμάστηκαν με διπλή απορρόφηση και εντεροηπατική κυκλοφορία 2LL/AIC

Lag time, 0 απορρόφηση, χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, διαδοχικά, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομακρυνση * -85.76/-51.32

Lag time, 0 απορρόφηση, χωρίς καθυστέρηση, 0 απορρόφηση, διαδοχικά, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση * -83.54/-49.54

Lag time, 1 απορρόφηση, lag time, 1 απορρόφηση, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση * -78.85/ -40.74

Lag time, 1 απορρόφηση, εντεροηπατικό μοντέλο 802.38

* χρησιμοποιήθηκε μόνο το διδιαμερισματικό μοντέλο γιατί η χρήση τριδιαμερισματικού δυσχέρανε τον υπολογισμό της αβεβαιότητας των παραμέτρων

Βλέποντας τα παραπάνω , με κριτήριο την χαμηλότερη τιμή -2LL και AIC καλύτερα μοντέλα είναι τα :

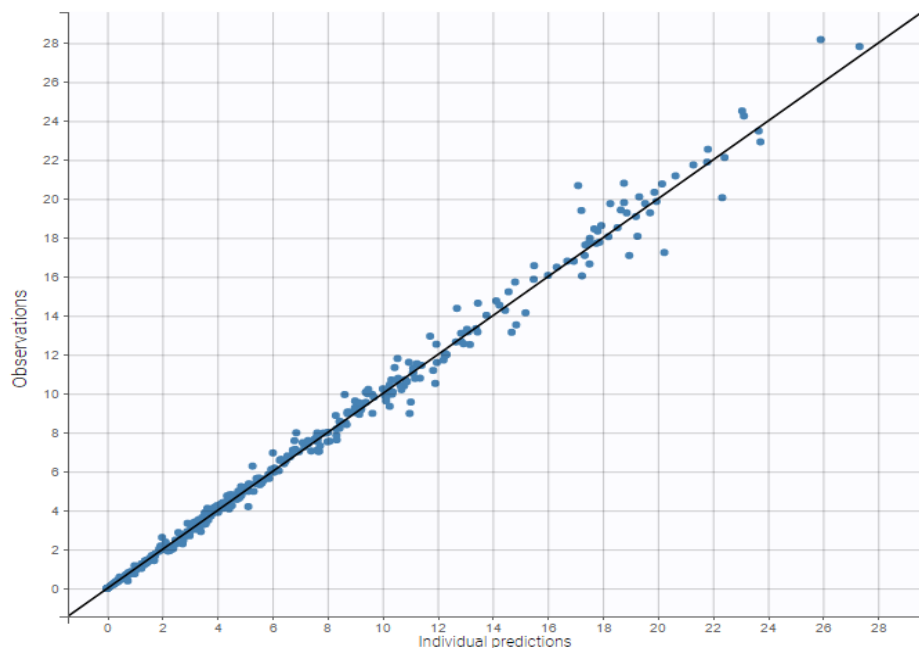
- Διπλής απορρόφησης
- Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση
- Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση
- Transit compartment, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση.

Για να επιλεγθεί ένα από αυτά σαν δομικό μοντέλο, συγκρίθηκαν τα γραφήματα OBS-PRED, τα VPC και οι τιμές των παραμέτρων.

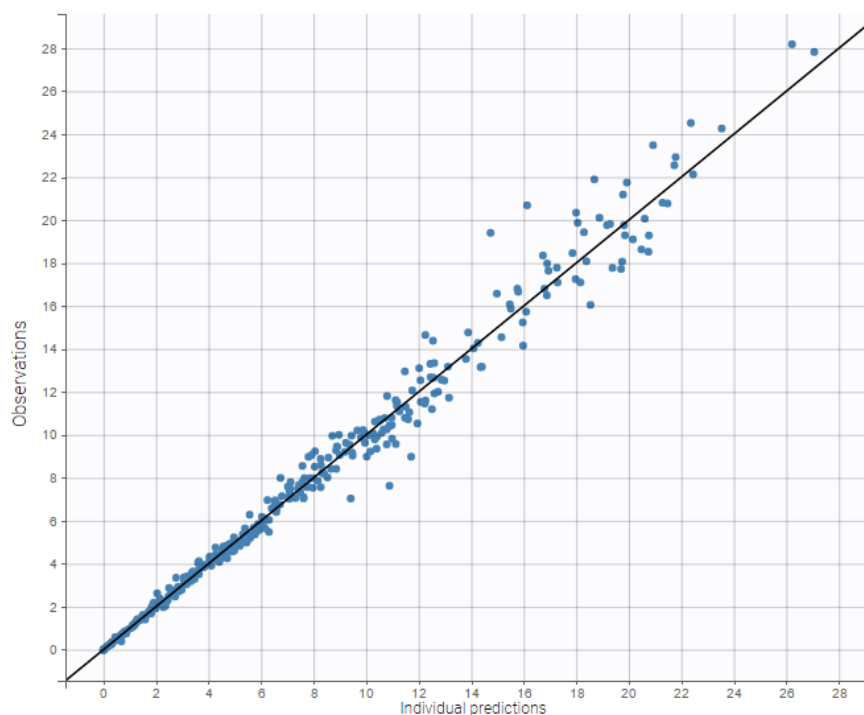
A) Obs-Pred,

Για τα μοντέλα Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση και Transit compartment, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, τα γράφηματα παρουσιάστηκαν στις εικόνες 36

και 37, για τα διπλής απορρόφησης όλα τα γραφήματα ήταν ίδια, για αυτό τον λόγο, θα παρουσιαστεί ένα ενδεικτικά.



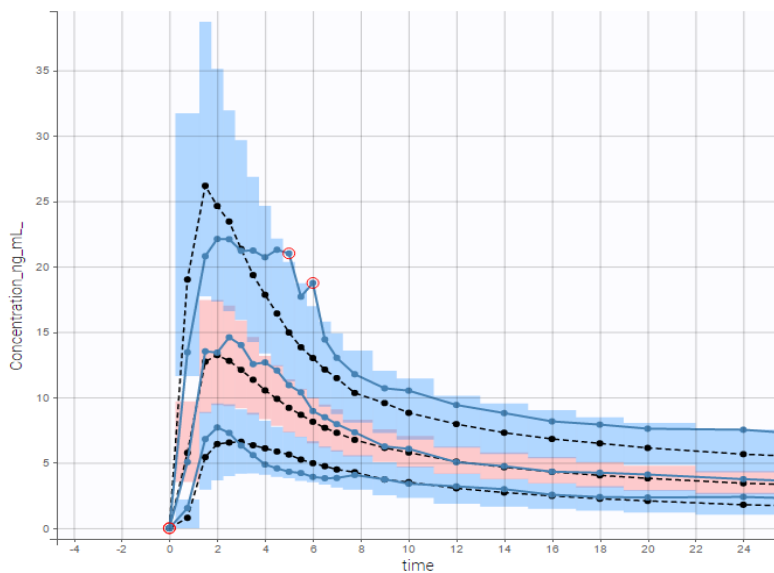
Εικόνα 38 Γράφημα Obs-Pred για μοντέλα διπλής απορρόφησης.



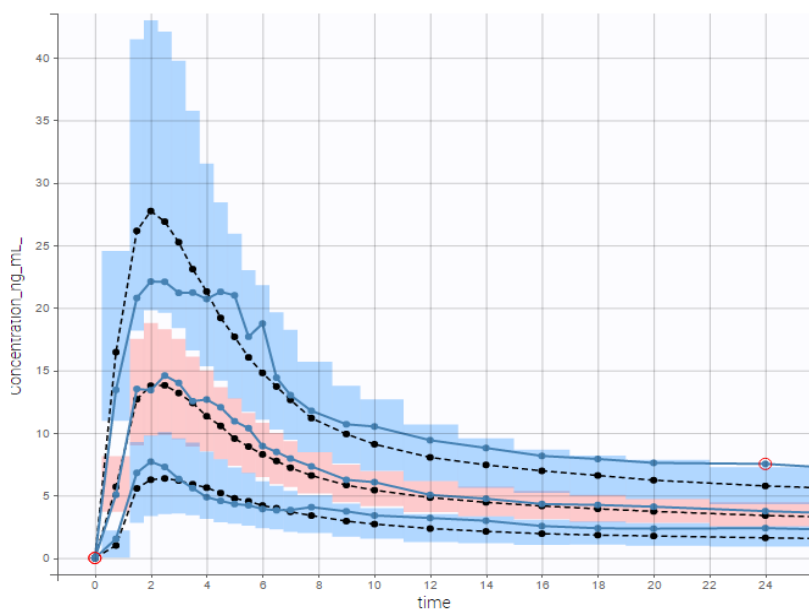
Εικόνα 39 Γράφημα Obs-Pred για Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση.

Το γράφημα φαίνεται ελαφρώς καλύτερο για τα μοντέλα διπλής απορρόφησης, ωστόσο και τα απλούστερα μοντέλα είναι αρκετά ικανοποιητικά.

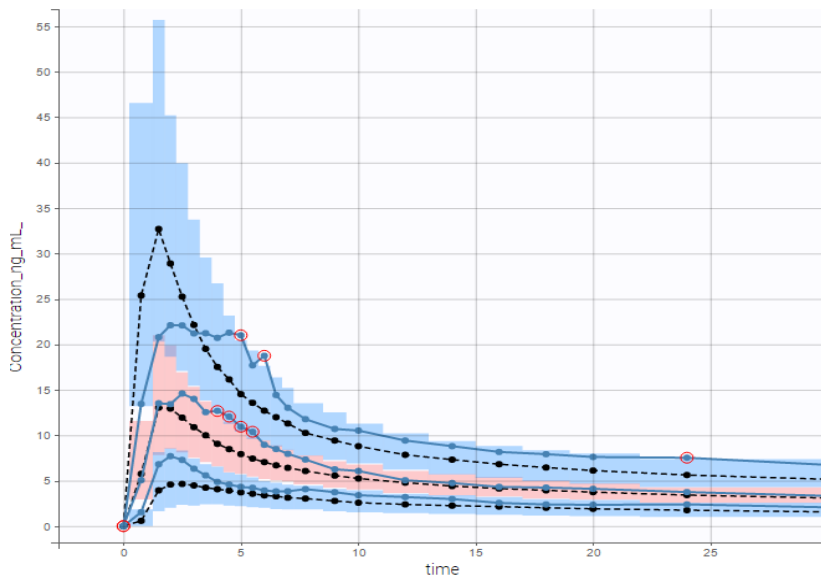
B) VPC



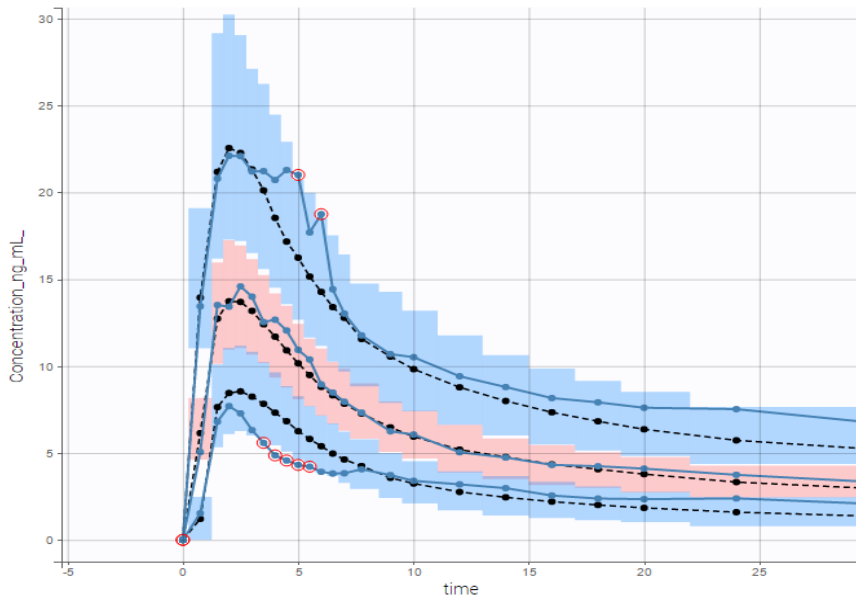
Εικόνα 40 VPC για Lag time, 0 απορρόφηση, χωρίς καθυστέρηση, 0 απορρόφηση, διαδοχικά 2 διαμερίσματα, γραμμική



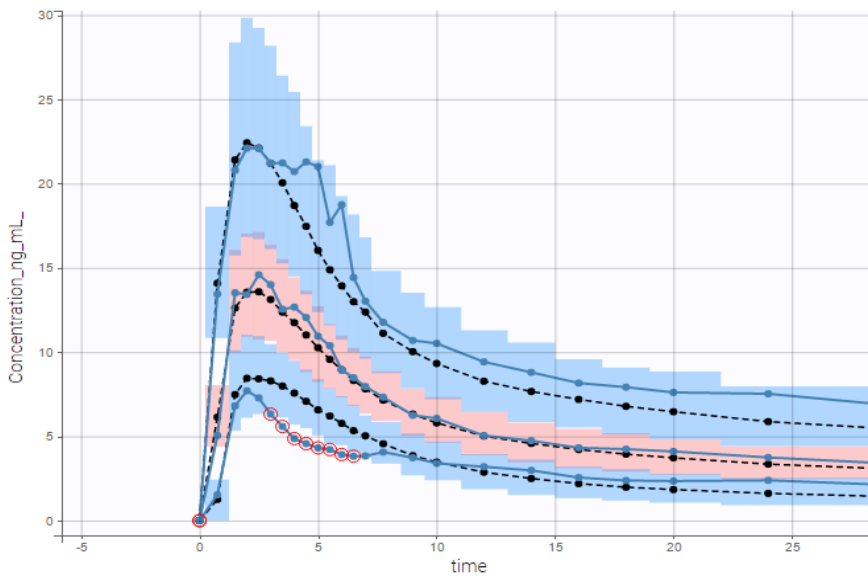
Εικόνα 41 VPC Lag time, 1 απορρόφηση, lag time, 1 απορρόφηση, true, 2 διαμερισμάτα, γραμμική απομάκρυνση



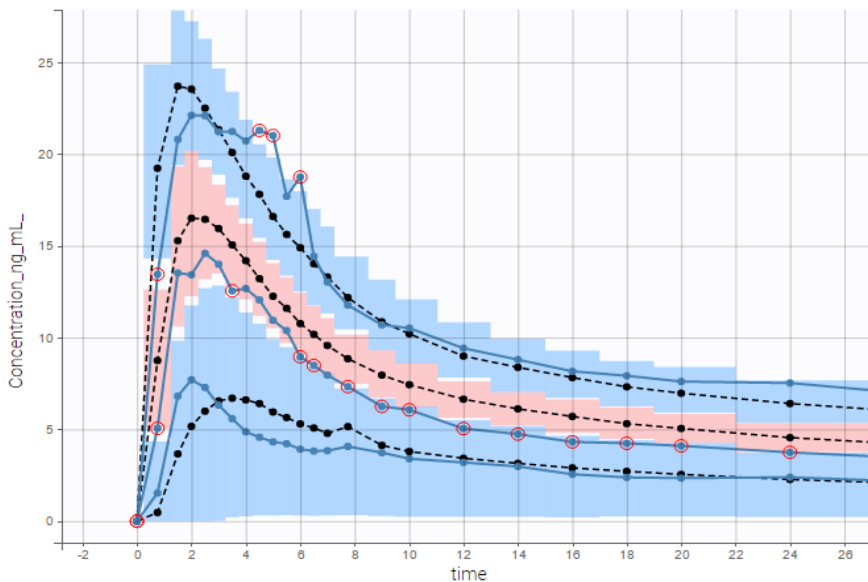
Εικόνα 42 VPC Lag time, 0 απορρόφηση, χωρίς καθυστέρηση, 1 απορρόφηση, διαδοχικά, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση



Εικόνα 43 Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση



Εικόνα 44 Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση



Εικόνα 45 Transit compartment, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

Στις εικόνες 40-45 για τα μοντέλα διπλής απορρόφησης παρατηρούμε περισσότερα σημεία εντός των μη παραμετρικών διαστημάτων εμπιστοσύνης. Παρόλα αυτά, τα εκατοστημόρια πρόβλεψης στα απλούστερα μοντέλα συμπίπτουν καλύτερα με τα εκατοστημόρια των δεδομένων (εκτός του transit).

Γ) Τιμές παραμέτρων

Παράμετροι	Lag time, 1 απορ., lag time, 1 απορ., rue, 2 διαμ.	Lag time, 0 απορ., χωρίς καθυστέρηση, 0 απορ.,	Lag time, 0 απορ., χωρίς καθυστέρηση, 1 απορ.,	transit comp., 1 απορ., 2 διαμ.	Lag time, 1 απορ., 3 διαμ.	Lag time, 1 απορ., 2 διαμ.

	Τιμή/ RSE %	διαδοχικά 2 διαμ. Τιμή/ RSE %	διαδοχικά, 2 διαμ. Τιμή/ RSE %	Τιμή/ RSE %	Τιμή/ RSE %	Τιμή/ RSE %
Tk01_pop	-	0.887/ 122	1.04/ 194	-	-	-
Tk02_pop	-	2.41/ 538	-	-	-	-
ka1_pop	0.491/ 89.1	-	-	-	-	-
ka2_pop	0.0341/ nan	-	0.0817/ nan	-	-	-
F1_pop	0.556/ 220	0.623/ 46.9	0.527/ 89.3	-	-	-
Tlag					0.361/ 8.99	0.35/ 10.8
Tlag1_pop	0.354/ 41.2	0.307/ 21	0.305/ 33.8	-	-	-
diffTlag2_pop	1.24/ 263	-	-	-	-	-
Ktr_pop	-	-	-	6.4/ nan	-	-
Mtt_pop	-	-	-	0.084/ 320	-	-
ka_pop	-	-	-	0.865/ 24.8	0.528/ 7.68	0.408/ 28.1
Cl_pop	13.0/ 27.4	14.8/ 14.6	13.7/ 40.8	10.7/ 8.37	14.7/ 18.7	14.8/ 14.7
V1_pop	53.8/ 364	185/ nan	122/ nan	141/ 5.5	103/ 24.3	84.6/ 41.7
Q_pop/Q2_pop	32.8/ 189	43.2/ 29.3	30.7/ 30.8	33.1/ 14	57.4/ 39.4	55.3/ 19.5
V2_pop	386/ 79.9	419/ 29.4	349/ 159	311/ 10.9	338/ 116	506/ 15.4
Q3_pop	-	-	-	-	5.97/ 450	-
V3_pop	-	-	-	-	227/ 63.4	-
omega_Ktr	-	-	-	1.45/ 194	-	-
omega_Mtt	-	-	-	2.19/ 120	-	-
omega_ka	-	-	-	0.621/ 25.3	0.0345/ 164	0.127/ 111
omega_Cl	0.371/ nan	0.5/ 22.1	0.401/ 72.4	0.227/ 22.6	0.524/ 23.9	0.507/ 20.5
omega_V1	0.646/ 231	0.701/ nan	0.929/ nan	0.045/ 159	0.539/ 48.8	0.547/ 26.1
omega_Q/Q2	0.609/ 206	0.655/ 25.2	0.521/ 33.9	0.259/ 43.9	0.868/ 66	0.667/ 22.3
omega_V2	0.239/ 505	0.415/ 57.1	0.294/ nan	0.222/ 38.3	0.646/ 131	0.476/ 20.9
omega_Q3	-	-	-	-	0.96/ 178	-
omega_V3	-	-	-	-	0.413/ 163	-
omega_ka1	0.166/ 176	-	-	-	-	-
omega_ka2	2.64/ nan	-	2.42/ nan	-	-	-
omega_F1	0.911/ 195	0.413/ 318	0.673/ 356	-	-	-
omega_Tlag1	0.249/ 35.2	0.391/ 113	0.405/ 92	-	-	-
omega_diffTlag2	1.01/ 518	-	-	-	-	-
omega_Tk01	-	0.528/ nan	0.714/ nan	-	-	-
omega_Tk02	-	0.856/ 146	-	-	-	-

omega_Tlag	-	-	-	-	0.261/ 26	0.273/ 33.6
b	0.083/ 8.31	0.085/ nan	0.0878/ 12.2	0.109/ 5.04	0.0872/ 4.33	0.0976/4.23

Σημείωση : RSE με χρωματισμένη γραμματοσειρά δηλώνει ότι είναι υψηλό. Κίτρινο (RSE: 60-100), πορτοκαλί (RSE: 101-200) και κόκκινο χρώμα (RSE: >201)

Από τον παραπάνω πίνακα βλέπουμε ότι για τα μοντέλα διπλής απορρόφησης το επί τοις εκατό σφάλμα εκτίμησης των παραμέτρων είναι πολύ υψηλό ή αδύνατο να εκτιμηθεί. Για το τριδιαμερισματικό μοντέλο έχουμε αντίστοιχα μεγάλες τιμές RSE. Πιθανόν αυτό να οφείλεται στον επιπλέον αριθμό παραμέτρων που πρέπει να εκτιμηθούν. Καλύτερο παρουσιάζεται το Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση μοντέλο, καθώς έχει τις χαμηλότερες τιμές RSE για την πλειονότητα των παραμέτρων του.

Απόρροια των προηγούμενων είναι σαν δομικό μοντέλο να προτιμηθεί είτε το «Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση μοντέλο» είτε το «Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση μοντέλο». Διότι, περιγράφουν τα δεδομένα αντίστοιχα ικανοποιητικά σε σχέση με οποιοδήποτε από τα υπόλοιπα μοντέλα.

Στην συνέχεια ακολούθησε αναζήτηση για συσχέτιση και συμμεταβλητές στο κάθε μοντέλο.

A. Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση,

Αρχική τιμή $-2LL = -50.28$. Το μοντέλο είναι καλό με εξαίρεση το κάτω εκατοστημόριο του VPC που υπάρχουν αρκετά σημεία εκτός διαστήματος εμπιστοσύνης.

Υποψήφιες συσχετίσεις από γραφήματα και στατιστικά τεστ σημαντικότητας

- CL-Q: corr= 0.88 (RSE%=7.79%), $-2LL = -66.82$, βελτίωση VPC.
- CL-V2: corr= 0.982 (RSE%= 1.21%), $-2LL = -88.81$, βελτίωση VPC.
- V1-Tlag: corr= -0.569 (RSE%= 57.3%), $-2LL = -54.63$, δεν βελτίωσε VPC.
- V2-Q: corr= 0.942 (RSE%= 3.73%), $-2LL = -74.03$, βελτίωσε VPC.
- CL-V2-Q: corrQ-CL=0.88 (7.79%), corrV2-CL=0.982 (1.14%), corrV2-Q= 0.934 (4.36%), $-2LL = -114.82$, βελτίωσε VPC.

Επιλέχθηκε η συσχέτιση CL-V2-Q, διότι βελτιώνει περισσότερο από τα υπόλοιπα το μοντέλο, ρίχνοντας την $-2LL$ και έχοντας μικρή αβεβαιότητα για τις τιμές των συσχετίσεων

Υποψήφιες συμμεταβλητές για «Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, συσχέτιση Q-V2-CL». Νέα αρχική $-2LL = -114.82$

- Tlag-BSA : $-2LL = -120.01$ ωTlag πριν: 0.263 → ωTlag μετά : 0.21
- Tlag-ύψος : $-2LL = -124.29$ ωTlag πριν: 0.263 → ωTlag μετά : 0.171
- Tlag-βάρος : $-2LL = -119.86$ ωTlag πριν: 0.263 → ωTlag μετά : 0.234

- V1-ύψος : -2LL= -116.40 ωV1 πριν: 0.547→ ωV1 μετά : 0.555
- Q-ηλικία : -2LL= -113.51 ωQ πριν: 0.664→ ωQ μετά : 0.644
- V2-ηλικία : -2LL= -117.38 ωV2 πριν: 0.476→ ωV2 μετά : 0.449
- V2-βάρος : -2LL= -114.01 ωV2 πριν: 0.467→ ωV2 μετά : 0.65
- V1-βάρος : -2LL= 116.40 ωV1 πριν: 0.554→ ωV1 μετά :0.502

Από τις υποψήφιες συμμεταβλητές μόνο οι τρεις πρώτες βελτιώνουν το μοντέλο. Ειδικότερα η εισαγωγή του ύψους στην Tlag μειώνει την διατομική μεταβλητότητα της παραμέτρου αισθητά. Για αυτό το λόγο η συμμεταβλητή εισάχθηκε στο μοντέλο και αξιολογήθηκε με χρήση bootstrap. Το αποτέλεσμα του bootstrap έδειχνε ότι η προσθήκη του ύψους αύξανε το RSE της Tlag με τιμή 351.33 %. Κατά συνέπεια η συμμεταβλητή απορρίφθηκε και τελικό μοντέλο έμεινε το «Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, συσχέτιση Q-V2-CL».

B. Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

Αρχική τιμή -2LL= -98.45

Υποψήφιες συσχετίσεις από γραφήματα και στατιστικά τεστ σημαντικότητας

- V1-Tlag: -2LL= -103.6, δεν βελτίωσε το VPC
- V2-CL: -2LL= -134.01, βελτίωσε το VPC
- V2-Q2: -2LL= - 118.83, βελτίωσε το VPC
- Q2-CL: -2LL= - 104.45, δεν βελτίωσε το VPC
- CL-V3: -2LL= -93.93, δεν βελτίωσε το VPC
- Q3-CL: -2LL= -97.03, χάλασε το VPC
- Tlag-CL: -2LL= -98.87, χάλασε το VPC
- V2-CL-Q2: -2LL= -129.55, βελτίωσε το VPC
- V2-CL και V1-Tlag: -2LL= -138.03, βελτίωσε το VPC

Στο τριδιαμερισματικό μοντέλο δεν ήταν δυνατός ο υπολογισμός των RSE για όλες τις παραμέτρους. Για αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκε bootstrap για κάθε μοντέλο συσχετίσεων καθώς στατιστικά όλα παρουσίαζαν βελτίωση. Το μοντέλο με τα καλύτερα αποτελέσματα (στην περίπτωση αυτή, χαμηλό RSE για τις περισσότερες παραμέτρους) ήταν το «Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση, συσχέτιση V2-CL». Σε αυτό έγινε αναζήτηση για συμμεταβλητές.

- Q2-ηλικία
- Q2-ύψος
- Q2-BSA
- V3-ηλικία

- Tlag-ύψος
- Tlag-BSA

Από τις παραπάνω συµµεταβλητές σηµαντική βελτίωση προκαλούσαν οι Q2-ηλικία, Tlag-ύψος και ο συνδυασµός Tlag-ύψος και Q2-ηλικία στο ίδιο µοντέλο. Σαν βελτίωση νοείται η µείωση της -2LL µε προσθήκη παραµέτρου και η πτώση του ω της εκάστοτε παραµέτρου. Τα µοντέλα αυτά παρά την στατιστικά οπτική βελτίωση, πρακτικά αδυνατούσαν να υπολογίσουν τα σφάλµατα των παραµέτρων ή οδηγούσαν σε εξαιρετικά υψηλές τιµές ακόµα και µε χρήση του bootstrap. Επίσης, οι συµµεταβλητές δεν είχαν φυσική σηµασία και ενίοτε χαλούσαν την εικόνα του VPC. Συνεπώς, τελικό µοντέλο για τριδιαµερισµατικό µοντέλο είναι αυτό µε την συσχέτιση V2-CL.

Σε σύγκριση του «Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαµερίσµατα, γραµµική απομάκρυνση, συσχέτιση Q-V2-CL» και «Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαµερίσµατα, γραµµική απομάκρυνση, συσχέτιση V2-CL» επιλέχθηκε το διδιαµερισµατικό µοντέλο. Διότι αν και λίγο καλύτερο το τριδιαµερισµατικό στα γραφήµατα καλής προσαρµογής, πρακτικά δεν είχε σηµαντική διαφορά µε το διδιαµερισµατικό, το VPC ήταν αντίστοιχα καλό και κυρίως υπήρχε µικρότερη αβεβαιότητα στις εκτιµήσεις των παραµέτρων.

Ακολουθούν αναλυτικά τα γραφήµατα και αποτελέσµατα για το τελικό µοντέλο.

Τιµές για -2LL και κριτήρια πληροφορίας

-2 x log-likelihood	-114.82
Akaike Information Criteria (AIC)	-82.82
Bayesian Information Criteria (BIC)	-75.06
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	-51.25

Αποτελέσµατα παραµέτρων

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
Fixed Effects			
Tlag_pop	0.354	0.0302	8.53
ka_pop	0.397	0.0301	7.58
Cl_pop	14.8	2.17	14.7
V1_pop	81.1	15.6	19.2
Q_pop	55.0	10.6	19.3
V2_pop	509	70.5	13.9
Standard Deviation of the Random Effects			

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
omega_Tlag	0.263	0.067	25.5
omega_ka	0.114	0.0566	49.8
omega_CL	0.507	0.104	20.4
omega_V1	0.554	0.14	25.3
omega_Q	0.664	0.139	20.9
omega_V2	0.476	0.0984	20.7
Correlations			
corr_Q_CL	0.88	0.0686	7.79
corr_V2_CL	0.982	0.0112	1.14
corr_V2_Q	0.934	0.0408	4.36
Error Model Parameters			
b	0.0976	0.00412	4.23

Οι παράμετροι Tlag, ka, CL, V1, Q, V2 ακολουθούν log-κανονική κατανομή, με συσχέτιση ανάμεσα στην Q-CL, στην CL και τον V2 και τον V2-Q. Τα σφάλματα ακολουθούν κανονική κατανομή και αναλογικό μοντέλο.

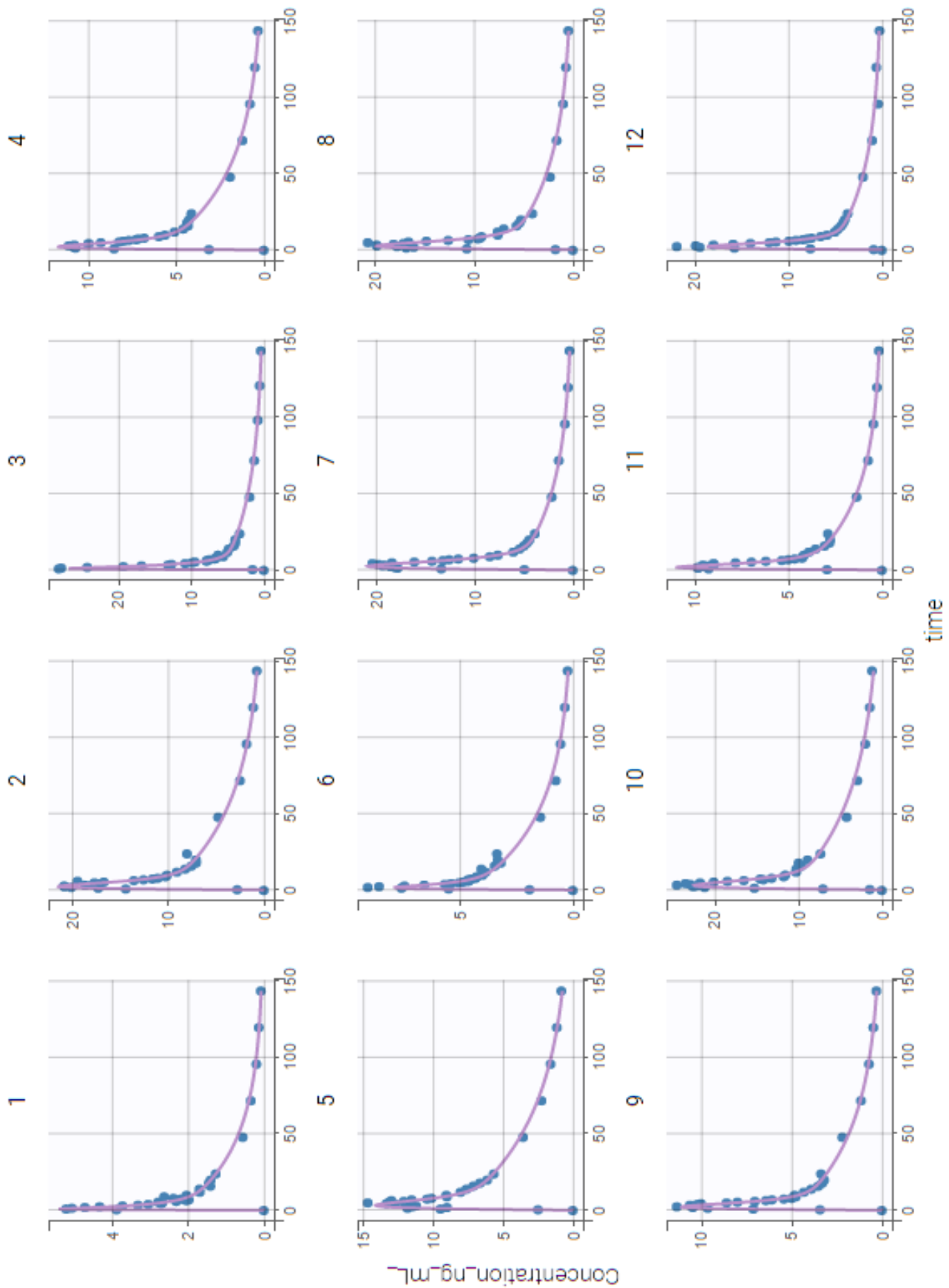
Τύπος γραφής διατομικής μεταβλητότητας

```

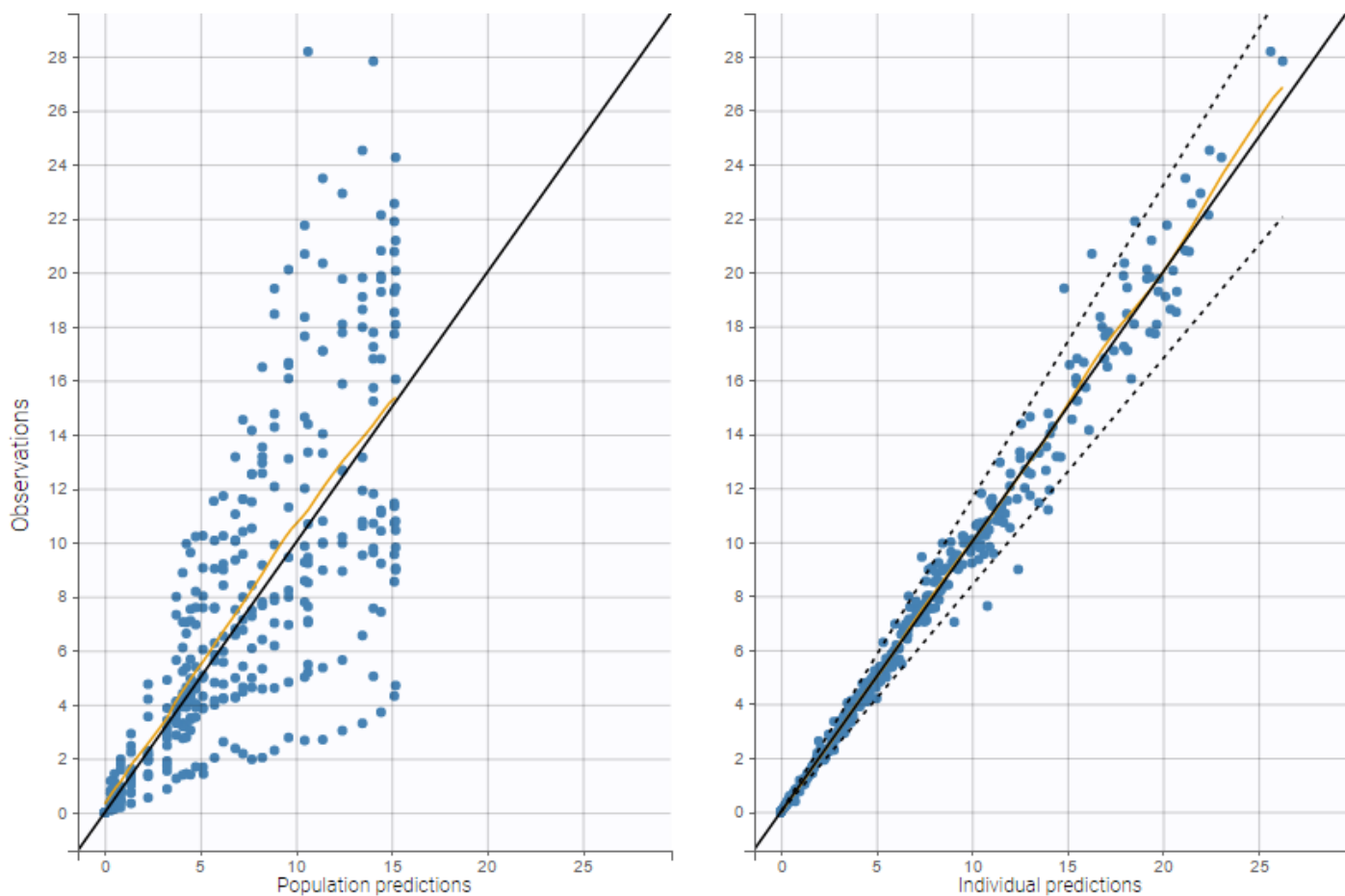
log(Tlag) = log(Tlag_pop) + eta_Tlag
log(ka) = log(ka_pop) + eta_ka
log(CL) = log(CL_pop) + eta_CL
log(V1) = log(V1_pop) + eta_V1
log(Q) = log(Q_pop) + eta_Q
log(V2) = log(V2_pop) + eta_V2
Correlations
ID : {CL, Q, V2}

```

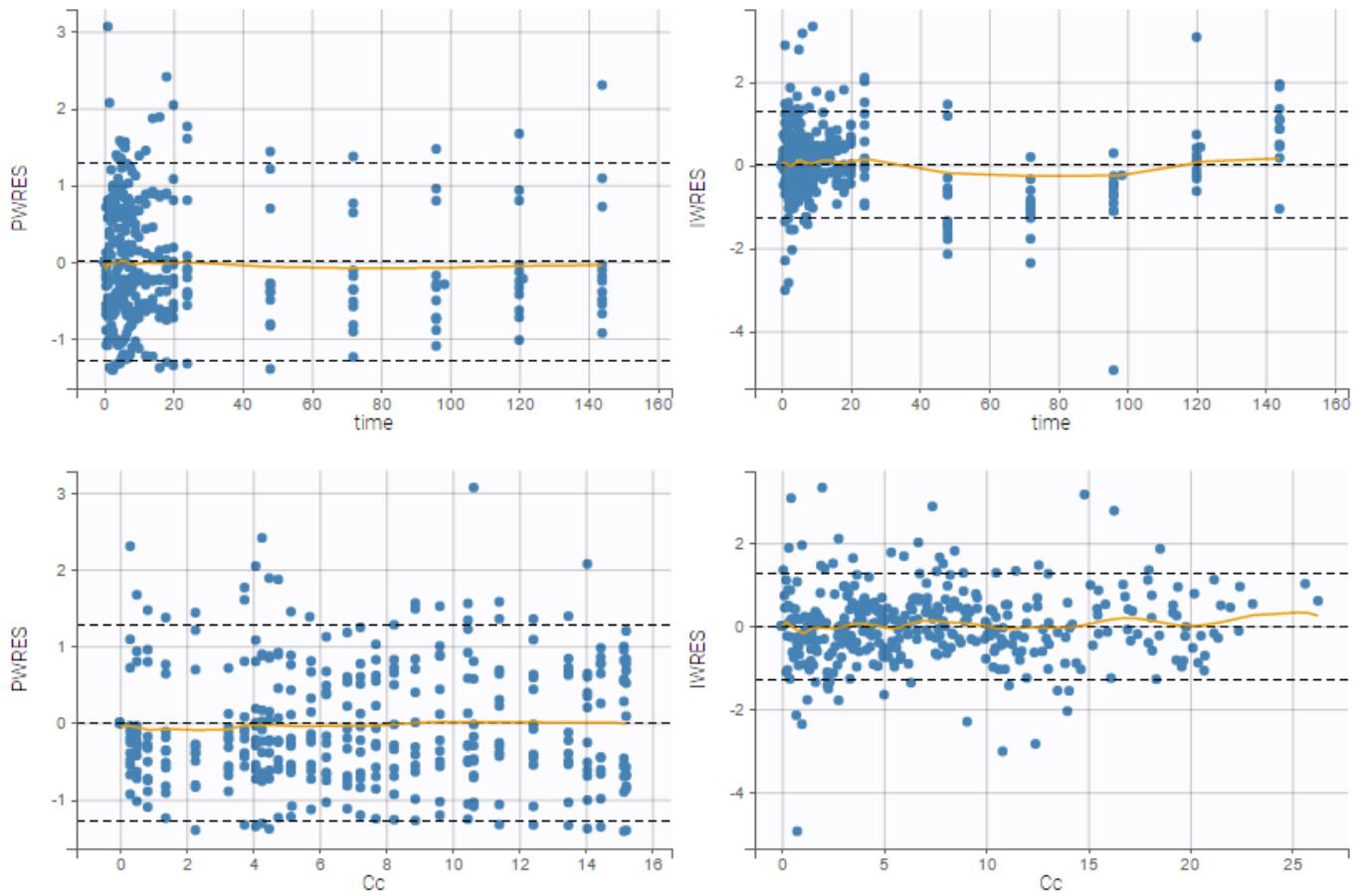
Η σταθερά ρυθμού απορρόφησης είναι ίση με $ka=0.40 \text{ h}^{-1}$, Tlag= 0.35 h. Διατομική μεταβλητότητα στην κάθαρση κεντρικού διαμερίσματος (CL) 50.7%, στην διαδιαμερισματική κάθαρση (Q) 66.4% στον όγκο (V1) 55.4% και στον όγκο (V2) 47.6%. Υπόλοιπη μεταβλητότητα 9.76 %.



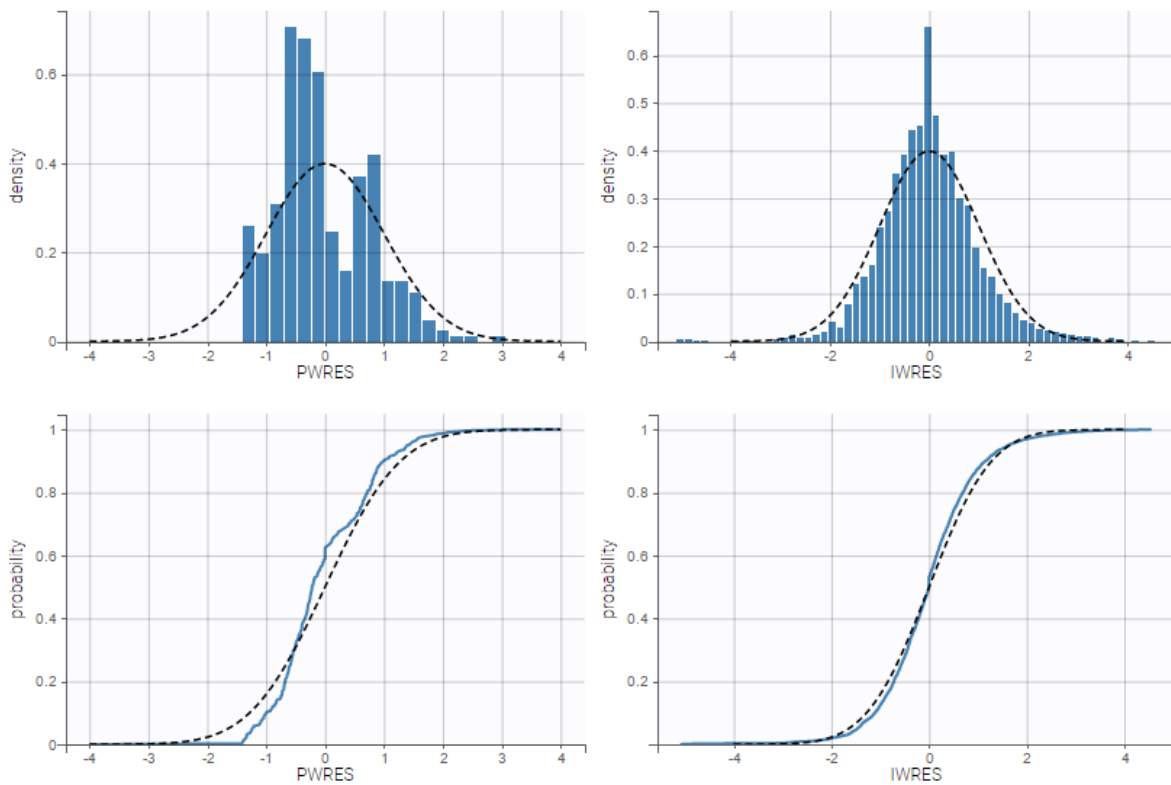
Εικόνα 46 Γράφημα ατομικής προσαρμογής μοντέλου AdvaGRAF. Οι καμπύλες του μοντέλου περνάνε ακριβώς πάνω από τα σημεία.



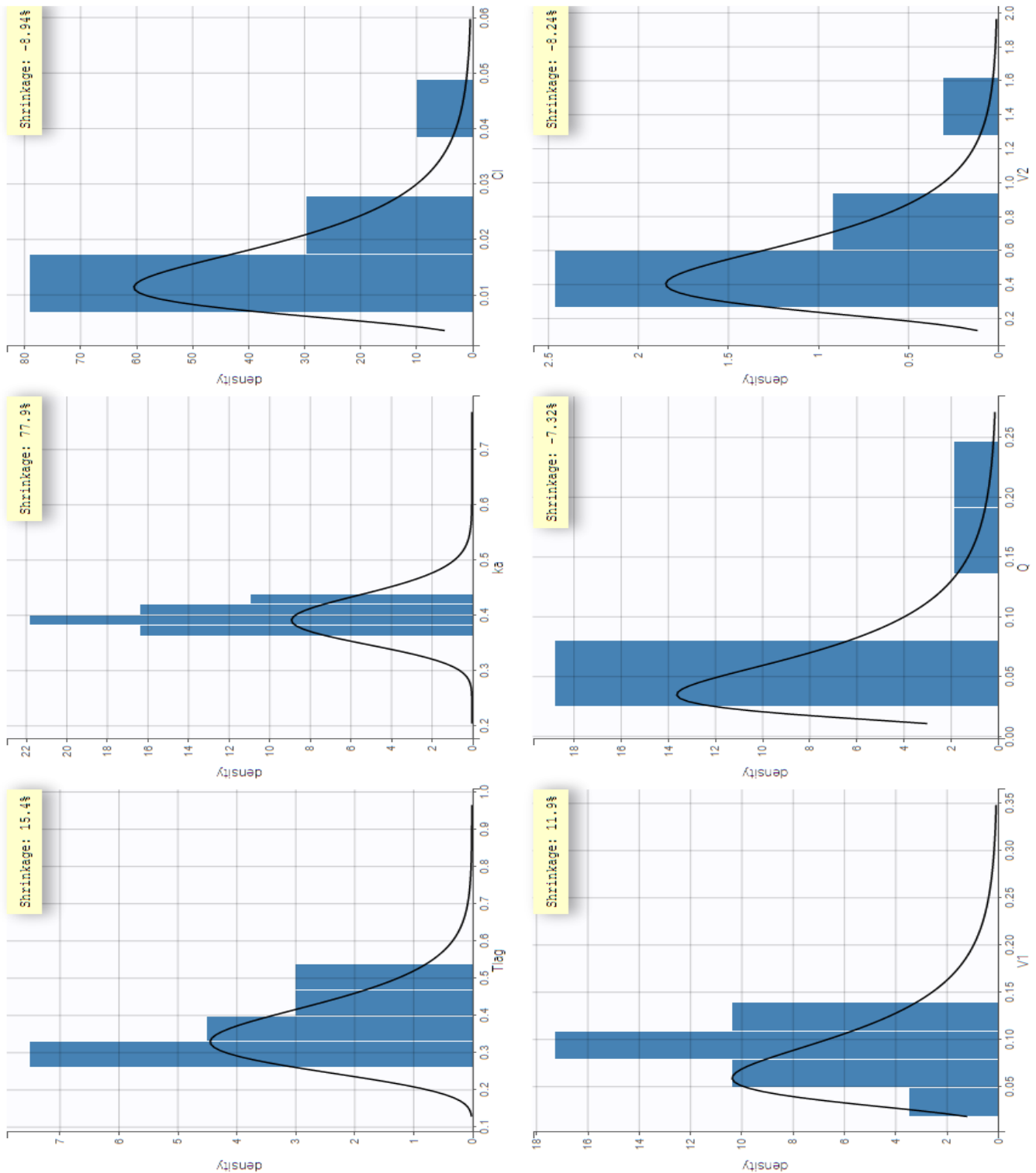
Εικόνα 47 Γράφημα προβλεπόμενων από το μοντέλο τιμών ως προς τα δεδομένα. Αριστερά, πληθυσμιακές εκτιμήσεις, δεξιά, ατομικές εκτιμήσεις. Γράφημα ικανοποιητικό. Το 90% παρατηρήσεων εντός διαστημάτων πρόβλεψης που ορίζονται από τις ευθείες. Παρατηρήσεις συμμετρικές ως προς την ταυτοτική ευθεία.



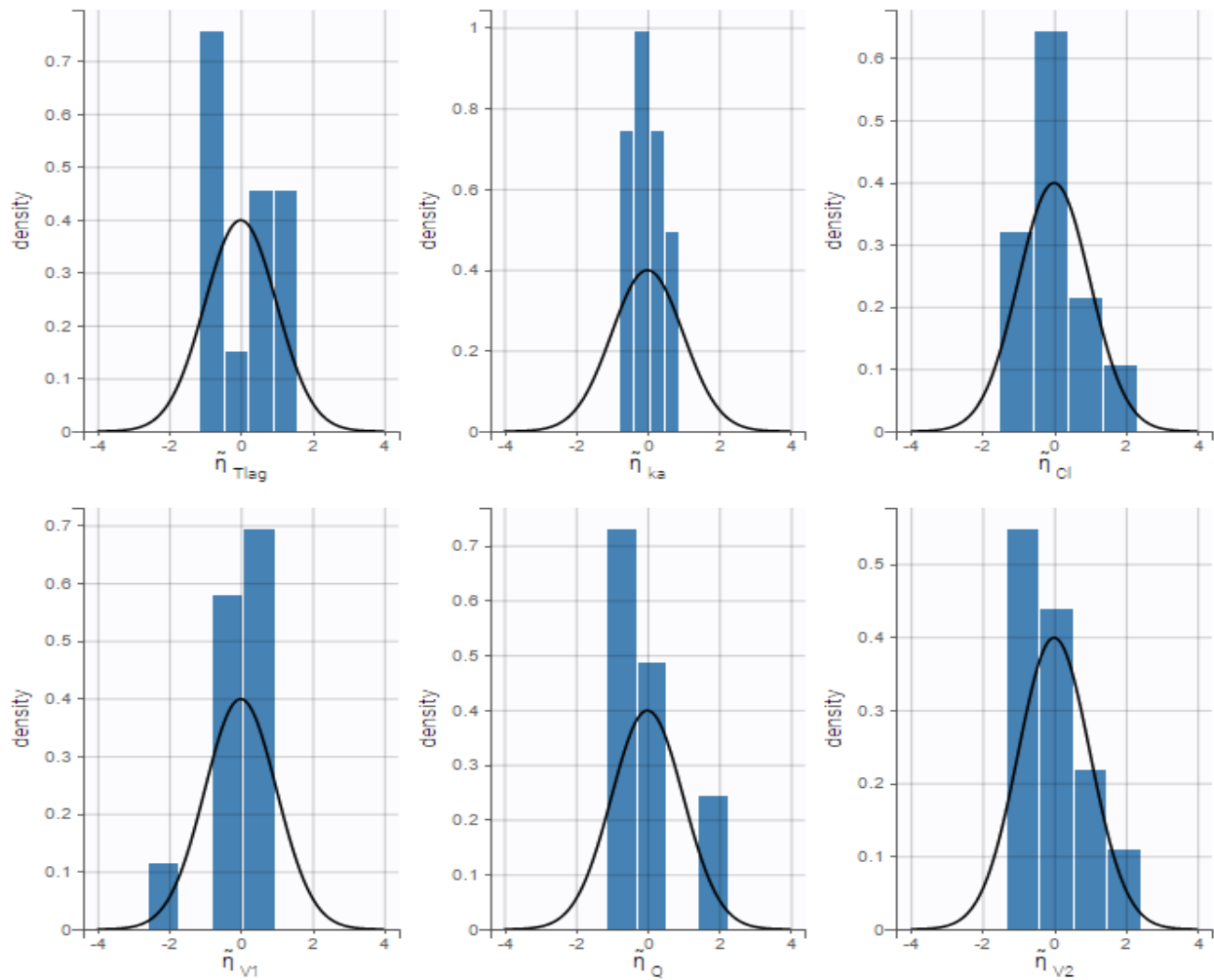
Εικόνα 48 Γράφημα διασποράς σφαλμάτων. Παρατηρείται μικρή ύπαρξη τάσης, τα σημεία είναι συμμετρικά ως προς τον χ' . Η εικόνα θεωρείται ικανοποιητική.



Εικόνα 49 Γράφημα κατανομής σφαλμάτων. Αριστερά πληθυσμιακές τιμές επιδέχονται βελτίωσης, δεξιά ατομικές τιμές με πολύ καλή εικόνα.



Εικόνα 50 Γράφημα κατανομής παραμέτρων, στο κίτρινο πλαίσιο παρουσιάζεται το η -shrinkage. Δυστυχώς για την παράμετρο ka το shrinkage είναι πολύ υψηλό.



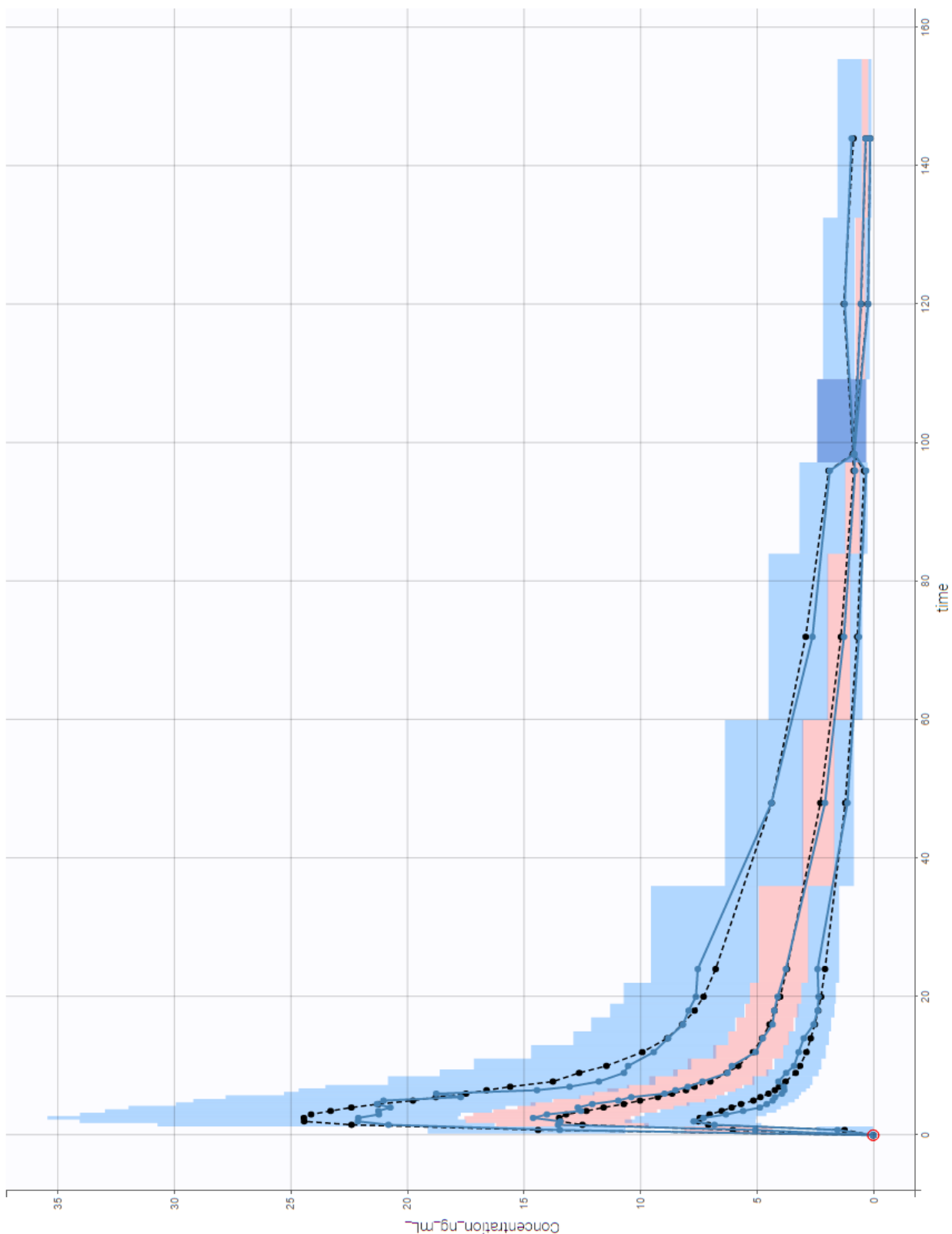
Εικόνα 51 Κατανομή των η . Η ύπαρξη περισσότερων δεδομένων θα βελτίωνε την εικόνα.

Πίνακας 7 Shapiro Wilk test για την κανονικότητα των η .

	STATISTICS	P-VALUE
eta_Tlag	0.941551	0.793407
eta_ka	0.928926	0.375391
eta_Cl	0.952445	0.769907
eta_V1	0.834094	0.0195165
eta_Q	0.908149	0.353015
eta_V2	0.929218	0.500726

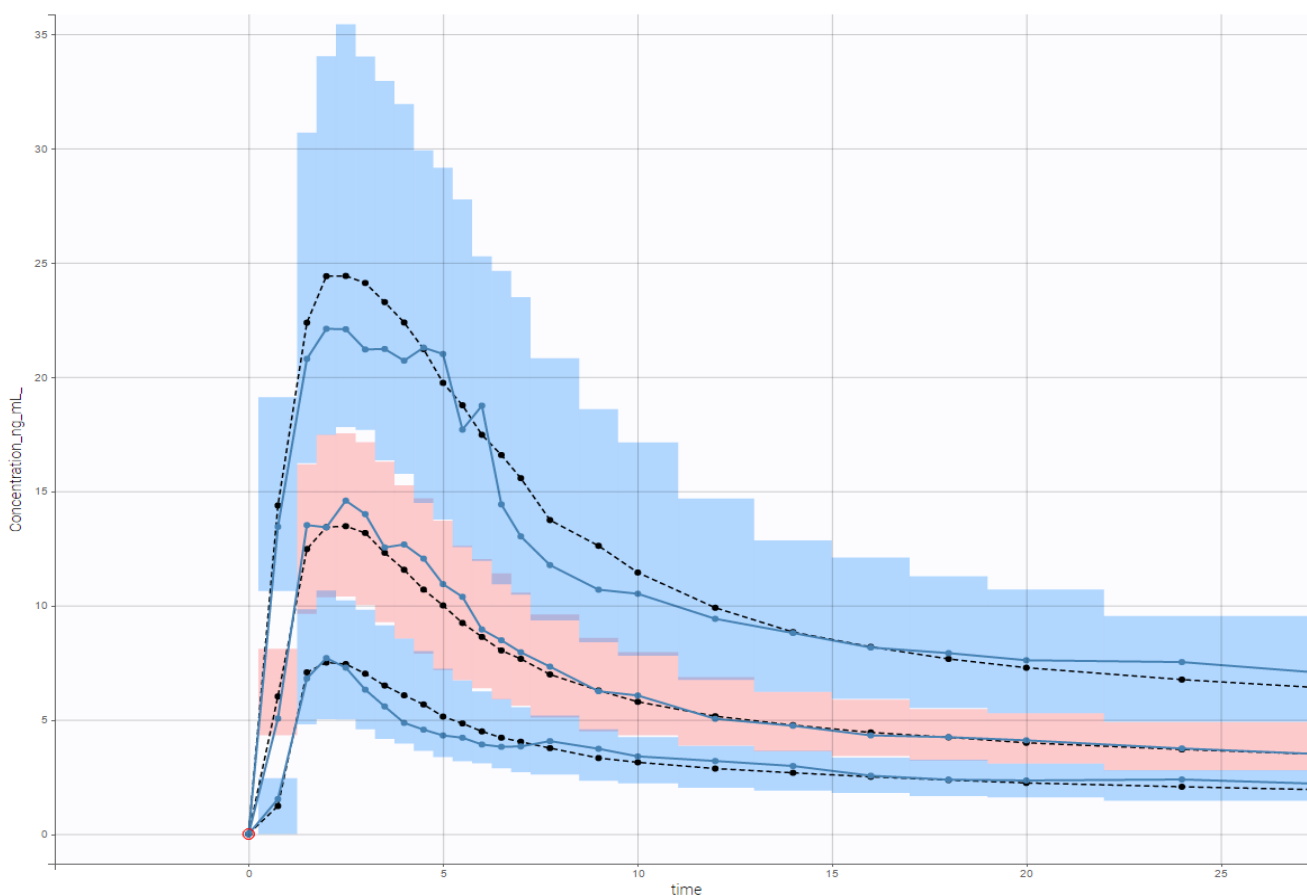
Τιμή P-value <0.05 δείχνει πιθανή λανθασμένη επιλογή κατανομής παραμέτρου. Ωστόσο, μετά από αλλαγή της κατανομής στην παράμετρο V1 δεν ανιχνεύθηκε βελτίωση.

Επικύρωση μοντέλου με VPC και bootstrap



Εικόνα 52 VPC Advagraf για 29 fixed bins, παρουσιάζονται το 5^ο, το 50^ο και 95^ο εκατοστημόριο για τα δεδομένα και τις προσομοιώσεις. VPC ικανοποιητικό, αφού συμπίπτουν τα εκατοστημόρια πρόβλεψης και δεδομένων.

Το ίδιο VPC για μεγέθυνση στις πρώτες 24 ώρες όπου υπάρχει πιο συχνή δειγματοληψία



Πίνακας 8 Αποτελέσματα από 500 bootstraps για Advagraf.

Παράμετροι	Μέση Bootstrap τιμή	Bootstrap CV %	Bootstrap Confidence Interval 95%	Τιμές από Monolix (RSE%)
Tlag	0.354	8.84	0.293-0.414	0.354 (8.53)
ka	0.400	9.56	0.320-0.477	0.397 (7.58)
Cl	15.0	14.02	11.5-20.0	14.8 (14.7)
V1	83.2	22.23	51.1-118.8	81.1 (19.2)
Q	56.1	19.77	37.5-84.5	55.0 (19.3)
V2	514	13.61	398 - 678	509 (13.9)
Omega Tlag	0.247	18.35	0.159-0.327	0.263 (25.5)
Omega ka	0.081	72.17	0.017-0.227	0.114 (49.8)
Omega Cl	0.472	23.79	0.257-0.667	0.507 (20.4)
Omega V1	0.471	53.22	0.020-0.945	0.554 (25.3)
Omega Q	0.626	21.48	0.330-0.849	0.664 (20.9)

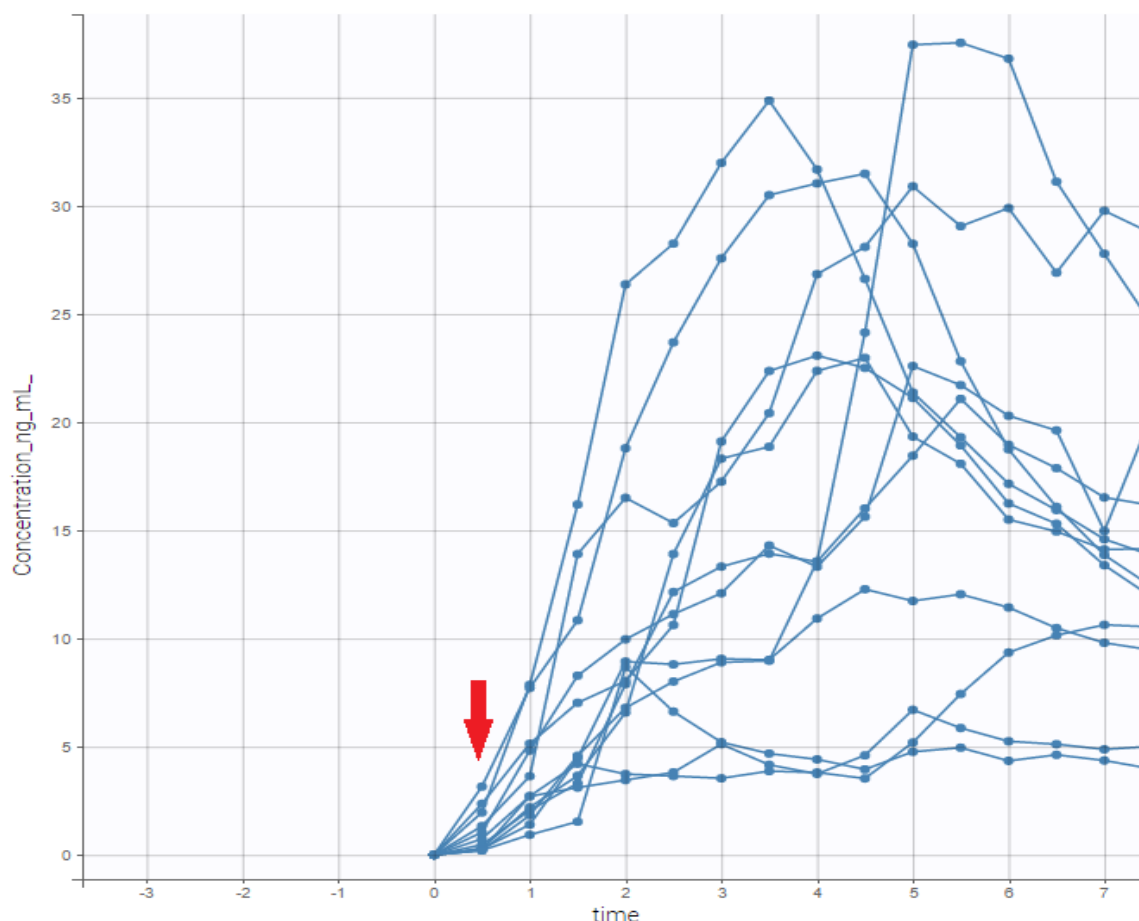
Omega V2	0.441	24.34	0.252-0.626	0.476 (20.7)
Cor Q-C1	0.866	10.39	0.617-0.971	0.88 (7.79)
Cor V2-C1	0.974	2.62	0.910-0.998	0.982 (1.14)
Cor Q-V2	0.932	4.64	0.815-0.984	0.934 (4.36)
b	0.097	7.75	0.082-0.111	0.0976 (4.23)

Οι τιμές του Monolix είναι εντός των διαστημάτων εμπιστοσύνης που υπολογίστηκαν από το bootstrap.

3.3 Envarsus

Αντίστοιχα με τα υπόλοιπα σκευάσματα παρατηρήθηκαν τα δεδομένα.

Α) Από το παρακάτω γράφημα βλέπουμε ότι και για το Envarsus υπάρχει καθυστέρηση εμφάνισης φαρμάκου στην γενική κυκλοφορία, η καθυστέρηση θα εισαχθεί από την αρχή στα μοντέλα



Εικόνα 53 Γράφημα παρατηρήσεων Envarsus προς τον χρόνο

β) Χρήση διδιαμερισματικού ή τριδιαμερισματικού μοντέλου, επειδή έχουμε 2 κλίσεις στο γράφημα $\text{Log}(C) - t$

γ) Χρήση γραμμικής απομάκρυνσης διότι η απομάκρυνση εξαρτάται από την δραστική και όχι το σκεύασμα.

δ) Αναλογικό μοντέλο σφάλματος επειδή όμοια με τις προηγούμενες περιπτώσεις σε χρήση συνδυαστικού η παράμετρος που αντιπροσωπεύει το προσθετικό σφάλμα έπαιρνε την τιμή 10^{-16} .

Δοκιμάστηκαν πολλά μοντέλα ξεκινώντας από τα απλούστερα προς πιο σύνθετα.

Μοντέλα	-2LL/ BIC
Lag time, 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	584.08/590.86
Lag time, 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	534.29/576.53
Lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	438.73/471.04
Lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	412.67/454.92
Transit comp., 1 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	447.67/484.95
Transit comp., 1 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμ. απομάκρυνση	430.30/477.52

Από τα παραπάνω μοντέλα πιο ικανοποιητικό είναι το Lag time, 0 απορρόφηση, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση και αμέσως επόμενο το Lag time, 0 απορρόφηση, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση με βάση το κριτήριο BIC. Παρατηρούμε πρώτον, ότι το τριδιαμερισματικό μοντέλο σε όλες τις περιπτώσεις ρίχνει περισσότερο την τιμή του BIC και δεύτερον ότι η μηδενοταξική απορρόφηση περιγράφει καλύτερα τα δεδομένα. Η ύπαρξη πολλών κορυφών στην πλειονότητα των εθελοντών παρακίνησε στην δοκιμή μοντέλων διπλής απορρόφησης και μοντέλων εντεροηπατικής κυκλοφορίας.

Μοντέλα εντεροηπατικής κυκλοφορίας

Για την δημιουργία των μοντέλων μελετήθηκε το πρόγραμμα φαγητού των εθελοντών για τις 2 πρώτες μέρες διαμονής στο νοσοκομείο. Σύμφωνα με τον Okour et al 2017^[49] η χοληδόχος κύστη, μόλις δούμε, μυρίσουμε ή φάμε φαγητό εκκρίνει το περιεχόμενο

της στον δωδεκαδάχτυλο. Έτσι, θα ήταν πιθανό η τακρόλιμους που εμφανίζει εντεροηπατική κυκλοφορία να επαναροφάται το χρονικό διάστημα που συμπίπτει με το γεύμα. Οι εθελοντές λάμβαναν το πρώτο τους γεύμα σε περίπου 4.00, 8.00, 12.00, 24.00, 28.00, 32.00 και 36.00 ώρες μετά την χορήγηση φαρμάκου. Η λήψη νερού επιτρεπόταν μια ώρα πριν και μια ώρα μετά την λήψη φαρμάκου, στο υπόλοιπο διάστημα επιτρεπόταν κανονικά. Οι περισσότεροι εθελοντές εμφάνισαν C_{max} στις 2 με 2,5 ώρες μετά την χορήγηση του Envarsus, 2^η κορυφή παρουσίασαν ανάμεσα στις 3,5 με 4,5 ώρες και 3^η κορυφή κατά μέσο όρο εμφάνισαν στις 7,5 ώρες. Οι χρόνοι αυτοί είναι κοντά στους χρόνους λήψης φαγητού. Για αυτό επιχειρήθηκε η δημιουργία μοντέλου με άδειασμα της χοληδόχου κύστης σε χρόνους παραπλήσιους των επόμενων κορυφών .

Σαν παράδειγμα θα παρουσιαστεί ένα μοντέλο. ^[50]

```
[LONGITUDINAL]
input = {V, C1, Q, V2, kbile, kempt, ka_gut, ka, Tfirst, Tsecond}

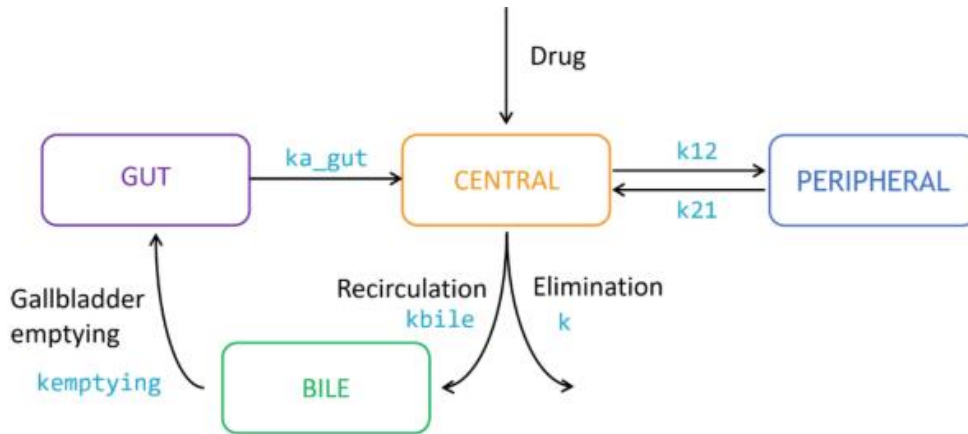
PK:
k=C1/V
k12=Q/V
k21=Q/V2
duration=1
if t>Tfirst & t<Tfirst+duration
kemptying = kempt
elseif t>Tsecond & t<Tsecond+duration
kemptying = kempt
else
kemptying = 0
end

compartment(cmt=1, volume=V, concentration=Cc)
absorption(adm=1, cmt=1, ka)
elimination(cmt=1, k)
peripheral(k12, k21)
compartment(cmt=3)
compartment(cmt=4)
transfer(from=1, to=3, kt=kbile)
transfer(from=3, to=4, kt=kemptying)
transfer(from=4, to=1, kt=ka_gut)

OUTPUT:
output = {Cc}
```

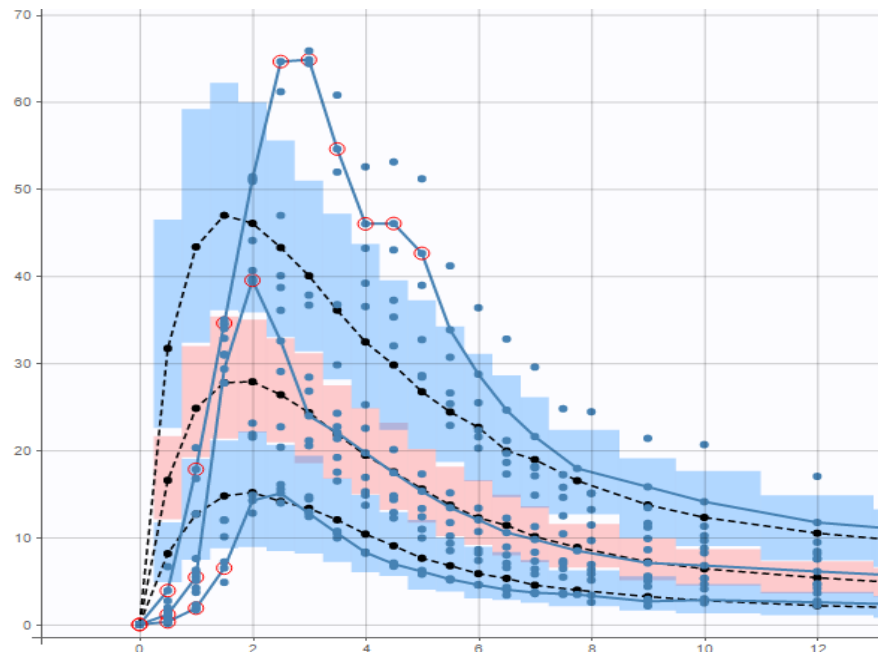
Στο συγκεκριμένο μοντέλο δημιουργήθηκαν δυο επιπλέον διαμερίσματα, η χολή (διαμέρισμα 3) και το έντερο (διαμέρισμα 4). Αρχικά, έχουμε απορρόφηση στο κεντρικό διαμέρισμα. Έπειτα, απομάκρυνση από το κεντρικό διαμέρισμα με σταθερά

ρυθμού k , κατανομή στο περιφερειακό διαμέρισμα με σταθερά k_{12} και απορρόφηση στην χοληδόχο κύστη με σταθερά k_{bile} . Ακολουθεί άδειασμα της χοληδόχου κύστης στο έντερο με σταθερά ρυθμού k_{empt} , όταν ο χρόνος είναι μεγαλύτερος από τον χρόνο που ξεκινάει το πρώτο άδειασμα της κύστης και μικρότερος από την διάρκεια του αδειάσματος. Σαν χρόνος έναρξης αδειάσματος ορίστηκαν οι χρόνοι που εμφανίζονται οι επόμενες κορυφές μετά την T_{max} . Έπειτα, σαν k_{a_gut} ορίστηκε η σταθερά ρυθμού απορρόφησης από το έντερο στο κεντρικό διαμέρισμα.



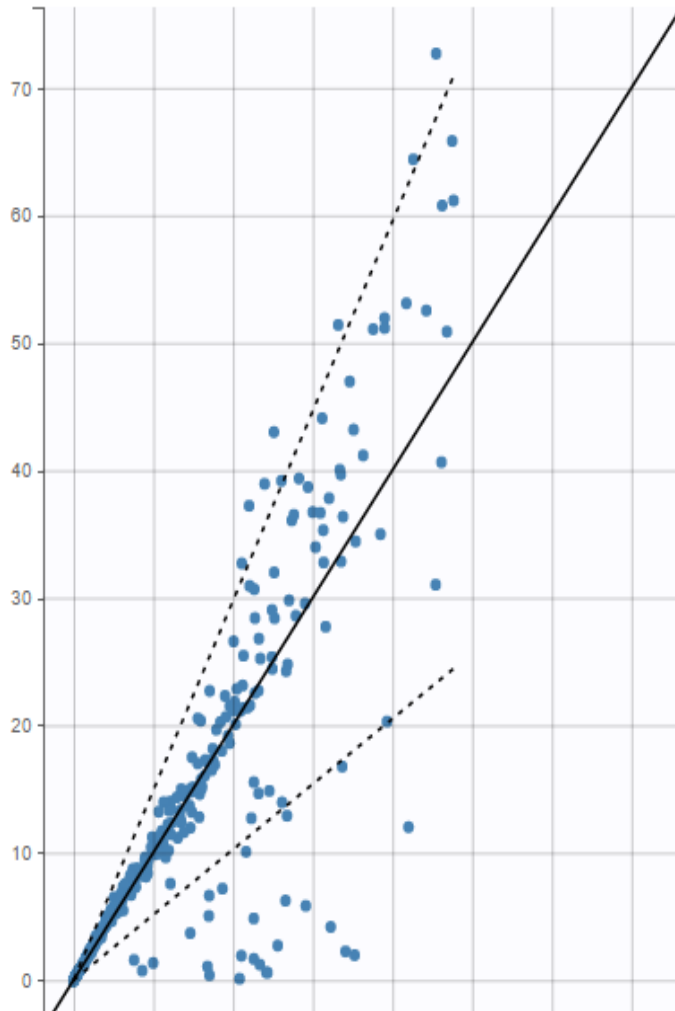
Εικόνα 54[50] Παρουσίαση μοντέλου εντεροηπατικής κυκλοφορίας.

Δοκιμάστηκαν και άλλα τέτοια μοντέλα με προσθήκη T_{lag} και μηδενοταξική απορρόφηση χωρίς επιτυχία.



Εικόνα 55 VPC για εντεροηπατικό μοντέλο Envarsus. Παρουσιάζονται το 5^ο, 50^ο και 95^ο εκατοστημόριο.

Στο VPC βλέπουμε πολλά σημεία εκτός διαστημάτων εμπιστοσύνης και τα εκατοστημόρια των δεδομένων με αυτά των προσομοιώσεων να απέχουν πολύ.



Εικόνα 56 Γράφημα Obs-Pred για εντεροηπατικό μοντέλο κυκλοφορίας. (Obs: $x'x$, Pred: $y'y$) Παρατηρούμε πολύ μεγάλη απόκλιση, με τις προβλεπόμενες τιμές να υπερεκτιμώνται από το μοντέλο.

Η τιμή των κριτηρίων πληροφορίας είχε τιμές με εύρος $\approx 780-890$ και οι παράμετροι παρουσίαζαν αρκετά ψηλό RSE% και αλλόκοτες τιμές (εικόνα 57). Για τους παραπάνω λόγους, τα μοντέλα εντεροηπατικής κυκλοφορίας απορρίφθηκαν.

Fixed Effects			
V_pop	0.0643	0.00819	12.7
Cl_pop	0.00441	0.00256	58.1
Q_pop	0.0207	0.00337	16.3
V2_pop	0.367	0.0526	14.3
kbile_pop	0.105	0.0564	53.9
kempt_pop	0.676	nan	nan
ka_gut_pop	0.0191	nan	nan
ka_pop	0.59	0.12	20.3
Tfirst_pop	0.000269	nan	nan
Tsecond_pop	0.448	2.26	506

Εικόνα 57 Τιμές παραμέτρων για μοντέλο εντεροηπατικής κυκλοφορίας.

Μοντέλα διπλής απορρόφησης

Δοκιμάστηκαν πολλά μοντέλα, για συντομία θα αναφερθούν μόνο αυτά που είχαν την καλύτερη προσαρμογή.

A/A	Μοντέλο	BIC/ -2LL
1	Lag time, 0 απορ., Lag time, 0 απορ., ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	285/205
2	Lag time, 0 απορ., Lag time, 0 απορ., ταυτόχρονα, true, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	295/197
3	Transit comp, 1 απορ., lag time, 1 απορ., ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	331/242
4	Lag time, 1 απορ., lag time, 1 απορ., true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση	331/250

5 Lag time, 0 απορ., χωρίς καθυστέρηση, διαδοχικά, false, 3 348/258,84
διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

6 Lag time, 0 απορ., lag time, διαδοχικά, false, 3 διαμερίσματα, 350/252.7
γραμμική απομάκρυνση

7 Lag time, 1 απορ., lag time, 1 απορ., true, 3 διαμερίσματα, 355/257
γραμμική απομάκρυνση

8 Lag time, 0 απορ., χωρίς καθυστέρηση, 0 απορ., διαδοχικά, 2 415/343
διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση

Για όλα τα μοντέλα υπάρχει δυσκολία εκτίμησης του Fisher matrix correlation, με αποτέλεσμα τα σφάλματα εκτίμησης των παραμέτρων να μην μπορούν να εκτιμηθούν παντού. Για αυτόν τον λόγο τα μοντέλα προστέθηκαν στο sycamore και συγκρίθηκαν σχολαστικά τα γραφήματα καλής προσαρμογής, με έμφαση το Obs vs Pred, και το VPC. Έπειτα για τα μοντέλα με τα καλύτερα γραφήματα πραγματοποιήθηκε bootstrap, ώστε να φανούν τα σφάλματα όλων των παραμέτρων.

Πίνακας 9 Πίνακας κατάταξης μοντέλων για VPC και γράφημα καλής προσαρμογής.

VPC*	Obs vs Pred**	Scatter plot of residuals ***
3, 4	1, 2	3,4
5, 6, 7	3, 4, 6, 7	1
1	5	2,7
2	8	5,6
8	-	8

* Η κατάταξη του VPC έγινε με γνώμονα τον αριθμό των σημείων που είναι εκτός των διαστημάτων εμπιστοσύνης και με την γενικότερη εικόνα του VPC.

** Η κατάταξη έγινε σύμφωνα με το πόσο συμμετρικά κατανομημένα είναι τα σημεία γύρω από την διχοτόμο του γραφήματος και πόσα είναι εκτός του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης που ορίζεται από τις ευθείες.

*** Κατάταξη σύμφωνα με συμμετρικότητα προς τον χ^2 και μη ύπαρξη τάσης.

Σαν καλύτερα μοντέλα επιλέχθηκαν το 3, 4, 1, 2 και 7. Για όλα πραγματοποιήθηκε bootstrap, αναζητήθηκαν συσχετίσεις και συμμεταβλητές με σκοπό την βελτίωση των μοντέλων και ξαναέγινε bootstrap για τελική επικύρωση.

- Στο μοντέλο 3 «Transit comp, 1 απορ., lag time, 1 απορ., ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση» προστέθηκε συσχέτιση Q-CL-V2, όμως απορρίφθηκε διότι η παράμετρος ka1 είχε R.S.E 197%
- Στο μοντέλο 4 «Lag time, 1 απορ., lag time, 1 απορ., true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση» έγινε προσθήκη συσχέτισης V2-CL. Η πλειονότητα των παραμέτρων ήταν φυσιολογική με 15/20 παραμέτρους να έχουν RSE μικρότερο του 30% και οι υπόλοιπες 5 να έχουν RSE μικρότερο από 48%.
- Στο μοντέλο 1 «Lag time, 0 απορ., Lag time, 0 απορ., ταυτόχρονα, true, 2 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση» προστέθηκε συσχέτιση CL-V2. Οι παράμετροι έχουν φυσιολογικό RSE%.
- Στο μοντέλο 2 «Lag time, 0 απορ., Lag time, 0 απορ., ταυτόχρονα, true, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση» δεν προστέθηκε συσχέτιση διότι δυσχέραινε τον υπολογισμό του σφάλματος των παραμέτρων. Το μοντέλο είχε μεγάλο RSE% για το Q2 (96%) και το ω Tlag (65%) οι υπόλοιπες παράμετροι ήταν φυσιολογικές.
- Στο μοντέλο 7 «Lag time, 1 απορ., lag time, 1 απορ., true, 3 διαμερίσματα, γραμμική απομάκρυνση» δεν προστέθηκε συσχέτιση ή συμμεταβλητή και απορρίφθηκε γιατί η πλειονότητα των παραμέτρων είχε υψηλό σφάλμα εκτίμησης.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι κατάλληλα μοντέλα μπορούν να είναι το 4 και 1.

Το γεγονός αυτό κάνει εντύπωση διότι το ένα μοντέλο έχει δυο πρωτοταξικές απορροφήσεις στην σειρά και το άλλο έχει δυο μηδενοταξικές στην σειρά. Και τα δυο μοντέλα φαίνεται να περιγράφουν ικανοποιητικά τα δεδομένα, αφού καταφέρνουν να παρουσιάσουν σε κάποιους εθελοντές την ύπαρξη διπλής

κορυφής, έχουν καλό VPC και σε σχέση με τα υπόλοιπα μοντέλα, ωραία γραφήματα καλής προσαρμογής. Με κριτήριο τις τιμές των AIC και BIC (πίνακας 10), σαν τελικό μοντέλο επιλέχθηκε το μοντέλο με τον αριθμό 1.

Πίνακας 10 Τιμές κριτηρίων πληροφορίας για τα δυο μοντέλα του Envarsus.

	Μοντέλο 4	Μοντέλο 1
-2 x log-likelihood	225.05	173.54
Akaike Information Criteria (AIC)	265.05	213.54
Bayesian Information Criteria (BIC)	274.75	223.23
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	308.71	257.19

Μοντέλο 1 : Διαμερισματικό μοντέλο, με διπλή απορρόφηση και γραμμική απομάκρυνση. Οι δυο απορροφήσεις συμβαίνουν ταυτόχρονα, ακολουθούν μηδενοταξική κινητική και παρουσιάζουν καθυστέρηση. Η μια εξ αυτών ξεκινάει νωρίτερα με $Tlag_1$, κλάσμα απορρόφησης F_1 και διάρκεια απορρόφησης ίση με Tk_{01} , ενώ η δεύτερη ξεκινάει σε χρόνο $Tlag_2 = Tlag_1 + diffTlag_2$, απορροφά κλάσμα $(1-F_1)$ και έχει διάρκεια απορρόφησης Tk_{02} . Επιπλέον στο μοντέλο βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην κάθαρση και τον όγκο κατανομής του δεύτερου διαμερίσματος.

Οι παράμετροι Tk_{01} , Tk_{02} , $Tlag_1$, $diffTlag_2$, CL , V_1 , Q , V_2 ακολουθούν log-κανονική κατανομή αφού δεν παίρνουν αρνητικές τιμές. Η παράμετρος F_1 που παίρνει τιμές από 0-1 ακολουθεί logit-κανονική κατανομή. Τα σφάλματα έχουν αναλογικό μοντέλο και ακολουθούν κανονική κατανομή. Δεν βρέθηκαν συμμεταβλητές με φυσική σημασία.

Η διατομική μεταβλητότητα γράφτηκε με τον εξής τρόπο:

$$\begin{aligned} \log(\text{Tk01}) &= \log(\text{Tk01_pop}) + \text{eta_Tk01} \\ \log(\text{Tk02}) &= \log(\text{Tk02_pop}) + \text{eta_Tk02} \\ \log\left(\frac{\text{F1}}{1 - \text{F1}}\right) &= \log\left(\frac{\text{F1_pop}}{1 - \text{F1_pop}}\right) + \text{eta_F1} \\ \log(\text{Tlag1}) &= \log(\text{Tlag1_pop}) + \text{eta_Tlag1} \\ \log(\text{diffTlag2}) &= \log(\text{diffTlag2_pop}) + \text{eta_diffTlag2} \\ \log(\text{C1}) &= \log(\text{C1_pop}) + \text{eta_C1} \\ \log(\text{V1}) &= \log(\text{V1_pop}) + \text{eta_V1} \\ \log(\text{Q}) &= \log(\text{Q_pop}) + \text{eta_Q} \\ \log(\text{V2}) &= \log(\text{V2_pop}) + \text{eta_V2} \end{aligned}$$

Correlations
ID : {C1, V2}

Η τιμή της συνάρτησης πιθανοφάνειας φαίνεται στον πίνακα 10

Ακολουθούν οι τιμές των παραμέτρων.

Πίνακας 11 Τιμές παραμέτρων για Envarsus

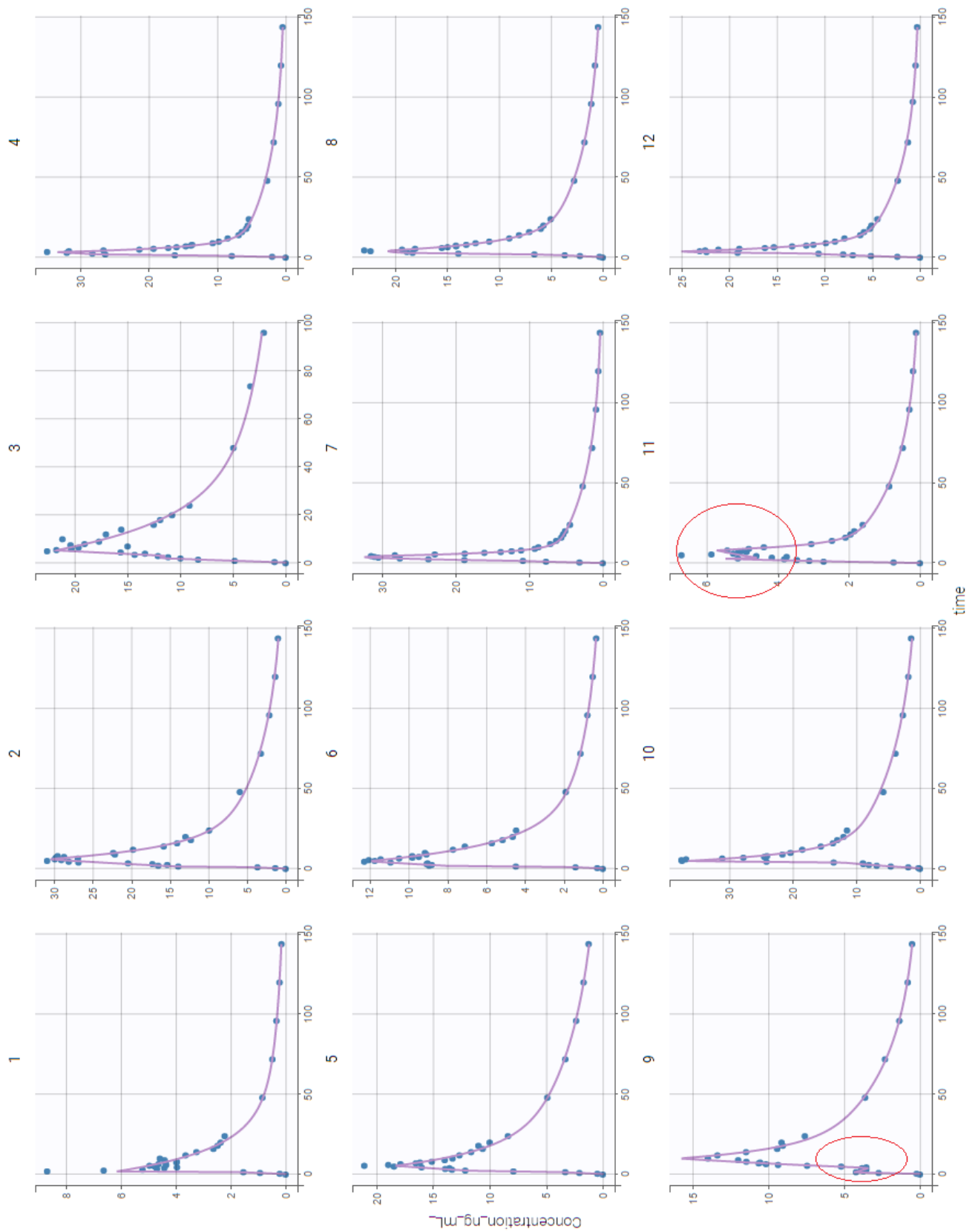
	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
Fixed Effects			
Tk01_pop	3.18	nan	nan
Tk02_pop	1.06	0.527	49.6
F1_pop	0.564	0.171	30.3
Tlag1_pop	0.32	0.0337	10.6
diffTlag2_pop	1.68	0.416	24.7
C1_pop	10.8	1.82	16.8
V1_pop	166	nan	nan
Q_pop	14.5	nan	nan
V2_pop	258	60.6	23.4
Standard Deviation of the Random Effects			
omega_Tk01	0.673	0.293	43.5
omega_Tk02	1.19	0.587	49.2
omega_F1	0.89	0.262	29.5

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
omega_Tlag1	0.325	0.097	29.9
omega_diffTlag2	0.669	0.233	34.8
omega_C1	0.581	nan	nan
omega_V1	0.739	nan	nan
omega_Q	0.738	nan	nan
omega_V2	0.556	nan	nan
Correlations			
corr_V2_C1	0.957	0.0247	2.58
Error Model Parameters			
b	0.0899	0.0067	7.45

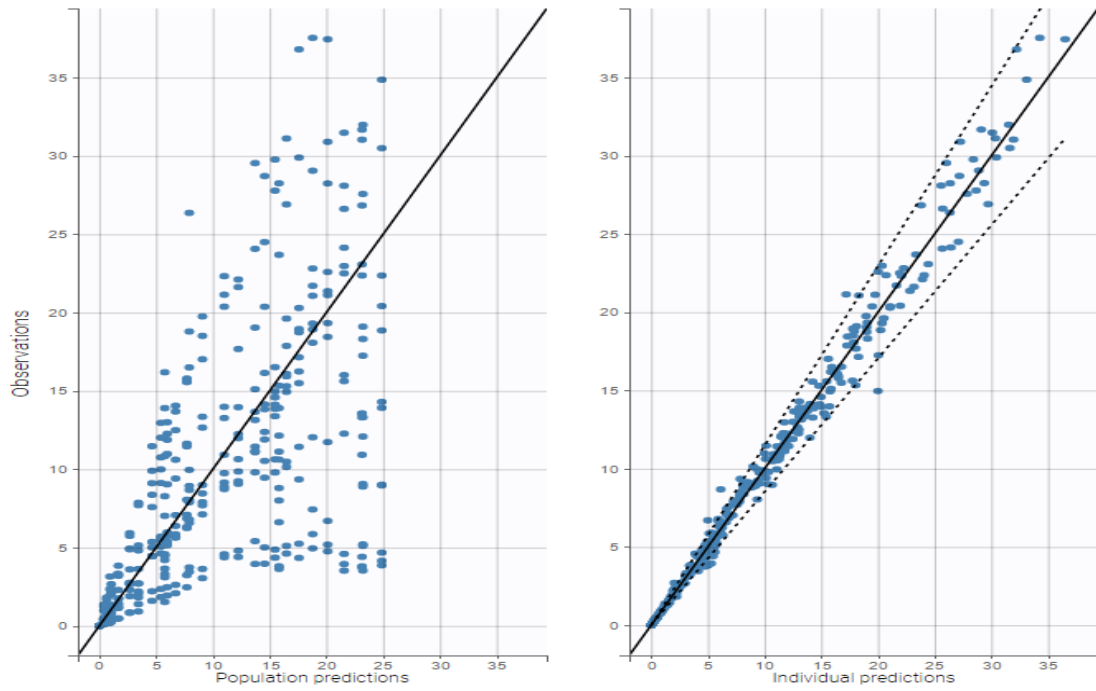
Διάρκεια 1^{ης} απορρόφησης 3.2 ώρες, με χρονοκαθυστέρηση 0.32 ώρες και κλάσμα απορρόφησης 0.56

Διάρκεια 2^{ης} απορρόφησης 1.06 ώρες με χρονοκαθυστέρηση περίπου 2 ώρες.

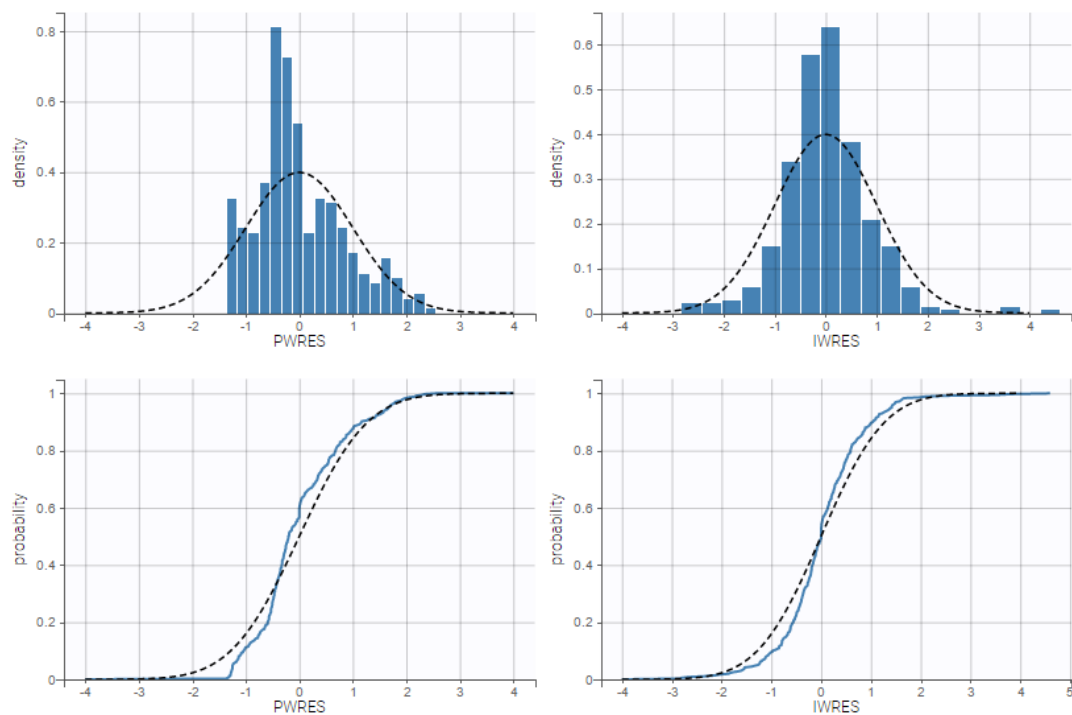
Διατομική μεταβλητότητα κάθαρσης 58.1% , V1 73.9%, διαδιαμερισματικής κάθαρσης 73.8% και V2 55.6%. Υπόλοιπη μεταβλητότητα 8.99%.



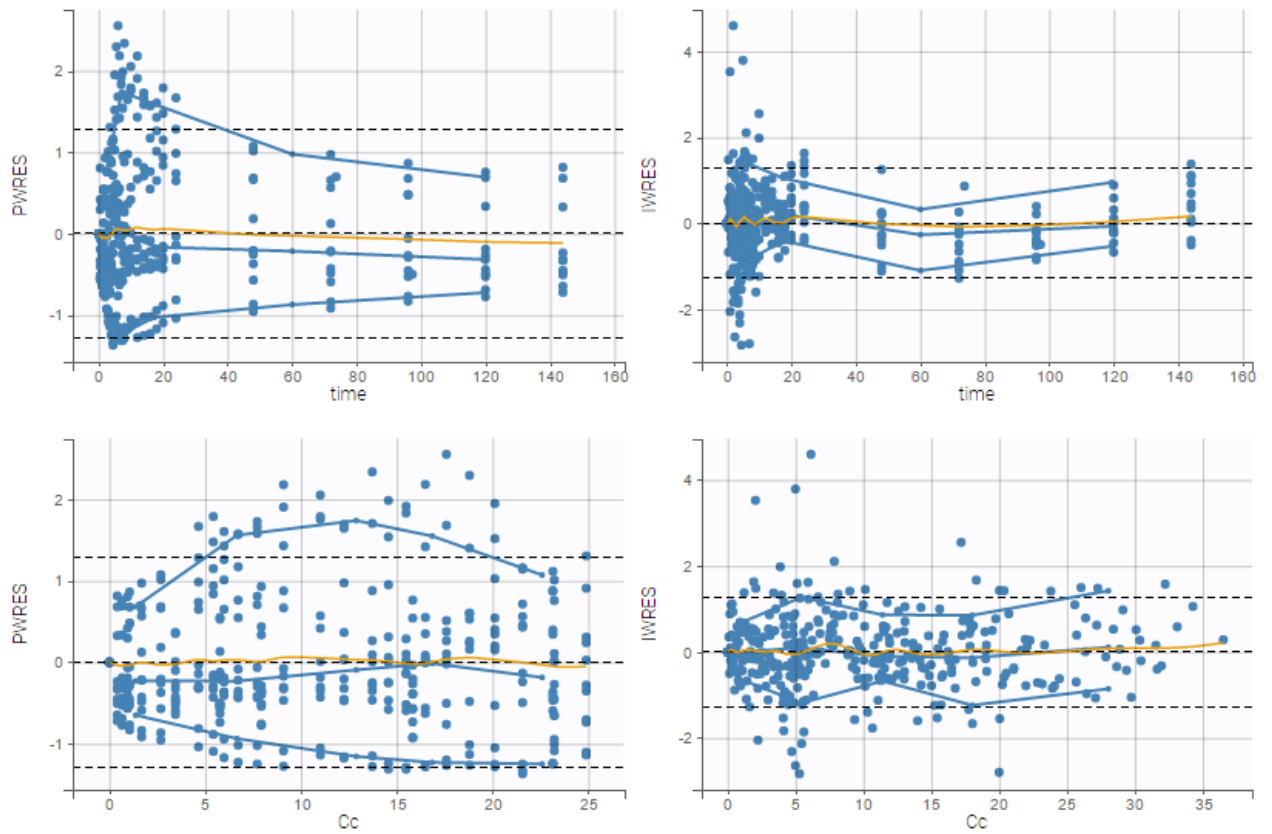
Εικόνα 58 Γράφημα Ατομικής προσαρμογής για Envarsus. Τα γραφήματα είναι ικανοποιητικά, το μοντέλο καταφέρνει να απεικονίσει μια από τις πολλαπλές κορυφές στους ασθενείς 9 και 11.



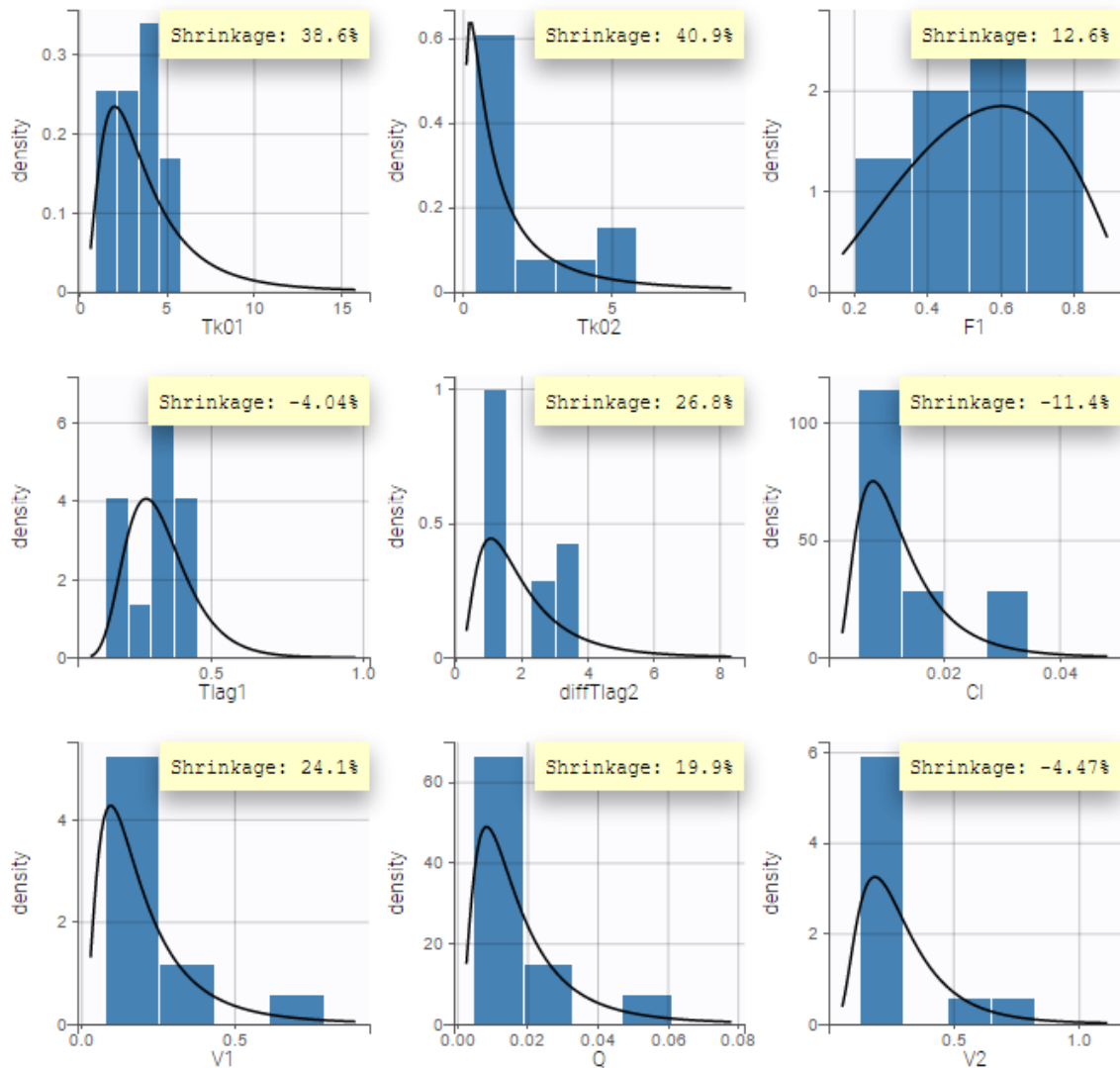
Εικόνα 59 Γράφημα *Obs-Pred Envarsus*. Γράφημα πολύ καλό με τις παρατηρήσεις να είναι συμμετρικές ως προς την ταυτοτική ευθεία και εντός του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης που ορίζεται από τις ευθείες.



Εικόνα 60 Γράφημα κατανομής πυκνότητας και πιθανότητας σφαλμάτων *Envarsus*. Αριστερά πληθυσμιακές τιμές, δεξιά ατομικές τιμές. Για τις πληθυσμιακές τιμές το γράφημα επιδέχεται βελτίωσης.



Εικόνα 61 Γράφημα διασποράς σφαλμάτων ως προς χρόνο και συγκέντρωση. Πληθυσμιακά και ατομικά σφάλματα παρατηρείται τάση και πάνω από 10% σφαλμάτων βρίσκεται εκτός διαστήματος εμπιστοσύνης που ορίζεται από διακεκομμένες ευθείες.

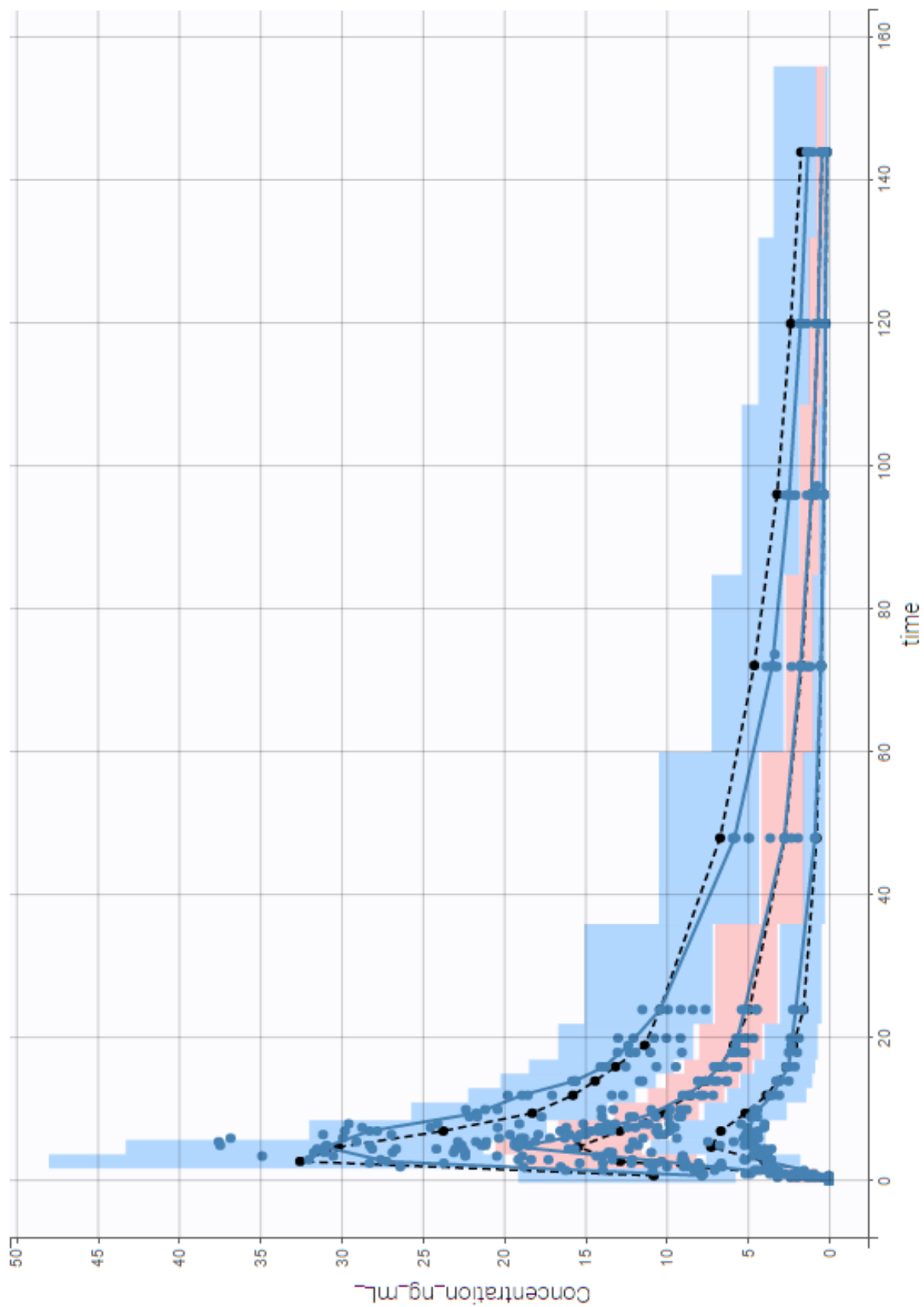


Εικόνα 62 Κατανομή των παραμέτρων .Στο κίτρινο πλαίσιο φαίνεται το η - shrinkage.

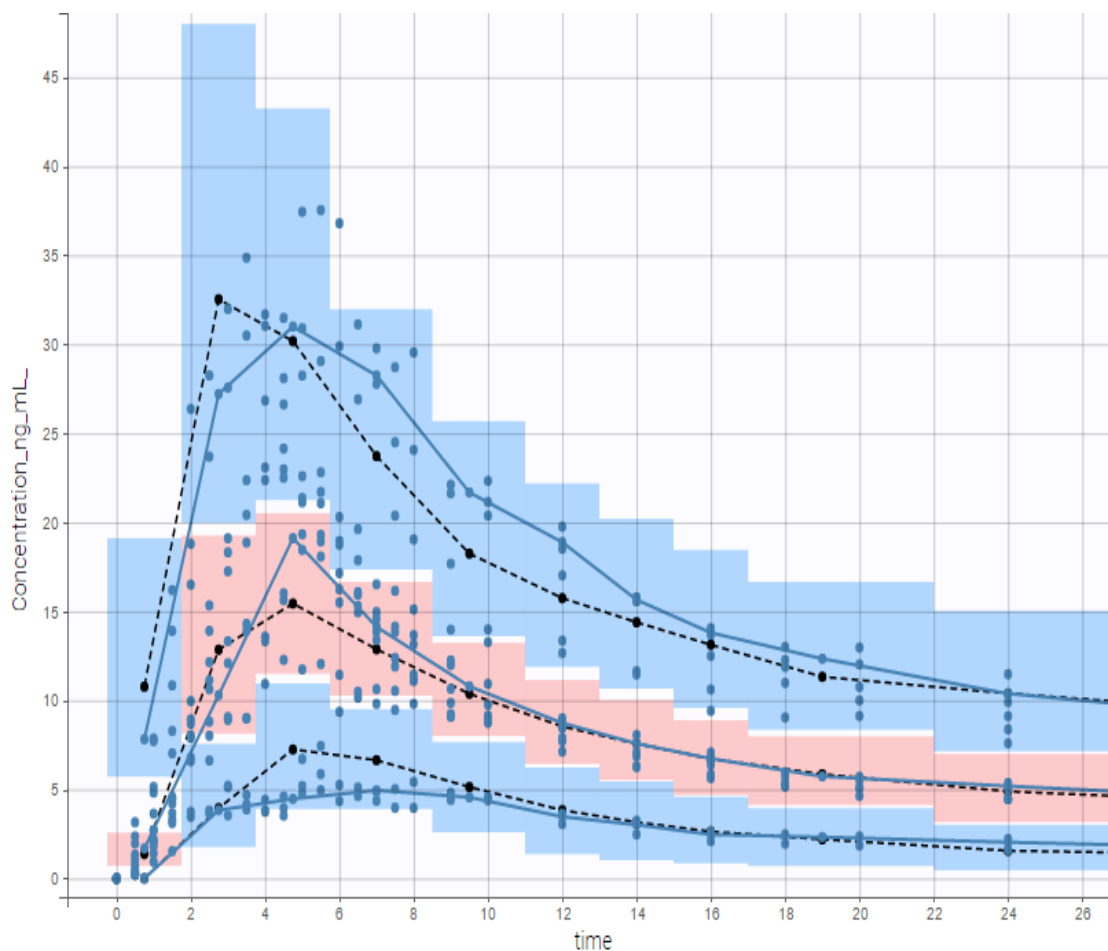
Πίνακας 12 Shapiro Wilk Test για κανονικότητα των η .

	STATISTICS	P-VALUE
Tk01	0.905961	0.158056
Tk02	0.951201	0.99203
F1	0.955313	0.981582
Tlag1	0.883647	0.055877

	STATISTICS	P-VALUE
diffTlag2	0.928877	0.513508
CI	0.893712	0.1713
V1	0.93783	0.811936
Q	0.930973	0.486905
V2	0.905655	0.291626



Εικόνα 63 VPC με 15 fixed bins 5°, 50° και 95° εκατοστημόριο. Το μοντέλο φαίνεται να περιγράφει καλά τα δεδομένα.



Εικόνα 64 VPC με 15 fixed bins 5°, 50° και 95° εκατοστημόριο, μεγέθυνση για τις πρώτες 24 ώρες. Στην μεγέθυνση είναι εμφανής η διαφορά στον χρόνο που επιτυγχάνεται το T_{max} και C_{max} ανάμεσα στα δεδομένα και τις προσομοιώσεις. Ωστόσο, επειδή τα εκατοστημόρια των δεδομένων είναι εντός των μη παραμετρικών διαστημάτων εμπιστοσύνης το γράφημα είναι ικανοποιητικό.

Bootstrap για 500 bootstraps

Παράμετροι	Μέση τιμή Bootstrap	Bootstrap CV %	Bootstrap Confidence Interval 95%	Τιμές από Monolix (RSE%)
Tk01_pop	2.92	14.2	2.10-3.59	3.18 (nan)
Tk02_pop	1.44	31.4	0.671-2.39	1.06 (49.6)
F1_pop	0.537	12.5	0.417-0.653	0.564 (30.3)
Tlag1_pop	0.313	14.2	0.225-0.384	0.32 (10.6)
diffTlag2_pop	1.65	19.0	1.10-2.24	1.68 (24.7)
Cl_pop	10.8	17.2	8.0-15.1	10.8 (16.8)

V1_pop	176	18.9	122- 253	166 (nan)
Q_pop	14.5	18.6	9.8- 19.7	14.5 (nan)
V2_pop	254	15.3	188- 337	258 (23.4)
omega_Tk01	0.617	19.2	0.395-0.833	0.673 (43.5)
omega_Tk02	1.02	25.6	0.572-1.60	1.19 (49.2)
omega_F1	0.861	17.5	0.510-1.01	0.89 (29.5)
omega_Tlag1	0.341	43.7	0.121-0.671	0.325 (29.9)
omega_diffTlag2	0.733	23.4	0.453-1.09	0.669 (34.8)
omega_Cl	0.529	19.3	0.329-0.697	0.581 (nan)
omega_V1	0.709	19.5	0.456-1.02	0.739 (nan)
omega_Q	0.648	23.5	0.396-0.946	0.738 (nan)
omega_V2	0.484	22.1	0.265-0.661	0.556 (nan)
Cor V2-CL	0.948	4.67	0.822-0.995	0.957 (2.58)
b	0.0956	8.83	0.079-0.111	0.0899 (7.45)

Οι τιμές του μοντέλου είναι εντός των διαστημάτων εμπιστοσύνης που προκύπτουν από το bootstrap.

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όλοκληρώνοντας την εργασία καταλήξαμε με διαφορετικό μοντέλο για το κάθε σκεύασμα. Όλα τα μοντέλα είχαν αναλογικό σφάλμα, διδιαμερισματικό μοντέλο, γραμμική απομάκρυνση και καθυστέρηση στην απορρόφηση, ωστόσο δείξαν διαφορετική κινητική απορρόφησης. Συγκεκριμένα για το Test ταίριαζε καλύτερα μοντέλο διπλής απορρόφησης, με καθυστέρηση και στις δυο απορροφήσεις με αυτήν που ξεκινάει πρώτη να είναι πρωτοταξική και την δεύτερη μηδενοταξική. Για το Advagraf, η χρήση μοντέλου με μια πρωτοταξική απορρόφηση και καθυστέρηση ήταν επαρκής για την περιγραφή των δεδομένων. Τέλος για το Envarsus, καλύτερο ήταν μοντέλο με δυο μηδενοταξικές απορροφήσεις, που συμβαίνουν ταυτόχρονα με την καθμία να έχει καθυστέρηση.

Από τα παραπάνω συμπαιρένουμε ότι η διαφορετική μορφοποίηση σε ένα σκεύασμα μπορεί να επηρεάσει σε κάποιο βαθμό το μοντέλο που είναι καταλληλότερο για την περιγραφή των δεδομένων. Ειδικότερα, όταν υπάρχει συχνή δειγματοληψία, αυτό είναι δυνατό,αφού υπάρχει εικόνα για το τι συμβαίνει τις πρώτες ώρες. Βέβαια, σπουδαίο ρόλο διαδραματίζει και η δραστική που μελετάται. Η τακρόλιμους σαν ένα δυσδιάλυτο φάρμακο, με κρίσιμο στάδιο για την απορρόφηση της την καλή διάλυση στον εντερικό βλεννογόνο, εξαρτάται πολύ από την τεχνολογία που θα χρησιμοποιηθεί για να βελτιωθεί η απορρόφηση της.

Παρακάτω παρουσιάζεται συγκεντρωτικός πίνακας με τις τιμές των παραμέτρων για το κάθε μοντέλο και για τιμές στην βιβλιογραφία.

Πίνακας 13 Συγκεντρωτικός πίνακας για χαρακτηριστικά απορρόφησης.

Παράμετροι	Τιμή (RSE-CV %)	Διατομική μεταβλητότητα (αβεβαιότητα %)	Μοντέλο-Σκεύασμα- Δημοσίευση
Tlag1 (h)	0.39 (5.8)	13.4 (36.6)	-Test
	0.32 (10.6)	32.5 (29.9)	-Envarsus
	0.35 (8.5)	26.3 (25.5)	-Advagraf
	0.39 (-)	-	-Jusko 1995

	1.00		-Asberg et al (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)
diffTlag2 (h)	0.94 (21.9)	48 (30.6)	-Test
	1.7 (24.7)	67 (34.8)	-Envarsus
Tk01 (h)	3.2 (14.2)	67 (19.2)	-Envarsus
Tk02 (h)	1.1 (49.6)	119 (49.2)	-Envarsus
	0.87 (27.3)	62.9 (32.7)	-Test
ka1 (h⁻¹)	0.42 (29.6)	52.6 (50.1)	-Test
ka (h⁻¹)	0.40 (7.6)	11.4 (49.8)	-Advagraf
	≈1.1		-Asberg et al (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)
ka (h⁻¹)	0.723 (72.4)	74.3 (57.5)	-Liqin Zhu et al (διδιαμερισματικό πρωτοταξική απορρόφηση NONMEM)
	4.5	Fixed από Jusko et al	-Antignac (μονοδιαμερισματικό μοντέλο)
	4.48 (-)	Fixed Jusko et al	-Staatz (μονοδιαμερισματικό μοντέλο)
Ktr (h⁻¹)	6.4 (4.7)	10 (-)	-Benkali 2009 NONMEM (διδ/κο μοντέλο με χρονοκαθυστέρηση)

Βλέπουμε ότι δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες από την βιβλιογραφία για να συγκριθούν τα αποτελέσματα για την απορρόφηση. Αυτό διότι, συνήθως τα δεδομένα ήταν πιο αραιά και οι δειγματοληψίες γινόντουσαν ακριβώς πριν την χορήγηση της επόμενης δόσης με αποτέλεσμα να περιγράφονται καλύτερα με πρωτοταξική απορρόφηση. Παρατηρούμε ότι το Tlag για τα 3 μοντέλα έχει παραπλήσια τιμή. Οι τιμές της σταθεράς απορρόφησης, ka, έχουν ίδια τιμή για τα υπό μελέτη σκευάσματα και είναι μικρότερη από αυτές που συναντάμε στην βιβλιογραφία. Τέλος, για τα

σκευάσματα με μηδενοταξική απορρόφηση δεν βρέθηκε μέτρο σύγκρισης με την βιβλιογραφία και εμφανίζεται υψηλή διατομική μεταβλητότητα.

Σύγκριση παραμέτρων για κατανομή και απομάρυνση για τα σκευάσματα και την βιβλιογραφία

Παράμετροι	Τιμή (RSE- CV %)	Διατομική μεταβλητότητα (αβεβαιότητα %)	Μοντέλο-Σκεύασμα- Δημοσίευση
CL/F (L/h)	11.9 (16.9)	56.0 (21.7)	-Test
	14.8 (14.7)	50.7 (20.4)	-Advagraf
	10.8 (17.2)	58.1 (19.3)	-Envarsus
βιβλιογραφία	≈ 23.9	-	-Asberg et al 2013 ^[43] (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)
	5.6	-	-Antignac 2007 ^[9] (μονοδιαμερισματικό)
	11.2 (0.28)	16.2 (4.67)	-Zhu 2014 ^[45] (διδια/τικό NONMEM)
	33.0 (34)	-	-Staatz 2002 ^[47] (μονοδ/τικό NONMEM)
	863 (7.5)	30 (-)	-Benkali 2009 ^[27] (διδ/κο NONMEM)
	2.87 – 25.2	-	-Christians et al 2002
V1/F (L)	62.5 (48.7)	32.6 (166-36.7) *	-Test
	81.1 (19.2)	55.4 (25.3-53.2) *	-Advagraf
	166 (18.9)	73.9 (19.5)	-Envarsus
βιβλιογραφία	177	-	-Asberg et al 2013 ^[43] (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)

	98.3(13.3)L/kg	-	-Antignac 2007 ^[9] (μονοδιαμερισματικό)
	406 (30)	163(164)	-Zhu 2014 (διδια/κό NONMEM)
	1974 (240)	26	-Staatz 2002 ^[47] (μονοδ/τικό NONMEM)
	147 (16.3)		-Benkali 2009 ^[27] (διδ/κό NONMEM)
Q/F (L/h)	25.0 (14.7)	48.4 (22.9)	-Test
	55.0 (19.3)	66.4 (20.9)	-Advagraf
	14.5 (18.6)	73.8 (23.5)	-Envarsus
βιβλιογραφία	19.5	-	-Asberg et al 2013 ^[43] (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)
	57.3 (4.86)	19.7(21.4)	-Zhu 2014 ^[45] (διδια/κό NONMEM)
	60 (20)	63	-Benkali 2009 ^[27] (διδια/κό NONMEM)
V2/F (L)	378 (14)	48.1 (22.1)	-Test
	509 (13.9)	47.6 (20.7)	-Advagraf
	258 (23.4)	55.6 (22.1)	-Envarsus
βιβλιογραφία	3707	-	-Asberg et al 2013 ^[43] (μη παραμετρικό τριδιαμερισματικό μοντέλο με πρωτοταξική απορρόφηση και lag time)
	503 (18.5)	199 (231)	-Zhu 2014 ^[45] (διδια/τικό NONMEM)
	500	fixed	-Benkali 2009 ^[27] (διδια/κό NONMEM)

* τιμή μοντέλου-bootstrap, εισαγωγή και των δυο τιμών, λόγω μεγάλης διαφοράς μεταξύ τους.

Παρατηρούμε αρκετές διαφορές στα αποτελέσματα μεταξύ των σκευασμάτων και της βιβλιογραφίας. Η κάθαρση CL/F, παρόλο που και για τα τρία σκευάσματα έχει τιμή μεταξύ 10-15 ng/mL και διατομική μεταβλητότητα περίπου 55%, εμφανίζει πλήθος τιμών στην βιβλιογραφία με αυτήν του Zhu et al να μοιλάζει περισσότερο. Για V1/F, βλέπουμε το Test σκεύασμα με το Advagraf να παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές, ενώ το Envarsus έχει περίπου διπλάσια τιμή. Η διατομική μεταβλητότητα είναι σχετικά χαμηλή για τα Test και Advagraf, ενώ για το Envarsus είναι πολύ ψηλότερη. Στην βιβλιογραφία παρατηρείται μεγάλο εύρος τιμών, με κάποιες μελέτες να έχουν τιμές παρόμοιες με τα αποτελέσματα. Για Q/F, το Test και Envarsus παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές σε σχέση με το Advagraf, οι τιμές στην βιβλιογραφία ήταν ελαφρώς μεγαλύτερες ή παραπλήσιες. Η διατομική μεταβλητότητα ήταν και για τα τρία σκευάσματα μεγαλύτερη του 50% μέχρι 74% για το Envarsus και είχε μικρή αβεβαιότητα. Τέλος για V2, παρατηρούμε όγκο μικρότερο είτε ίσο με αυτόν που εμφανίζεται στην βιβλιογραφία με τα Test και Envarsus να έχουν τον μικρότερο όγκο. Επιπλέον, η διατομική μεταβλητότητα είναι σχεδόν ίδια για τα τρία σκευάσματα με τιμή περίπου 50% και χαμηλή αβεβαιότητα με τιμή περίπου 21.6%.

Οι λόγοι που μπορεί να ευθύνονται για αυτές τις αποκλίσεις αναφέρονται παρακάτω:

- Πρώτον, η χρήση διαφορετικού λογισμικού : στην εργασία έγινε χρήση Monolix ενώ στην βιβλιογραφία ως επί το πλείστον NONMEM.
- Δεύτερον, ο τύπος των δεδομένων : διαδραματίζει σημαντικό ρόλο το πλήθος των παρατηρήσεων και οι ώρες δειγματοληψίας, αφού όπως αναφέρθηκε νωρίτερα σε μελέτες με συχνή δειγματοληψία το διδιαμερισματικό μοντέλο εξέφραζε καλύτερα τα δεδομένα.
- Τρίτον, ο αναλυτής : παρά τα κριτήρια αξιολόγησης η επιλογή μοντέλου είναι υποκειμενική και ανάλογα την χρήση επιλέγεται το βέλτιστο μοντέλο. Επίσης είναι εύκολο ο εκάστοτε αναλυτής να κάνει λάθος.
- Τέταρτον, η ενδογενής μεταβλητότητα της τακρόλιμους : στην εισαγωγή αναφέρθηκε πόσο μεγάλη μεταβλητότητα εμφανίζει λόγω του πολυμορφισμού, της αντλίας p-gp, της δυσδιαλυτότητας κ.α

- Πέμπτον, ο πληθυσμός που χορηγήθηκε το φάρμακο : για την εργασία χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από υγιείς εθελοντές, ενώ στην βιβλιογραφία υπήρχαν ασθενείς μετά από μεταμόσχευση σε διάφορα όργανα. Ακόμα και το είδος του οργάνου αλλάζει τα αποτελέσματα της κάθαρσης.

Αναφορά ζητημάτων που προβληματίσαν κατά την εκπόνηση της εργασίας

- A. Η απόρριψη του τριδιαμερισματικού μοντέλου. Σχεδόν και στα τρία σκευάσματα βελτιώνει τα γραφήματα καλής προσαρμογής (ειδικότερα το γράφημα διασποράς σφαλμάτων) μειώνει σημαντικά την αντικειμενική συνάρτηση πιθανοφάνειας και τις τιμές των AIC και BIC, παρόλα αυτά η εφαρμογή του δυσκόλευε την εκτίμηση των σφαλμάτων των παραμέτρων παρά το πλήθος των παρατηρήσεων που υπήρχαν ανά εθελοντή.
- B. Στο σκεύασμα Envarsus οι παρατηρήσεις μπόρεσαν να περιγραφούν ικανοποιητικά, με χρήση ή δυο πρωτοταξικών ή δυο μηδενοταξικών απορροφήσεων στην σειρά. Είναι πιθανό, οι εκτιμώμενες τιμές των παραμέτρων να τροποποιούνται ανάλογα το δομικό μοντέλο που χρησιμοποιείται, αλλά θα περίμενε κανείς να είναι πιο ορισμένο το τι είναι κατάλληλο για το κάθε σκεύασμα.
- C. Η ανικανότητα του μοντέλου να παρουσιάσει έστω την μια από τις πολλαπλές κορυφές για τα σκευάσματα Test και Envarsus που χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα διπλής απορρόφησης. Επιπλέον, εντύπωση έκανε το ότι κανένα μοντέλο εντεροηπατικής κυκλοφορίας δεν μπόρεσε να εκφράσει τα δεδομένα. Σε δημοσίευση του Wallemacq et al 2001^[64] αναφέρεται ότι η δεύτερη κορυφή στην τακρόλιμους οφείλεται στη εντεροηπατική κυκλοφορία. Βέβαια, στην συνέχεια της δημοσίευσης δηλώνει ότι η απορρόφηση της τακρόλιμους εξαρτάται από τον ρυθμό της διάλυσης της δραστικής αλλά δεν εξαρτάται από την ροή της χολής. Σε άλλη έρευνα,^[47] αναφέρεται ότι η τακρόλιμους υφίσταται τάχιστα προσυστημικό μεταβολισμό με αποτέλεσμα να δημιουργούνται κατευθείαν μεταβολίτες οι οποίοι δεν εμφανίζονται σε μέτρηση συγκέντρωσης της τακρόλιμους στο αίμα
- D. Αδυναμία εισαγωγής συμμεταβλητών. Η αλήθεια είναι ότι δεν υπήρχαν στοιχεία για τον αιματοκρίτη των εθελοντών, ούτε για τον γενότυπο τους (CYP3A5), που είναι η κατεξοχήν χρησιμοποιούμενες συμμεταβλητές,^[43-45] όμως, δοθηκαν πληροφορίες για το ύψος, το βάρος και την ηλικία. Στην

βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η χρήση του BMI ή του βάρους στον όγκο κατανομής ^[43,44]. Για την αποτύχια μπορεί να ευθύνεται ο μικρός αριθμός των εθελοντών και η προϋπόθεση να έχουν φυσιολογικό βάρος.

Συνοψίζοντας τα παραπάνω είναι εμφανές ότι τα αποτελέσματα είναι διαφορετικά. Ανάμεσα στην βιβλιογραφία μεγαλύτερη ομοιότητα παρατηρείται με τα αποτελέσματα της μελέτης των Zhu et 2014. Η πιο πιθανή ερμηνεία είναι η υψηλή συχνότητα δειγματοληψίας στην μελέτη, η οποία οδήγησε αντίστοιχα σε διδιαμερισματικό μοντέλο και τιμές παραπλήσιες με τα αποτελέσματα. Σίγουρα η μεγάλη μεταβλητότητα της τακρόλιμους οδηγεί σε υψηλές αποκλίσεις, ωστόσο με συνεχή μελέτη γίνονται προσπάθειες να κατανοηθεί η συμπεριφορά του φαρμακομορίου, να προσδιοριστούν όσο το δυνατόν καλύτερα τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά και να συγκριθούν αυτά στα διαφορετικά σκευάσματα. Απώτερος στόχος αυτής της εργασίας ήταν να δημιουργηθεί ένα μέρος από όσα χρειάζονται για να εξαχθούν εικονικές βιοσοδυναμίες. Θεωρητικά, αποτελέσματα προσομοιώσεων φυσιολογικών φαρμακοκινητικών μοντέλων με δεδομένα από in vitro πειράματα θα μπορούσαν να συγκριθούν με τα αποτελέσματα των παραπάνω φαρμακοκινητικών μοντέλων με σκοπό εξαγωγή εικονικής βιοσοδυναμίας και χρήση ολοένα και λιγότερων εθελοντών για τέτοιου τύπου μελέτες. Το πιο αισιόδοξο θα ήταν τα αποτελέσματα της παραπάνω εργασίας να είναι ορθά, όσο το δυνατόν πλησιέστερα στα πραγματικά και να βρύνε μελλοντικά πρακτική εφαρμογή. Διαφορετικά, όπως έχει αναφερθεί από τον Box(1976)^[32] « Όλα τα μοντέλα είναι λάθος μα κάποια από αυτά είναι χρήσιμα! »

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00864> (διαθέσιμο στις 03/07/2020)
2. Hebert M.F. “Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery”. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1997 Sep 15; 27 (2-3) 201–14
3. <https://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/tacrolimus> (διαθέσιμο στις 03/07/2020)
4. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995 Dec; 29 (6): 404-30
5. Mercuri A., S. Wu, S. Stranzinger, et al “In vitro and in silico characterisation of Tacrolimus released under biorelevant conditions” *International Journal of Pharmaceutics* 2016 Dec 30;515(1-2):271-280.
6. Tamura Shigeki, Atsuo O., Rinta I., et al. “Tacrolimus is a Class II Low-Solubility High-Permeability Drug: The Effect of P-Glycoprotein Efflux on Regional Permeability of Tacrolimus in Rats”. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol.91, No.3, March 2002,
7. Jusko William J., Piekoszewski W., Klintmalm Goran B., et al, “Pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients” *Clinical Pharmacology & Therapeutics* March 1995;57:3 281-90
8. Tsunashima D, Kawamura A, Murakami M, et al. “Assessment of tacrolimus absorption from the human intestinal tract: open-label, randomized, 4-way crossover study”. *Clin Ther.* 2014;36(5):748–59
9. Antignac Marie, Barrou B., Farinotti R., et al. “Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients.” *Br J Clin Pharmacol* 2007 Dec; 64 (6): 750-7
10. Jeong H., Chiou W. L., “Role of P-glycoprotein in the hepatic metabolism of tacrolimus” *Xenobiotica*, January 2006; 36(1): 1–13

11. Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, Lampen A. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 2002;41: 813–51.
12. Watkins P.B., Murray S.A., Winkelman L.G., D.M. Heuman, S.A. Wrighton, P.S. Guzelian, “The erythromycin breath test as an assay of glucocorticoid-inducible liver cytochromes P-450”, *J. Clin. Invest.* 83 (1989) 688–697.
13. Tremblay S., Alloway R. R., “Clinical Evaluation of Modified Release and Immediate Release Tacrolimus Formulations”, *The AAPS Journal* (# 2017) DOI: 10.1208/s12248-017-0119-z, Published online 17 July 2017.
14. SPC Prograf , διαθέσιμο στο <https://erx.gr/p/z/?type=spc&bcode=2802393202010> (03/07/2020)
15. Shiraga T., Matsuda H., Kazuko N., et al, “Metabolism of FK506, A potent immunosuppressive agent, by cytochrome P450 3A enzymes in rat, dog and human liver microsomes”. *Biochemical Pharmacology*, 1994; 47:4, pp. 727-735,
16. Kolars J.C., P. Schmiedlin-Ren, J.D. Schuetz, C. Fang, P.B. Watkins, “Identification of rifampin-inducible P450III A4 (CYP3A4) in human small bowel enterocytes”, *J. Clin. Invest.*90 (1992) 1871–1878.
17. Lown K.S., J.C. Kolars, K.E. Thummel et al., Interpatient heterogeneity in expression of CYP3A4 and CYP3A5 in small bowel. Lack of prediction by the erythromycin breath test, *Drug Metab. Dispos.* 22 (1994) 947–955.
18. Landry K. Kamdem, Streit F., Zanger U.M, et al, “Contribution of CYP3A5 to the in Vitro Hepatic Clearance of Tacrolimus”. *Clinical Chemistry* 2005; 51:8 1374–1381
19. A. Lampen, U. Christians, A. Gonschior et al., Metabolism, of the macrolide immunosuppressant tacrolimus by the pig the gut mucosa in the Ussing chamber, *Br. J. Pharmacol.* 117 (1996) 1730–1734.
20. Möller A., Iwasaki K., Kawamura A., Teramura Y., et al “The disposition of ¹⁴C-Labeled Tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy

- human subjects” Drug Metabolism and Disposition by The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics 1999; 27:6
21. Astellas Pharma US, I., 2013. Prograf prescribing informations in the U.S.: tacrolimus capsules, injection: 13H057-PRG-PI-WPI.
 22. Kelly PA, Burckart GJ, Venkataramanan R. Tacrolimus. a new immunosuppressive agent. *Am J Health-Syst Pharm* 1995; 52:1521–35.
 23. Ichimaru N, Takahara S, Kokado Y, et al. Changes in lipid metabolism and effect of simvastatin in renal transplant recipients induced by cyclosporine or tacrolimus. *Atherosclerosis* 2001; 158: 417–23.
 24. Zahir H., G.McCaughan, M. Gleeson, R.A. Nand & A.J. McLachlan, “Factors affecting variability in distribution of tacrolimus in liver transplant recipients”. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 57:3 298–309.
 25. Peters Sheila Annie “Physiologically-Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling and Simulations, Principles, Methods, and Applications in the Pharmaceutical Industry”. John Wiley & Sons, Inc. 23 Feb. 2012
 26. Pascussi JM, Drocourt L, Gerbal-Chaloin S, et al. Dual effect of dexamethasone on CYP3A4 gene expression in human hepatocytes: sequential role of glucocorticoid receptor and pregnane X receptor. *Eur J Biochem* 2001 Dec; 268 (24): 6346-58
 27. Benkali Khaled, Pre’maud A., Nicolas P., et al. “Tacrolimus Population Pharmacokinetic-Pharmacogenetic Analysis and Bayesian Estimation in Renal Transplant Recipients” *Clin Pharmacokinet* 2009; 48 (12): 805-11
 28. Spc Envarsus https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/envarsus-epar-product-information_en.pdf. (διαθέσιμο στις 03/07/2020)
 29. Rostaing L., Bunnapradist S., Grinyo J. ’, et al “Novel Once-Daily Extended-Release Tacrolimus Versus Twice-Daily Tacrolimus in De Novo Kidney Transplant Recipients: Two-Year Results of Phase 3, Double-Blind, Randomized Trial” *Am J Kidney Dis*. 2016 Apr;67(4):648-59

30. Patent Melt Dose Technology: Holm L., Bour P., Llewa A. MO. et al ,2007 Controlled Agglomeration US7217431.
31. Ette E.I, Williams P.J. Pharmacometrics: The Science of Quantitative Pharmacology. Am J Pharm Educ. 2007 Aug 15; 71(4): 75
32. Bonate Peter L., “Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation” 2nd edition. Springer Science Business Media, LLC 2011, σελ 22-24, 205-316
33. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pharmacokinetics> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
34. Mould DR, Upton RN “Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development” CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2012 Sep 26;1(9):e6
35. Aarons Leon “Software for Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics” Clin Pharmacokinet 1999 Apr; 36 (4): 255-264
36. Πανοηλία Ε.Χ., Διδακτορική διατριβή «Πληθυσμιακή Φαρμακοκινητική μοντελοποίηση της μπεβασιζουμάμπης σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου» Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, 2015 (εισαγωγή)
37. <https://eclass.uoa.gr/modules/document/index.php?course=PHARM139&openDir=/4d2ef596b8j0> (διαθέσιμο στις 03/07/2020)
38. <http://monolix.lixoft.com/>- Monolix Documentation version 2019 (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
39. <http://lixoft.com/company/> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
40. <http://lixoft.com/products/monolix/> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
41. [http://wiki.webpopix.org/index.php/The SAEM algorithm for estimating population parameters](http://wiki.webpopix.org/index.php/The_SAEM_algorithm_for_estimating_population_parameters) (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
42. <http://monolix.lixoft.com/single-page/> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
43. Asberg Anders, Midtvedt K., Mike van Guilder, et al. “Inclusion of CYP3A5 genotyping in a nonparametric population model improves dosing of

tacrolimus early after transplantation” The Authors Transplant International published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of Steunstichting ESOT 26 (2013) 1198–1207

44. Campagne O., Mager Donald E., Tornatore K.M, “Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Transplant Recipients: What Did We Learn About Sources of Interindividual Variabilities?” The Journal of Clinical Pharmacology 2018, 00(0) 1–17
45. Zhu Liqin, Wang H., Sun X., et al., “The Population Pharmacokinetic Models of Tacrolimus in Chinese Adult Liver Transplantation Patients, Journal of Pharmaceutics, Volume 2014, Article ID 713650, 7 pages,
46. <https://www.youtube.com/watch?v=GpwA6u7gmDw> : τάσεις στο γράφημα Obs-Pred (διαθέσιμο στις 03/07/2020)
47. Staatz Christine E., Willis Charlene, Taylor PJ, et al. “Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients” Clin Pharmacol Ther 2002 Dec; 72 (6): 660-9
48. https://www.youtube.com/watch?v=r33brNt6K_Y : μοντέλο διπλής απορρόφησης (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
49. Okour Malek, Brundage RC. “Modeling Enterohepatic Circulation” Springer International Publishing AG 2017, Curr Pharmacol Rep 2017, 13 pages.
50. <http://mlxtran.lixoft.com/examples/circulation-model/>: εντεροηπατική κυκλοφορία (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
51. <https://eclass.uoa.gr/modules/document/index.php?course=PHARM139&openDir=/4d2ef596b8j0> . (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
52. <https://www.youtube.com/watch?v=NQvp7X68HnY> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
53. <http://monolix.lixoft.com/data-and-models/error-model> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
54. <https://www.youtube.com/watch?v=KIrIvcQpwuk>: διατομική μεταβλητότητα (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)

55. M.Savic Radojka, Karlsson Mats O. “Shrinkage in Empirical Bayes Estimates for Diagnostics and Estimation”, Sweden, Uppsala university
https://www.page-meeting.org/pdf_assets/9436-EBE_PAGE07_1_web.pdf
56. <http://evomics.org/resources/likelihood-ratio-test/> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
57. <http://monolix.lixoft.com/tasks/log-likelihood-estimation/> (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
58. https://en.wikipedia.org/wiki/Akaike_information_criterion (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
59. https://en.wikipedia.org/wiki/Bayesian_information_criterion (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
60. Mould DR, Upton RN “Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods” CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2013 Apr; 2(4): e38 / Mould DR, Upton RN “Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods” CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2013 Apr; 2(4): e38
61. <https://www.youtube.com/watch?v=zWJEEBqhTL0>: στατιστικά τεστ (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
62. Bergstrand Martin, Hooker AC., Johan E., et al. “Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models” The AAPS Journal, June 2011, 13(2): 143-9
63. <http://mlxtran.lixoft.com/model-libraries/double-absorption-library/> : μοντέλο διπλής απορρόφησης (Διαθέσιμο στις 03/07/2020)
64. Wallemacq Pierre E., Verbeeck Roger K. “Comparative Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus in Paediatric and Adult Patients” Clin Pharmacokinet 2001; 40 (4): 283-12