



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ – ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΙΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ  
ΥΓΙΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ  
ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΓΚΙΚΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ  
‘ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ’

ΑΘΗΝΑ, 2021



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Βαλαμή Γεωργία**, Καθηγήτρια, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ

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

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



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την παρούσα διπλωματική εργασία θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Αριστείδη Δοκουμετζίδα, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτική του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ διεξοδικά με ένα τόσο ενδιαφέρον επιστημονικό πεδίο, καθώς και για την συνεχή παρουσία και υποστήριξη σε όλα τα στάδια της διπλωματικής μου εργασίας. Η συμβουλευτική καθοδήγηση και η συνεργασία μας ήταν ιδιαίτερα πολύτιμες.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής την καθηγήτρια κα. Βαλαμή Γεωργία και την επίκουρη καθηγήτρια κα. Βερτζώνη Μαρία, για τις εποικοδομητικές τους παρατηρήσεις, την επίβλεψη και την καθοδήγησή τους κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένειά μου, στους γονείς μου και τον αδερφό μου, για την υπέρμετρη αγάπη, στήριξη, υπομονή αλλά και συμπαράστασή τους σε όλες τις σημαντικές στιγμές της ζωής μου.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η νόσος του Πάρκινσον αποτελεί τη δεύτερη συχνότερα εμφανιζόμενη, χρόνια, προοδευτικά εξελισσόμενη νόσο του εγκεφάλου μετά το Alzheimer. Οφείλεται κυρίως στον εκφυλισμό των κυττάρων του εγκεφάλου που παράγουν ντοπαμίνη και τελικά στην έλλειψή της από τον εγκέφαλο. Η ροπινιρόλη είναι ένας μη εργολινικός ανταγωνιστικός της ντοπαμίνης και αποτελεί μία από τις μεθόδους καταπολέμησης των συμπτωμάτων της νόσου του Πάρκινσον. Συγκεκριμένα, διεγείρει τους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς και μιμείται τη δράση της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. Χρησιμοποιείται είτε ως μοναδική θεραπεία, είτε συνδυαστικά με άλλα φάρμακα.

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν πειραματικά δεδομένα συγκέντρωσης ροπινιρόλης στο αίμα συναρτήσει του χρόνου. Τριάντα υγιείς εθελοντές (άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 19 – 44 y, BMI=19.4 – 29.8 kg/m<sup>2</sup>) που συμμετείχαν σε διασταυρωτή μελέτη βιοϊσοδυναμίας 2x2, έλαβαν από το στόμα το πρωτότυπο και το υπό μελέτη δισκίο παρατεταμένης αποδέσμευσης 2 mg ροπινιρόλης, με απλή χορήγηση, σε συνθήκες νηστείας. Αναπτύχθηκε το πληθυσμιακό φαρμακοκινητικό μοντέλο για καθένα από τα δύο σκευάσματα, με σκοπό την πληροφόρηση για τη φαρμακοκινητική της ροπινιρόλης και την ανάλυση της βιοϊσοδυναμίας τους με βάση τα αποτελέσματα του μοντέλου.

Το πληθυσμιακό φαρμακοκινητικό μοντέλο για τα δύο σκευάσματα αναπτύχθηκε μέσω μη γραμμικής μοντελοποίησης μικτών επιδράσεων με τη βοήθεια του υπολογιστικού προγράμματος Monolix. Η επιλογή των μοντέλων έγινε με βάση διαγνωστικά γραφήματα, όπως τα διαγράμματα των παρατηρήσεων (Observation, OBS) συναρτήσει των τιμών των προβλεπόμενων από το μοντέλο ατομικών συγκεντρώσεων (Individual Predicted, IPRED), των ατομικών σταθμισμένων υπολοίπων (Individual Weighted Residuals, IWRES) συναρτήσει των τιμών των προβλεπόμενων ατομικών συγκεντρώσεων, κριτήρια πληροφορίας (AIC, BIC) και στατιστικά κριτήρια (likelihood ratio test).

Αρχικά, για το πρωτότυπο προϊόν, το φαρμακοκινητικό μοντέλο που προέκυψε ήταν ένα μονο-διαμερισματικό μοντέλο διπλής κορυφής απορρόφησης, η πρώτη εξ αυτών ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης με καθυστέρηση lag time, ομοίως και η δεύτερη, η απομάκρυνση από τον οργανισμό πραγματοποιείται με γραμμικό τρόπο. Ως μοντέλο σφάλματος επιλέχθηκε το πολλαπλασιαστικό. Εκτιμήθηκε η διατομική μεταβλητότητα όλων των παραμέτρων. Η ηλικία εμφάνισε σημαντική επίδραση στο κλάσμα της δόσης που απορροφάται από την πρώτη απορρόφηση ( $F_1$ ) και προστέθηκε ως συμμεταβλητή σε αυτό. Το ίδιο δομικό μοντέλο παρουσίασε και το υπό μελέτη προϊόν με πολλαπλασιαστικό μοντέλο σφάλματος. Η διατομική μεταβλητότητα, και σε αυτή την περίπτωση, υπολογίστηκε για όλες τις παραμέτρους. Στο υπό μελέτη προϊόν η ηλικία έχει σημαντική επίδραση τόσο στο κλάσμα του φαρμάκου που απορροφάται από την πρώτη απορρόφηση, όσο και στην κάθαρση (Cl) και προστέθηκε ως συμμεταβλητή των δύο αυτών παραμέτρων.

Έπειτα, υπολογίστηκαν οι δείκτες βιοϊσοδυναμίας (AUC,  $C_{max}$ ) για τα δύο προϊόντα, χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου μέσω του Simulx, μία συνάρτηση R του πακέτου mlxR, στο οποίο μπορούν να εισαχθούν μοντέλα από το Monolix. Οι δείκτες υπολογίστηκαν και με την κλασική μη διαμερισματική ανάλυση. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση βιοϊσοδυναμίας για τα δύο σκευάσματα χρησιμοποιώντας τους υπολογισμένους δείκτες με μη διαμερισματική ανάλυση και τους δείκτες που βασίστηκαν στο μοντέλο. Και στις δύο περιπτώσεις αποδείχθηκε η βιοϊσοδυναμία των δύο σκευασμάτων. Οι μελέτες βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας δείκτες βασισμένους σε μοντέλα μελετώνται, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε περιπτώσεις που η μη διαμερισματική ανάλυση αποτυγχάνει, όπως στις μελέτες με αραιή δειγματοληψία και σε μελέτες που εμπεριέχουν ηθικούς φραγμούς. Επομένως, πραγματοποιώντας τη βιοϊσοδυναμία αναπτύσσοντας πρώτα το φαρμακοκινητικό μοντέλο αποκτάται πλούσια πληροφορία αναφορικά με το σύστημα φάρμακο – οργανισμός.

## SUMMARY

Parkinson's disease is the second most common, chronic, progressive brain disease after Alzheimer's. The disease is mainly due to the degeneration of dopamine-producing brain cells and ultimately to its lack in the brain. Ropinirole is a non-ergoline dopamine antagonist and is one of the methods to fight the symptoms of Parkinson's disease. In particular, it stimulates dopaminergic receptors and mimics the action of dopamine in the brain. It is used either as a single treatment or in combination with other drugs.

In this study, experimental data on the concentration of ropinirole in the blood over time were used. Thirty healthy volunteers (men and women, aged 19 - 44y, BMI = 19.4 - 29.8 kg/m<sup>2</sup>) who participated in a 2 × 2 bioequivalence crossover study received orally by simple administration both the original and the potentially generic 2 mg ropinirole prolonged-release tablet, in conditions of fasting. The population pharmacokinetic model was developed for each of the two formulations, to provide information on the pharmacokinetics of ropinirole and to analyze their model-based bioequivalence.

The population pharmacokinetic model for both formulations was developed with nonlinear mixed effects modeling using the Monolix computer program. The models were selected based on diagnostic charts, such as observation value charts (Observation, OBS) as a function of Individual Predicted (IPRED) values, information criteria (AIC, BIC) and statistical criteria (likelihood ratio test).

For the prototype product, the pharmacokinetic model is an one-compartment dual-peak absorption model, the first and the second peak follow first-order kinetics with lag time delay, the removal from the body is linear. The multiplier was selected as the error model. The between subject variability of all parameters was estimated. Age had a significant effect on the dose fraction absorbed by the first absorption (F1) and added as a covariate to it. The same structural model presented the potentially generic product with a multiplier error model. The between subject variability was calculated for all parameters. In the product under study, age has a significant effect on both the fraction of the drug absorbed by the first absorption and the clearance (Cl) and was added as a covariate of these two parameters.

The bioequivalence indices (AUC, C<sub>max</sub>) for both products were calculated using the results of the model via Simulx, an R function of the mlxR package, in which pharmacokinetic models from Monolix can be inserted. The indices were also calculated with the classical non-compartmental analysis. Bioequivalence analysis was performed using the calculated indices from non-compartmental analysis and the indices based on the model. In both cases the bioequivalence of the two formulations was proved. Bioequivalence studies using model-based indicators are studied so that they can be used in cases where non-compartmental analysis fails, such as in studies with sparse data and in studies involving ethical barriers. In addition, by first developing the pharmacokinetic model, rich information is obtained regarding the drug-organism system.



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	1
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	5
SUMMARY .....	6
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ .....	7
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ.....	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	12
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	13
1.1 Πάρκινσον.....	13
1.2 Ροπινιρόλη.....	15
1.2.1 Φαρμακοκινητική της ροπινιρόλης .....	17
1.2.2 Ανεπιθύμητες ενέργειες και αλληλεπιδράσεις ροπινιρόλης.....	17
1.3 Φαρμακοκινητική Και Φαρμακοδυναμική.....	18
1.4 Ανάλυση Φαρμακοκινητικών Δεδομένων .....	19
1.4.1 Μη διαμερισματική ανάλυση.....	19
1.4.2 Διαμερισματική ανάλυση .....	21
1.5 Ανάπτυξη Φαρμακοκινητικού Μοντέλου .....	23
1.5.1 Επιλογή πιθανού φαρμακοκινητικού μοντέλου .....	23
1.5.2 Προσαρμογή του μοντέλου .....	25
1.5.3 Σύγκριση μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων και μεγίστης πιθανοφάνειας .....	27
1.5.4 Αβεβαιότητα των παραμέτρων.....	28
1.5.5 Έλεγχος και επικύρωση μοντέλου .....	29
1.6 Πληθυσμιακή Φαρμακοκινητική .....	32
1.6.1 Παραμετρική πληθυσμιακή φαρμακοκινητική.....	33
1.6.2 Μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων .....	34
1.7 Βιοϊσοδυναμία.....	37
1.7.1 Υπολογισμός Δεικτών Βιοϊσοδυναμίας.....	37
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	39
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	40
3.1 Σχεδιασμός της Μελέτης.....	40
3.2 Δειγματοληψία.....	41
3.3 Αναλυτική Μέθοδος Ποσοτικοποίησης.....	41
3.4 Υπολογιστικά Προγράμματα.....	41
3.5 Καταγραφή Δεδομένων .....	42
3.6 Ανάπτυξη Φαρμακοκινητικού Μοντέλου .....	43
3.6.1 Επιλογή δομικού φαρμακοκινητικού μοντέλου .....	43
3.6.2 Επιλογή μοντέλου σφάλματος.....	43
3.6.3 Επιλογή συσχετίσεων και συμμεταβλητών .....	44

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ  
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

---

3.6.4	Αξιολόγηση και επικύρωση μοντέλου .....	45
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	46
4.1	Καταγραφή Δεδομένων.....	46
4.1.1	Ανάλυση Δεδομένων Πρωτοτύπου .....	48
4.1.2	Ανάλυση Δεδομένων Υπό Εξέταση Προϊόντος.....	52
4.2	Ανάπτυξη Πληθυσμιακού Φαρμακοκινητικού Μοντέλου .....	54
4.2.1	Ανάπτυξη μοντέλου πρωτοτύπου.....	54
4.2.2	Ανάπτυξη μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος .....	62
4.3	Απόδειξη Βιοϊσοδυναμίας .....	71
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	76
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	78

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Όνομασία	Συντομογραφία
Φαρμακοκινητική	ΦΚ
Φαρμακοδυναμική	ΦΔ
Φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος (Narrow Therapeutic Index Drugs)	NTIDs
Area Under the Curve	AUC
Ρυθμός απομάκρυνσης	$\lambda_z$
Food and Drug Administration	FDA
Μη διαμερισματική ανάλυση (Non Compartmental Analysis)	NCA
Πληθυσμιακή φαρμακοκινητική (population pharmacokinetics)	popPK
Μέγιστη συγκέντρωση	$C_{max}$
Χρονική στιγμή εμφάνισής της μέγιστης συγκέντρωσης	$T_{max}$
Objective Function Value	OFV
Λογάριθμος της πιθανοφάνειας log-likelihood, ln(L)	LL
Συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation)	CV
Standard Error	SE
Συντελεστής προσδιορισμού	$R^2$
Akaike Information Criterion	AIC
Bayesian Information Criterion	BIC
Τεστ των λόγων πιθανοφάνειας (Likelihood Ratio Test)	LRT, $\lambda$
Visual Predictive Check	VPC
Μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων (Nonlinear Mixed Effect Models)	NLMEM
Διατομική μεταβλητότητα (Between Subject Variability)	BSV
Ενδοατομική μεταβλητότητα (Within Subject Variability)	WSV
Πρωτότυπο προϊόν (Reference)	R
Υπό μελέτη προϊόν (Test)	T
Βιοϊσοδυναμία (Bioequivalence)	BE
Παγκόσμιο Οργανισμό Φαρμάκων (World Health Organization)	WHO

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1: Δημογραφικά στοιχεία συνεχών μεταβλητών εθελοντών.....	47
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2: Δημογραφικά στοιχεία κατηγορικών μεταβλητών εθελοντών.....	47
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3: Τιμές $ka_2$ μέσω bootstrap για το R_model3.....	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4: Τιμές κριτηρίων για τα μοντέλα του πρωτοτύπου.....	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.5: Αποτελέσματα bootstrap για τα μοντέλα R_model2 και R_model4.....	58
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.6: Αποτελέσματα Monolix για τα μοντέλα R_model2 και R_model4.....	59
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.7: Τιμές του συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος R_model1.....	59
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.8: Μείωση της μεταβλητότητας του F1 μετά την προσθήκη της ηλικίας ως συμμεταβλητή.....	60
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.9: Εισαγωγή συμμεταβλητών στο μοντέλο του πρωτοτύπου.....	61
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.10: Αποτελέσματα τελικού μοντέλου πρωτοτύπου.....	62
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.11: Τιμές κριτηρίων για τα μοντέλα του υπό μελέτη προϊόντος.....	64
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.12: Σύγκριση αποτελεσμάτων bootstrap για τα T_model2 και T_model3.....	66
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.13: Σύγκριση αποτελεσμάτων Monolix για τα T_model2 και T_model3.....	66
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.14: Τιμές του συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος T_model1.....	67
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.15: Wald test προσθήκη περιόδου ως συμμεταβλητή στο Tlag1.....	68
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.16: Εισαγωγή συμμεταβλητών στο μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.....	68
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.17: Αποτελέσματα τελικού μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος.....	70
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.18: Δείκτες βιοϊσοδυναμίας για τα T και R υπολογισμένοι με NCA.....	71
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.19: Απόδειξη βιοϊσοδυναμίας των T και R χρησιμοποιώντας την NCA.....	72
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.20: Δείκτες βιοϊσοδυναμίας για τα T και R υπολογισμένοι με βάση το ΦΚ μοντέλο.....	73
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.21: Απόδειξη βιοϊσοδυναμίας T και R με βάση το ΦΚ μοντέλο.....	75

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1.1: Σύγκριση έκκρισης ντοπαμίνης υγιούς ατόμου και ασθενούς που πάσχει από τη νόσο Πάρκινσον (Πηγή: <a href="http://www.parkinsonassociation.org">www.parkinsonassociation.org</a> ).....	14
ΕΙΚΟΝΑ 1.2: Χημική δομή της ροπινιρόλης (Πηγή: <a href="http://www.galinos.gr">www.galinos.gr</a> ).....	16
ΕΙΚΟΝΑ 1.3: Σχηματική απεικόνιση φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής.....	19
ΕΙΚΟΝΑ 1.4: Σύγκριση μη διαμερισματικού μοντέλου και διαμερισματικού μοντέλου δύο διαμερισμάτων.....	22
ΕΙΚΟΝΑ 1.5: Γραφική απεικόνιση των μοντέλων σφάλματος (Δοκουμετζίδης, 2020).....	25
ΕΙΚΟΝΑ 1.6: Μέθοδος μέγιστης πιθανοφάνειας (Δοκουμετζίδης, 2020).....	28
ΕΙΚΟΝΑ 1.7: Χρονοσειρές δεδομένων συγκέντρωσης – χρόνου για κάθε άτομο.....	33
ΕΙΚΟΝΑ 4.1: Καταγραφή δεδομένων πρωτοτύπου.....	46
ΕΙΚΟΝΑ 4.2: Επιφάνεια εργασίας Monolix με σκοπό την επιλογή στατιστικού μοντέλου.....	54

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.1: Συγκέντρωση ροπινιρόλης στο πλάσμα συναρτήσει του χρόνου μετά από τη χορήγηση ενός δισκίου 8 mg και τεσσάρων δισκίων 2 mg 24 h – παρατεταμένης αποδέσμευσης (Tompson & Vearer, 2007).....	16
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.2: (α)-(β) Διαγράμματα υπολοίπων συναρτήσει των προβλεπόμενων τιμών. (α) Μοντέλο στο οποίο υπάρχει μία συστηματική τάση. (β) Τυχαία κατανομή των υπολοίπων γύρω από την ευθεία $y=0$ . (γ) – (δ) Διαγράμματα προβλεπόμενων συναρτήσει παρατηρούμενων τιμών. (γ) Ελλιπής καθορισμός του μοντέλου – ύπαρξη τάσης. (δ) Επαρκές μοντέλο. (Bonate, 2011).....	29
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.3: Απεικόνιση επιπέδων μεταβλητότητας (Πηγή: Δοκουμετζίδης, 2020).....	35
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.1: (α) Απεικόνιση των δεδομένων C-t του R. (β)-(γ) Εμφάνιση διπλής κορυφής απορρόφησης σε εθελοντές 20 και 26 που έλαβαν το R. (δ) Απουσία διπλής κορυφής απορρόφησης σε εθελοντή 14 που έλαβε το R.....	49
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.2: (α) Απεικόνιση των δεδομένων $\log C-t$ του R. (β) Απεικόνιση των δεδομένων $\log C-t$ για τον εθελοντή 8. (γ) Απεικόνιση των δεδομένων $\log C-t$ για τον εθελοντή 28.....	50
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.3: Δεδομένα C-t του R διαχωρισμένα με βάση το φύλο και τη μέση ηλικία των εθελοντών.....	51
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.4: (α) Απεικόνιση των δεδομένων C – t του T. (β) Έμφαση στα δεδομένα C – t για τον εθελοντή 30. (γ) Έμφαση στα δεδομένα C – t για τον εθελοντή 16.....	52
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.5: (α) Απεικόνιση των δεδομένων $\log C – t$ του T. (β) Δεδομένα $\log C – t$ για τον εθελοντή 21. (γ) δεδομένα $\log C – t$ για τον εθελοντή 18.....	53
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.6: OBS - IPRED για το R_model1.....	55
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.7: OBS - PRED για το R_model2.....	56
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.8: VPC για το R_model2.....	56
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.9: (α) OBS - IPRED για το R_model 4. (β) Διάγραμμα C-t για τον εθελοντή 12 με βάση το μοντέλο R_model4.....	58
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.10: Random effects F1 – $\log t_{AGE}$ πριν και μετά την εισαγωγή της συµµεταβλητής....	60
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.11: VPC για το τελικό μοντέλο του πρωτοτύπου.....	61
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.12: . Διάγραμμα μεμονωμένων σταθμισμένων υπολοίπων (IWRES) σε σχέση με τις τιμές των προβλεπόμενων ατομικών συγκεντρώσεων (IPRED) για το τελικό μοντέλο του πρωτοτύπου σκευάσματος ροπινιρόλης.....	61
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.13: OBS - PRED για το T_model1.....	63
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.14: OBS - PRED για το T_model2.....	63
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.15: VPC για το T_model2.....	64
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.16: OBS - PRED για το T_model3.....	65
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.17: VPC για το T_model3.....	65
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.18: T_model2a random effects (a - β) F1 – $\log t_{age}$ (γ - δ) CI - $\log t_{age}$ πριν και μετά την εισαγωγή της συµµεταβλητής.....	67-68
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.19: VPC για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.....	69
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.20: OBS – IPRED για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.....	69
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.21: Διάγραμμα μεμονωμένων σταθμισμένων υπολοίπων (IWRES) σε σχέση με τις τιμές των προβλεπόμενων ατομικών συγκεντρώσεων (IPRED) για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη σκευάσματος ροπινιρόλης.....	70
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.22: Προφίλ C – t μετά τη χορήγηση των T (Treat=1) και R (Treat=2) στους εθελοντές.....	71
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.23: Τιμές C <sub>max</sub> (ng/L) για τα T και R υπολογισμένες με NCA και popPK. Τα error bars συμβολίζουν την τυπική απόκλιση για την NCA και τα τυπικά σφάλματα για την popPK.....	74
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.24: Τιμές AUC (h*ng/L) για τα T και R υπολογισμένες με NCA και popPK. Τα error bars συμβολίζουν την τυπική απόκλιση για την NCA και τα τυπικά σφάλματα για την popPK.....	75

## 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

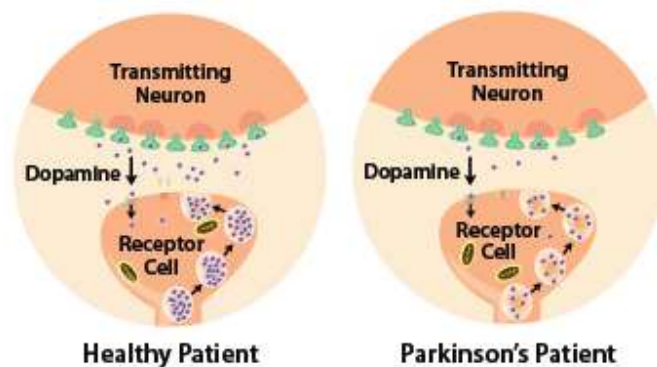
### 1.1 ΠΑΡΚΙΝΣΟΝ

Το σύνδρομο του Πάρκινσον χαρακτηρίζεται από τρόμο, ακαμψία, ακινησία ή βραδυκινησία, απώλεια ορθοστατικών αντανακλαστικών που σχετίζονται με τη μειωμένη δραστηριότητα ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. Η νόσος Πάρκινσον πήρε το όνομα της από τον Άγγλο γιατρό James Parkinson που δημοσίευσε την πρώτη περιγραφή της νόσου το 1817. Χωρίζεται σε τρεις κατηγορίες (Jankovic, 2008; Sweetman, 2014):

- Πρωτοπαθής (ιδιοπαθής) παρκινσονισμός, που αναφέρεται ως Νόσος του Πάρκινσον (Parkinson Disease, PD).
- Δευτερογενής (επίκτητος) παρκινσονισμός, συμπεριλαμβανομένου του μετα-εγκεφαλικού παρκινσονισμού, του παρκινσονισμού που προκαλείται από τα ναρκωτικά και συμπτώματα που σχετίζονται με δηλητηρίαση από μαγγάνιο.
- Πάρκινσον-plus, όπου ο παρκινσονισμός είναι χαρακτηριστικό άλλων εκφυλιστικών ασθενειών του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως η προοδευτική πυρηνική παράλυση.

Η νόσος του Πάρκινσον είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική διαταραχή, που σχετίζεται με τη δυσλειτουργία ή απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων στην περιοχή του εγκεφάλου που ονομάζεται μέλαινα ουσία, την έλλειψη ντοπαμίνης και το σχηματισμό παθολογικών σωματιδίων-πρωτεϊνών, των Lewy Bodies, στους νευρώνες. Η εκφύλιση των νευρώνων της μέλαινας, μέσω της οποία χορηγούνται νευρικές ίνες προς το ραβδωτό σώμα, έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της απελευθέρωσης της νευροδιαβιβαστικής ουσίας ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα. Με αυτόν τον τρόπο προκαλείται ευαισθησία στους υποδοχείς ντοπαμίνης στους μετασυναπτικούς νευρώνες του ραβδωτού σώματος. Η μέλαινα ουσία και το ραβδωτό σώμα αποτελούν τμήματα των γαγγλίων που αφορούν στην κίνηση (Snell, 2008).

Όπως αναφέρθηκε, η μέλαινα είναι πηγή ντοπαμινεργικών νευρώνων που φτάνουν στο νεοραβδωτό σώμα. Κάθε ντοπαμινεργικός νευρώνας έχει χιλιάδες επισυναπτικές επαφές που ρυθμίζουν τη δραστηριότητα ενός μεγάλου αριθμού κυττάρων. Η μέλαινα ουσία και το ραβδωτό σώμα συνδέονται μέσω νευρώνων, οι οποίοι εκκρίνουν τον ανασταλτικό νευροδιαβιβαστή γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA). Έπειτα, οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες εκκρίνουν τον ανασταλτικό νευροδιαβιβαστή ντοπαμίνη. Με αυτόν τον τρόπο αμοιβαίας αναστολής και των δύο περιοχών επιτυγχάνεται φυσιολογικό μέτρο αναστολής και των δύο περιοχών. Στους ασθενείς με νόσο Πάρκινσον, η αναστολή αυτή δεν είναι αμοιβαία. Μειώνεται σημαντικά η ανασταλτική επίδραση της ντοπαμίνης επί των χολινεργικών νευρώνων, με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή ακετυλοχολίνης. Ακολουθούν αλυσιδωτές αντιδράσεις ανώμαλης σηματοδότησης που έχουν ως αποτέλεσμα την ανικανότητα ελέγχου των κινήσεων των μυών (Bonnet & Houeto, 1999).



ΕΙΚΟΝΑ 1.1: Σύγκριση έκκρισης ντοπαμίνης υγιούς ατόμου και ασθενούς που πάσχει από τη νόσο Πάρκινσον (Πηγή: [www.parkinsonassociation.org](http://www.parkinsonassociation.org)).

Το Πάρκινσον αποτελεί μια ιδιοπαθή νόσο του νευρικού συστήματος, που χαρακτηρίζεται από κινητικές και μη κινητικές εκδηλώσεις. Τα κινητικά συμπτώματα ονομάζονται παρκινσονισμός με πιο χαρακτηριστικό τον τρόπο κατά την ανάπαυση, ο οποίος εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια του ύπνου. Στα πρώτα στάδια της νόσου εμφανίζονται κινητικά συμπτώματα, ενώ στη συνέχεια μπορούν να εμφανιστούν και ψυχιατρικές εκδηλώσεις, όπως η άνοια και η κατάθλιψη (Snell, 2008).

Τα αίτια της Νόσου του Πάρκινσον δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Πιθανότατα οι περιβαλλοντικοί και οι γενετικοί παράγοντες οδηγούν σε νευρωνική απώλεια που σχετίζεται και με την ηλικία. Δεν υπάρχει θεραπεία για τη νόσο. Υπάρχει η δυνατότητα χρήσης φαρμακευτικής θεραπείας με σκοπό την επιβράδυνση του νευροεκφυλισμού, ωστόσο κανένα φάρμακο δεν έχει νευροπροστατευτική δράση (Sweetman, 2014).

Για τη διάγνωση του Πάρκινσον λαμβάνεται το ιστορικό του ασθενούς και πραγματοποιείται νευρολογική εξέταση. Ελέγχεται αν το άτομο εμφανίζει ένα ή περισσότερα από τα χαρακτηριστικά της νόσου, συμπεριλαμβανομένου του τρόμου, της βραδυκινήσιας, της ακαμψίας. Δεν υπάρχει ειδική εξέταση για τη διάγνωση της νόσου, πραγματοποιούνται εξετάσεις σάρωσης του εγκεφάλου, οι οποίες εντοπίζουν διαταραχές και συγκρίνονται με τα εμφανή συμπτώματα (Savitt et al., 2006).

Η ντοπαμίνη είναι ο κύριος νευροδιαβιβαστής του κεντρικού νευρικού συστήματος και αναστέλλει την απελευθέρωση της προλακτίνης από την υπόφυση που συνδέεται με την υπερπρολακτιναιμία. Επομένως, φαρμακευτικές ουσίες που αναπληρώνουν την κεντρική ντοπαμίνη ή δρουν ως διεγερτικά υποδοχέων ντοπαμίνης (ανταγωνιστές ντοπαμίνης) ανακουφίζουν τα συμπτώματα του Πάρκινσον, της υπερπρολακτιναιμίας και άλλων σχετικών ασθενειών.

Υπάρχουν πέντε τύποι υποδοχέων ντοπαμίνης. Ο υποδοχέας D1 διεγείρει τη δραστηριότητα της αδενυλικής κυκλάσης, ο D2 ενεργοποιεί διάφορα συστήματα και αναστέλλει τη δραστηριότητα της αδενυλικής κυκλάσης. Οι D3 και D4 μοιάζουν με τον υποδοχέα D2 και δημιουργούν το D2-like γκρουπ, ενώ ο D5 μοιάζει με τον D1 και δημιουργούν το D1-like γκρουπ. Ο υποδοχέας D2 φαίνεται να συνδέεται με το Πάρκινσον και τη σχιζοφρένεια (Missale et al., 1998; Sweetman, 2014).

Τα αντιπαρκινσονικά φάρμακα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα ντοπαμινεργικά, που ενισχύουν τη δράση της ντοπαμίνης και τα αντιμουσκαρινικά, για τη μείωση των υπερβολικών χολινεργικών επιδράσεων. Τα ντοπαμινεργικά φάρμακα, με πιο γνωστό τη λεβοντόπα, δρουν είτε αντικαθιστώντας απευθείας την ντοπαμίνη, είτε καθυστερώντας τον μεταβολισμό των ενδογενών ντοπαμινοειδών, ενισχύοντας την απελευθέρωση της ενδογενούς ντοπαμίνης ή διεγείροντας τους υποδοχείς ντοπαμίνης (Sweetman, 2014). Τα αντιμουσκαρινικά δεν είναι τόσο αποτελεσματικά όσο η λεβοντόπα και έχουν βοηθητικό ρόλο στη θεραπεία. Έχουν ως αποτέλεσμα αποκλεισμό της χολινεργικής μετάδοσης, αποτέλεσμα παρόμοιο με αυτό της αύξησης της ντοπαμινεργικής μετάδοσης. Με αυτόν τον τρόπο εξισορροπείται η αναλογία ντοπαμίνης/ακετυλοχολίνης.



Η λεβοντόπα είναι ένα φάρμακο που αυτή τη στιγμή προσφέρει την πιο αποτελεσματική θεραπεία κατά της νόσου του Πάρκινσον. Αποκαθιστά την ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση στο ραβδωτό σώμα, ενισχύει τη σύνθεση ντοπαμίνης στους εναπομείναντες νευρώνες της μέλαινας ουσίας. Η λεβοντόπα είναι πρόδρομη ουσία της ντοπαμίνης, η οποία μεταφέρεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και μετατρέπεται σε ντοπαμίνη. Ωστόσο, έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία να συνεισφέρει στον κυτταρικό θάνατο, χωρίς να υπάρχουν ασφαλή συμπεράσματα .

Οι ντοπαμινεργικοί ανταγωνιστές όπως η πραμιπεξόλη, η ροπινιρόλη, η βρωμοκρυπτίνη, η ροτιγοτίνη διεγείρουν άμεσα τους υπολειπόμενους μετασυναπτικούς υποδοχείς ντοπαμίνης (Contin et al., 2019). Η χρήση τους αυξάνεται, καθώς χρησιμοποιούνται για την έγκαιρη θεραπεία νεότερων ασθενών, ώστε να καθυστερήσει η θεραπεία με λεβοντόπα. Στη συνέχεια αναλύεται το φάρμακο της ροπινιρόλης, καθώς είναι αυτό που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία.

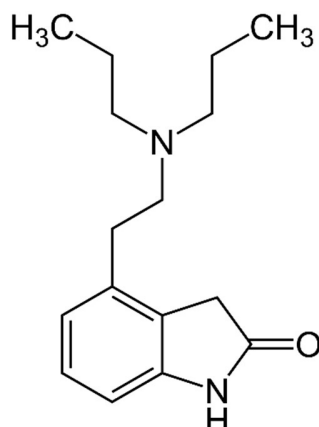
## 1.2 ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗ

Η ροπινιρόλη (ropinirole) είναι ένας μη εργολινικός D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> ανταγωνιστής της ντοπαμίνης ο οποίος διεγείρει τους ντοπαμινικούς υποδοχείς του ραβδωτού σώματος και μιμείται τη δράση της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. Ραβδωτό σώμα ονομάζεται το κέλυφος και ο κερκοφόρος πυρήνας του εγκεφάλου. Η ροπινιρόλη βελτιώνει την ανεπαρκή έκκριση ντοπαμίνης που χαρακτηρίζει τη νόσο του Πάρκινσον. Χρησιμοποιείται επίσης και σε διαταραχές που περιλαμβάνουν ντοπαμινεργική δυσλειτουργία, όπως το σύνδρομο των ανήσυχων άκρων (Restless Legs Syndrome, RLS) (Kvernmo et al., 2006; Sadashivaiah et al., 2020).

Χορηγείται από το στόμα (per os) με τη μορφή της υδροχλωρικής ροπινιρόλης (ropinirole hydrochloride), 1.14 mg υδροχλωρικής ροπινιρόλης ισοδυναμεί με 1 mg ροπινιρόλης. Είναι αποτελεσματική είτε ως αποκλειστική θεραπεία, είτε συνδυαστικά με τη λεβοντόπα (ώστε να μειωθεί η χορηγούμενη συγκέντρωσή της ή όταν η δράση της εξασθενεί ή όταν εμφανίζονται διακυμάνσεις στο τελικό αποτέλεσμα), καθώς τα δύο φάρμακα δεν αντιδρούν μεταξύ τους (Hubble et al., 2000). Η ροπινιρόλη για τους ασθενείς με Πάρκινσον χορηγείται καθημερινά συνήθως σε τρεις δόσεις, ενδεχομένως με φαγητό. Η αρχική δόση είναι 750 mg και αυξάνεται κατά 750 mg για τις τέσσερις πρώτες εβδομάδες. Η ημερήσια δόση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 24 mg (Sweetman, 2014; Tompson & Veager, 2007). Όσον αφορά τη δοσολογία στο RLS, χορηγείται μία φορά τη μέρα, 1 – 3 h πριν τον ύπνο, με αρχική δόση 250 mg, η οποία αυξάνεται και δεν μπορεί να ξεπεράσει τα 4 mg ημερησίως.

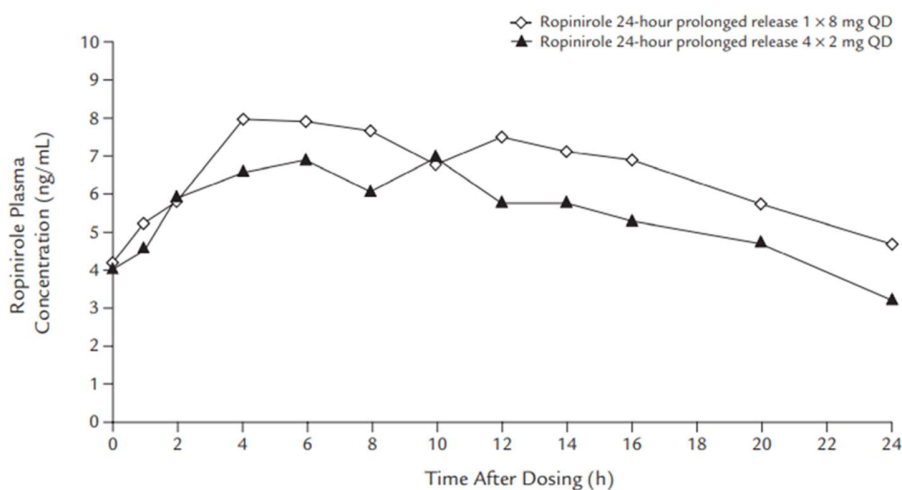
Όπως αναφέρθηκε, η χορήγηση της ροπινιρόλης επαναλαμβάνεται για πάνω από μία φορές τη μέρα σε ασθενείς με Πάρκινσον, καθώς ο χρόνος ημίσειας ζωής της ροπινιρόλης σε δισκία άμεσης αποδέσμευσης είναι περίπου 6 h. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα διακυμάνσεις στη συγκέντρωση του φαρμάκου στον οργανισμό κατά τη διάρκεια της ημέρας (Tompson & Veager, 2007). Στην αγορά, από το 2008 με έγκριση του FDA, κυκλοφορούν και δισκία ροπινιρόλης παρατεταμένης αποδέσμευσης με σκοπό τη μείωση των ημερήσιων δόσεων και τη σταθερή συγκέντρωση του φαρμάκου στον οργανισμό, ώστε ο ασθενής να έχει μια βελτιωμένη καθημερινότητα. Επιπλέον, αυξάνεται η συμμόρφωση του ασθενούς στη θεραπεία συγκριτικά με την υποχρεωτική λήψη φαρμακευτικής αγωγής 2 – 3 φορές ημερησίως. Συγκεκριμένα, διατίθεται δισκία άμεσης αποδέσμευσης των 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mg υδροχλωρικής ροπινιρόλης/δισκίο και δισκία παρατεταμένης αποδέσμευσης των 2, 3, 4, 8, 12 mg υδροχλωρικής ροπινιρόλης/δισκίο (Nashatizadeh et al., 2009).

Τα δισκία ροπινιρόλης παρατεταμένης αποδέσμευσης έχουν σχεδιαστεί ως δισκία τριών στρωμάτων, με την εσωτερική στρώση να περιέχει ροπινιρόλη και τις δύο εξωτερικές στρώσεις εικονικό φάρμακο και βοηθούν στον έλεγχο της ποσότητας της επιφάνειας που διατίθεται για απελευθέρωση φαρμάκου (Nashatizadeh et al., 2009). Η κατάσταση σταθερής συγκέντρωσης στον οργανισμό επέρχεται μετά από περίπου 4 ημέρες χρήσης.



ΕΙΚΟΝΑ 1.2: Χημική δομή της ροπινιρόλης (Πηγή: [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)).

Σε μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί για τα πρωτότυπα φάρμακα ροπινιρόλης της GlaxoSmithKline (Tompson & Vearer, 2007) με σκοπό τη σύγκριση των δισκίων άμεσης αποδέσμευσης με αυτά των 24 h – παρατεταμένης αποδέσμευσης, έχει βρεθεί η συστηματική έκθεση να είναι παρόμοια, επομένως οι ασθενείς μπορούν να εναλλάξουν τις θεραπείες τους έχοντας το ίδιο αποτέλεσμα. Οι ασθενείς που λαμβάνουν πολλαπλά δισκία χαμηλών δόσεων (4 δισκία 2 mg/tablet) μπορούν να λάβουν ένα δισκίο υψηλότερης δόσης (1 δισκίο 8 mg/tablet), χωρίς να έχουν διαφορά στο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Στο διάγραμμα παρουσιάζεται η ισοδυναμία των δύο θεραπευτικών αγωγών. Επιπλέον, οι ΦΚ παράμετροι εμφανίζουν αναλογία δόσης για ένα εύρος δόσης 2 – 8 mg.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.1: Συγκέντρωση ροπινιρόλης στο πλάσμα συναρτήσεως του χρόνου μετά από τη χορήγηση ενός δισκίου 8 mg και τεσσάρων δισκίων 2 mg 24 h – παρατεταμένης αποδέσμευσης (Tompson & Vearer, 2007).

### 1.2.1 Φαρμακοκινητική της ροπινιρόλης

Η ροπινιρόλη σε δισκίο άμεσης αποδέσμευσης απορροφάται γρήγορα από το γαστρεντερικό σωλήνα και η μέγιστη συγκέντρωση παρουσιάζεται 1.5 h μετά την από του στόματος χορήγηση. Ωστόσο, μετά τη χορήγηση ροπινιρόλης σε δισκίο παρατεταμένης αποδέσμευσης παρατηρείται μέγιστη συγκέντρωση περίπου 6 h μετά τη χορήγηση (Tompson & Veager, 2007). Ο ρυθμός απορρόφησης της, αλλά όχι η έκταση, μπορεί να μειωθεί αν χορηγηθεί με φαγητό. Η απορρόφηση μπορεί να καθυστερήσει περίπου 2 h μετά τη χορήγηση με γεύμα υψηλών λιπαρών, συγκριτικά με τη χορήγηση σε κατάσταση νηστείας. Κατανέμεται σε όλο το σώμα και η σύνδεση πλάσματος πρωτεΐνης είναι χαμηλή (10 – 40%) (Sweetman, 2014). Η βιοδιαθεσιμότητά της ροπινιρόλης σε δισκίο άμεσης αποδέσμευσης είναι 50%, καθώς υφίσταται εκτεταμένο μεταβολισμό πρώτης διόδου, δηλαδή μια σημαντική ποσότητα της ροπινιρόλης εξουδετερώνεται από ένζυμα του στομάχου, βακτηρίδια και ένζυμα του εντέρου και ηπατικά κύτταρα (Sadashivaiah et al., 2020), ωστόσο σε δισκία παρατεταμένης αποδέσμευσης είναι σχεδόν 100%. Ανήκει στο Biopharmaceutics Classification System (BCS) III, καθώς χαρακτηρίζεται από υψηλή διαλυτότητα και χαμηλή διαπερατότητα.

Μεταβολίζεται κυρίως από το συκώτι, από το ισοένζυμο CYP1A2 του κυτοχρώματος P450 και συνεισφέρει σε μικρό ποσοστό το CYP3A4. Απομακρύνεται από τα ούρα ως μη ενεργός μεταβολίτης και λιγότερο του 10% έχει βρεθεί να απομακρύνεται ως μη αλλαγμένο φάρμακο. Ο μέσος χρόνος ημίσειας ζωής της ροπινιρόλης είναι περίπου 5 – 6 h (Kvernmo et al., 2006; Sweetman, 2014). Μετά τη χορήγηση πολλαπλών δόσεων ροπινιρόλης σε ασθενείς με Πάρκινσον αποδείχθηκε ότι παρουσιάζει γραμμική φαρμακοκινητική συμπεριφορά (Hubble et al., 2000).

### 1.2.2 Ανεπιθύμητες ενέργειες και αλληλεπιδράσεις ροπινιρόλης

Ανεπιθύμητες ενέργειες υπερευαισθησίας όπως κνησμός, εμφάνιση εξανθημάτων, αγγειοοιδήματα έχουν παρατηρηθεί σε θεραπείες με ροπινιρόλη. Τα προϊόντα με άδεια χρήσης αναφέρουν ότι η φαρμακοκινητική της δεν έχει μελετηθεί σε ασθενείς με ηπατική ή σοβαρή νεφρική δυσλειτουργία και έτσι θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή ή καθόλου σε αυτούς τους ασθενείς. Ωστόσο, δεν έχει παρατηρηθεί αλλαγή της φαρμακοκινητικής σε ασθενείς με μέτρια ή ήπια νεφρική δυσλειτουργία (Sweetman, 2014).

Γενικά, οι ασθενείς που λαμβάνουν ανταγωνιστές ντοπαμίνης έχουν αναφέρει την εκδήλωση υπνηλίας κατά τη διάρκεια της ημέρας. Επιπλέον, γίνεται αναφορά σε διαταραγμένη συμπεριφορά, όπως ο υπερβολικός τζόγος, σε ασθενείς με Πάρκινσον που λαμβάνουν ανταγωνιστές ντοπαμίνης ως θεραπευτική αγωγή. Ακόμα, η ροπινιρόλη έχει επισημανθεί ως πιθανώς πορφυρινογόνο και θα πρέπει να χορηγείται όταν δεν υπάρχει ασφαλέστερη διαθέσιμη εναλλακτική και με ιδιαίτερες προφυλάξεις σε ευάλωτους ασθενείς.

Σε έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί (Kvernmo et al., 2006) βρέθηκε η κάθαρση της ροπινιρόλης να είναι μειωμένη κατά 33%, δηλαδή παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης στο πλάσμα, σε γυναίκες ασθενείς με Πάρκινσον που λαμβάνουν οιστρογόνα, συγκριτικά με γυναίκες ασθενείς Πάρκινσον που δε λαμβάνουν οιστρογόνα. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με το ότι τα οιστρογόνα έχουν ανασταλτική επίδραση στον μεταβολισμό της τακρίνης, ένα υπόστρωμα του CYP1A2. Ο μεταβολισμός της ροπινιρόλης από το CYP1A2 έχει ως αποτέλεσμα πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτής και άλλων φαρμάκων που μεταβολίζονται με τον ίδιο τρόπο ή με επαγωγείς ή αναστολείς αυτού του ενζύμου. Το κάπνισμα επάγει τον μεταβολισμό του CYP1A2 μειώνοντας τα επίπεδα  $C_{max}$ , επομένως ασθενείς που σταματούν ή ξεκινούν το κάπνισμα κατά τη διάρκεια της θεραπείας χρειάζεται να ρυθμίσουν εκ νέου τη δόση του προσλαμβάνουν (Πηγή: [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)).

Η ροπινιρόλη αντιδρά με πλήθος φαρμάκων όπως η σιπροφλοξασίνη, η παλιπεριδόνη, η ζιπρασιδόνη. Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε αρουραίους φαίνεται να κατανέμεται και στο μητρικό γάλα των αρουραίων, ωστόσο δεν είναι γνωστό αν μεταφέρεται και μέσω του ανθρώπινου γάλακτος.

### 1.3 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ

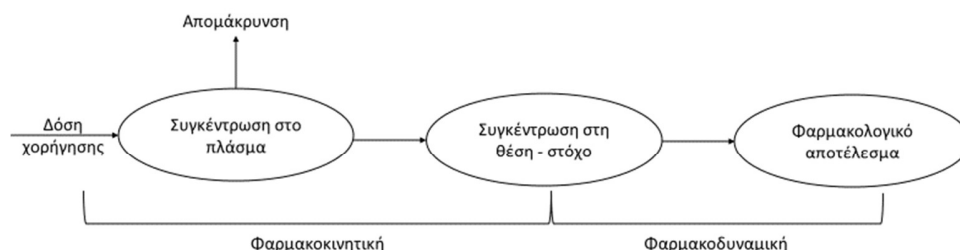
---

Η χορήγηση φαρμάκου σε έναν ασθενή έχει ως σκοπό την άσκηση της φαρμακολογικής του δράσης, ώστε να υπάρξει το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αρχικά, το φάρμακο απορροφάται στο σημείο χορήγησης, φτάνει στη γενική κυκλοφορία και κατανέμεται στους ιστούς όπου προσεγγίζει τη θέση – στόχο για τη δράση του. Έπειτα, μεταβολίζεται από το σώμα και απομακρύνεται από αυτό τόσο το ίδιο το φάρμακο όσο και οι μεταβολίτες του. Η απομάκρυνση πραγματοποιείται από τη στιγμή της χορήγησης. Η φαρμακοκινητική (ΦΚ) είναι η μελέτη των διεργασιών που ελέγχουν τα μόρια του φαρμάκου που φτάνουν στη θέση δράσης μέσω του πλάσματος (απορρόφηση, κατανομή) και την απομάκρυνσή τους από το σώμα (μεταβολισμός, απέκκριση) (McLeod & He, 2020). Ουσιαστικά, η ΦΚ περιγράφει την πορεία της συγκέντρωσης του φαρμάκου στον οργανισμό συναρτήσει του χρόνου, μετά τη χορήγηση μιας συγκεκριμένης δόσης.

Η σαφής κατανόηση της ΦΚ έχει καθοριστικό ρόλο στο να επιλεγούν οι δόσεις και τα διαστήματα δόσεων ώστε οι θέσεις – στόχοι να εκτεθούν για επαρκές χρονικό διάστημα σε κατάλληλες συγκεντρώσεις φαρμάκων. Η επιστήμη της ΦΚ βοηθά στον ορθό σχεδιασμό της θεραπευτικής αγωγής, καθώς η χορηγούμενη δόση πρέπει να διασφαλίζει το βέλτιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα εντός του θεραπευτικού παραθύρου (Dhillon & Gill, 2006; McLeod & He, 2020). Για να παρατηρηθεί, δηλαδή, το επιθυμητό φαρμακολογικό αποτέλεσμα τα επίπεδα του φαρμάκου θα πρέπει να βρίσκονται πάνω από το κατώτατο όριο συγκέντρωσης και κάτω από το ανώτερο επιτρεπτό όριο για την αποφυγή τοξικών δράσεων. Ιδίως για τα φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος (Narrow Therapeutic Index Drugs, NTIDs) απαιτείται παρακολούθηση των θεραπευτικών επιπέδων. Για την εύρεση του κατάλληλου δοσολογικού σχήματος (δόση και συχνότητα χορήγησης), απαραίτητη είναι η γνώση του χρόνου ημίσειας ζωής του φαρμάκου (half life), δηλαδή του χρόνου που απαιτείται ώστε να υποδιπλασιαστεί η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα. Ο χρόνος ημιζωής αποτελεί μία από τις σημαντικότερες φαρμακοκινητικές παραμέτρους.

Ως φαρμακοδυναμική (ΦΔ) ορίζεται η ποσοτικοποίηση του αποτελέσματος της δεδομένης συγκέντρωσης φαρμάκου στον οργανισμό. Η μελέτη γίνεται ποσοτικοποιώντας βιοδείκτες ή απευθείας κλινικούς δείκτες (για παράδειγμα διαστολική πίεση) συνήθως συναρτήσει του χρόνου ή άλλης φύσης δείκτες, όπως τα δεδομένα χρόνου που συνέβη ένα γεγονός (time to event data, ‘survival’ data) (Δοκουμετζίδης, 2020). Η γνώση της σχέσης μεταξύ της συγκέντρωσης του φαρμάκου και της φαρμακολογικής απόκρισης είναι εξαιρετικά σημαντική, αφού αλλαγή στη συγκέντρωση ή τη δόση δε συνεπάγεται πάντα ανάλογη αλλαγή στη δράση του φαρμάκου.

Σύμφωνα με τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων FDA (U.S Food and Drug Administration), η φαρμακομετρία είναι η επιστήμη που ποσοτικοποιεί τις πληροφορίες που αφορούν τα φάρμακα, τις ασθένειες, τις δοκιμές με σκοπό την αποτελεσματική ενίσχυση της ανάπτυξης νέων φαρμάκων ή/και κανονιστικών αποφάσεων (Πηγή: [www.fda.gov](http://www.fda.gov)). Η φαρμακοκινητική και η φαρμακοδυναμική αποτελούν τη βάση της σύγχρονης φαρμακοθεραπείας. Αξιολογούνται συνδυαστικά και παρέχουν πληροφορίες για την επίδραση του σώματός στο φάρμακο (ΦΚ) και του φαρμάκου στο σώμα (ΦΔ).



ΕΙΚΟΝΑ 1.3: Σχηματική απεικόνιση φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής.

## 1.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Για τη ΦΚ μελέτη ενός σκευάσματος χρησιμοποιούνται τα δεδομένα συγκέντρωσης – χρόνου του φαρμάκου σε βιολογικά υγρά, κυρίως στο αίμα. Ιδανικά, η συγκέντρωση του φαρμάκου θα πρέπει να μετρηθεί στη θέση – στόχο δράσης του φαρμάκου, ωστόσο η αδυναμία προσέγγισης του σημείου αυτού έχει ως αποτέλεσμα οι μετρήσεις να γίνονται σε βιολογικά υγρά. Σκοπός είναι ο υπολογισμός των ΦΚ παραμέτρων, οι οποίες συνοψίζουν το σύνολο των πληροφοριών που υπάρχουν στα δεδομένα. Υπάρχουν δύο τρόποι προσέγγισης για την κατανόηση της ΦΚ ενός φαρμάκου. Ο ένας τρόπος είναι η μη διαμερισματική ανάλυση (Non Compartmental Analysis, NCA) και ο άλλος τρόπος η διαμερισματική φαρμακοκινητική ανάλυση (Compartmental PK Analysis). Η μέθοδος που επιλέγεται εξαρτάται από το τι απαιτείται από την ανάλυση.

### 1.4.1 Μη διαμερισματική ανάλυση

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη μελέτη της ΦΚ ενός φαρμάκου είναι η μη διαμερισματική ανάλυση. Η NCA δεν απαιτεί την υπόθεση ενός συγκεκριμένου διαμερισματικού μοντέλου για το φάρμακο ή τους μεταβολίτες του. Η μόνη υπόθεση που γίνεται είναι η αρχή της γραμμικότητας, η οποία δηλώνει ότι η συνολική έκθεση του φαρμάκου είναι ανάλογη της δόσης.

Η μέθοδος αυτή παρέχει εκτιμήσεις για το ρυθμό απορρόφησης, υπολογίζοντας τη μέγιστη συγκέντρωση  $C_{max}$  και τη χρονική στιγμή εμφάνισής της  $T_{max}$ . Ακόμα, εκτιμάται ο φαινόμενος χρόνος ημιζωής από τη σχέση 1.1:

$$t_{1/2} = \frac{\log 2}{\lambda_z} \quad (1.1)$$

Ως  $\lambda_z$  συμβολίζεται ο τελικός ρυθμός απομάκρυνσης και υπολογίζεται με γραμμική παλινδρόμηση των λογαρίθμων της συγκέντρωσης σε σχέση με το χρόνο για τα τελευταία (συνήθως τρία) σημεία. Επιπλέον, υπολογίζει το εμβαδόν της περιοχής κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης – χρόνου (Area

Under the Curve, AUC), το οποίο είναι ενδεικτικό της έκτασης της απορρόφησης (Gabrielsson & Weiner, 2012 ; Balakrishnan, 2014).

Για τον υπολογισμό της  $AUC_0^{t_n}$  από τη χρονική στιγμή  $t = 0$  s έως την τελευταία χρονική στιγμή στην οποία λήφθηκε δείγμα  $t = t_n$  s εφαρμόζεται ο κανόνας των τραπεζίων ή ο κανόνας των τραπεζίων για τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις και ο κανόνας των λογαριθμικά τροποποιημένων τραπεζίων (“log – trapezoidal”) για τις μειούμενες συγκεντρώσεις. Σύμφωνα με τον κανόνα των τραπεζίων το εμβαδόν μεταξύ δύο σημείων  $(C_i, t_i), (C_{i+1}, t_{i+1})$  δίνεται από τον τύπο 1.2 (Gabrielsson & Weiner, 2012; Balakrishnan, 2014):

$$AUC_{t_i}^{t_{i+1}} = \Delta t \frac{(C_i + C_{i+1})}{2} \quad (1.2)$$

Το εμβαδόν μεταξύ δύο σημείων με τη μέθοδο log – trapezoidal δίνεται από τη σχέση 1.3:

$$AUC_{t_i}^{t_{i+1}} = \Delta t \frac{(C_{i+1} - C_i)}{\ln \left( \frac{C_{i+1}}{C_i} \right)} \quad (1.3)$$

Επομένως, το συνολικό εμβαδόν από τη χρονική στιγμή  $t=0$  s μέχρι την τελευταία μετρούμενη παρατήρηση ισούται με το άθροισμα όλων των τραπεζίων:

$$AUC_0^{t_n} = \sum_{i=0}^{i=n-1} AUC_i^{i+1} \quad (1.4)$$

Η AUC από την τελευταία μετρούμενη συγκέντρωση  $C_{last}$  ως το άπειρο επεκτείνεται υποθέτοντας γραμμική λογαριθμική μείωση της συγκέντρωσης στην τελική φάση, μέσω της εξίσωσης 1.5:

$$AUC_{last}^{\infty} = \frac{C_{last}}{\lambda_z} \quad (1.5)$$

Άρα, η ολική επιφάνεια κάτω από την καμπύλη C – t υπολογίζεται ως:

$$AUC_0^{\infty} = AUC_0^{last} + AUC_{last}^{\infty} \quad (1.6)$$

Συχνά, η NCA αναφέρεται σαν μη εξαρτώμενη από κάποιο μοντέλο (model – independent), η έκφραση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε λάθος συμπεράσματα και παρανοήσεις. Το κοινό χαρακτηριστικό των μη διαμερισματικών τεχνικών είναι η απουσία υπόθεσης ενός συγκεκριμένου διαμερισματικού μοντέλου. Ωστόσο, η NCA μπορεί να χαρακτηριστεί ως απολύτως ανεξάρτητη από μοντέλο μόνο εάν χρησιμοποιείται για αποκλειστικά περιγραφικούς σκοπούς, για παράδειγμα η αναγραφή της μέγιστης συγκέντρωσης που προκύπτει από τα δεδομένα και ο χρόνος εμφάνισής της. Συνεπώς, μια τέτοια προσέγγιση δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί για σκοπούς προέκτασης (extrapolation).

Ο υπολογισμός της τιμής  $AUC_0^{\infty}$  απαιτεί την υπόθεση μονοεκθετικής μείωσης της συγκέντρωσης κατά την τελική φάση. Καθώς,

$$AUC_0^\infty = F \times \frac{Dose}{Cl} \quad (1.7)$$

και αφού το  $AUC_0^\infty$  χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της βιοδιαθεσιμότητας (F), αυτό προϋποθέτει ότι η κάθαρση (Cl) είναι σταθερή εντός του παρατηρούμενου εύρους συγκεντρώσεων και εντός του χρονικού διαστήματος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του  $AUC_0^\infty$ . Συμπερασματικά, όλες οι υποθέσεις που γίνονται για τον υπολογισμό της κάθαρσης, γίνονται ουσιαστικά αποδεκτές εάν το  $AUC_0^\infty$  χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της βιοδιαθεσιμότητας. Εκτιμήσεις για την κάθαρση και τον όγκο κατανομής μπορούν να πραγματοποιηθούν με ορισμένες υποθέσεις, μπορούν να ερμηνευτούν μόνο ως φαρμακολογικές ή φυσιολογικές παράμετροι του σώματος και του υπό εξέταση φαρμάκου.

Η μέθοδος της NCA μπορεί να εφαρμοστεί σε ΦΚ αναλύσεις με διάφορα αντικείμενα, όπως (Balakrishnan, 2014):

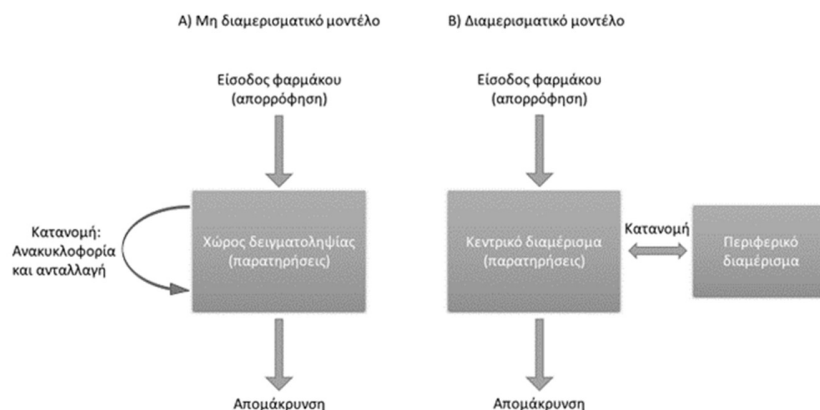
- I. Χαρακτηρισμός της διάθεσης του φαρμάκου.
- II. ΦΚ ανάλυση σε διαφόρων τύπων μελέτες, συμπεριλαμβανομένου:
  - Μελέτες βιοδιαθεσιμότητας και βιοϊσοδυναμίας.
  - Μελέτες επίδρασης τροφής.
  - ΦΚ μελέτες αλληλεπίδρασης.
  - Μελέτες αναλογικότητας δόσης.
- III. Υποστήριξη της ανάπτυξης φαρμακευτικών σκευασμάτων χαρακτηρίζοντας το προφίλ απορρόφησης του φαρμάκου.
- IV. Απόκτηση αρχικών εκτιμήσεων για τη διαμερισματοποίηση.

Ωστόσο, η NCA δεν αποτελεί πανάκεια, καθώς σε ορισμένες συνθήκες η εφαρμογή της ενδέχεται να οδηγήσει σε λάθος εκτιμήσεις. Η εφαρμογή της NCA είναι δύσκολη σε περιπτώσεις που απαιτείται (Balakrishnan, 2014):

- I. Η ανάλυση σποραδικών (αραιών) δεδομένων, μη επαρκών για να χαρακτηρίσουν την τελική φάση απομάκρυνσης ώστε να υπολογιστεί η παράμετρος  $\lambda_z$ .
- II. Η άντληση ΦΚ παραμέτρων από προφίλ συγκέντρωσης – χρόνου σύνθετων θεραπευτικών αγωγών.
- III. Η προσομοίωση διαφορετικών δοσολογικών σχημάτων από αυτά που έχουν μελετηθεί (other-than-the-studied dosage regimes).

#### 1.4.2 Διαμερισματική ανάλυση

Μια κλασική μέθοδος ανάλυσης των ΦΚ δεδομένων είναι η ΦΚ μοντελοποίηση κατά την οποία το σύστημα περιγράφεται μέσω μαθηματικών μοντέλων και εξισώσεων. Στη διαμερισματική ανάλυση το φάρμακο θεωρείται ότι κατανέμεται σε έναν αριθμό διαμερισμάτων, ενός κεντρικού και ενδεχομένως ορισμένων περιφερικών. Κάθε διαμέρισμα θεωρείται μη ανατομικά καθορισμένο και κινητικά ομοιογενές. Με τον όρο κινητική ομοιογένεια, εννοείται πως σε κάθε σημείο μέσα στο διαμέρισμα ο ρυθμός μεταβολής της ποσότητας του φαρμάκου είναι ο ίδιος. Τα διαμερίσματα δεν αντιπροσωπεύουν μέρη του οργανισμού, επομένως δεν έχουν φυσιολογική βάση. Το κεντρικό διαμέρισμα αντιπροσωπεύει την ταχύτερη διάχυση του φαρμάκου, ενώ τα περιφερικά διαμερίσματα, τμήματα με διαφορετικό ρυθμό διάχυσης από το κεντρικό (Flessner, 2003).



ΕΙΚΟΝΑ 1.4: Σύγκριση μη διαμερισματικού μοντέλου και διαμερισματικού μοντέλου δύο διαμερισμάτων.

Τα φαρμακοκινητικά μοντέλα χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: μοντέλα δεδομένων και μοντέλα συστήματος (Bonate, 2011). Τα μοντέλα των δεδομένων ή εμπειρικά μοντέλα, απαιτούν λίγες υποθέσεις για τον μηχανισμό δημιουργίας δεδομένων. Σκοπός είναι να καθορισθεί το μοντέλο χωρίς να προσδιοριστούν όλες οι διαδικασίες που υφίσταται το φάρμακο. Ενώ τα εμπειρικά μοντέλα είναι χρήσιμα για προβλέψεις, δεν είναι σωστό να χρησιμοποιούνται για προέκταση (extrapolation). Ο αριθμός των διαμερισμάτων που θα χρησιμοποιηθούν για την περιγραφή της κατανομής του φαρμάκου, δηλαδή το μοντέλο που θα επιλεγεί εξαρτάται από τα δεδομένα συγκέντρωσης – χρόνου. Η μέθοδος αυτή είναι data driven model development, δηλαδή η ανάπτυξη του μοντέλου στηρίζεται στα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα.

Τα μοντέλα συστημάτων ή μηχανιστικά μοντέλα, βασίζονται στις φυσικές ή φυσιολογικές αρχές και πρέπει να έχουν όσα περισσότερα χαρακτηριστικά του συστήματος ενσωματωμένα στο μοντέλο επιτρέπουν τα δεδομένα (Bonate, 2011). Η προσέγγιση αυτή βασίζεται στη γνώση των χαρακτηριστικών και ονομάζεται knowledge driven approach.

Στη διαμερισματική ανάλυση, προηγούνται οι υποθέσεις των μεταβλητών για την είσοδο και την έξοδο του φαρμάκου από το διαμέρισμα. Συνήθίζεται να γίνεται η υπόθεση πρωτοταξικής κινητικής εισόδου και εξόδου. Στη συνέχεια, με προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα, εκτιμώνται οι τιμές των ΦΚ παραμέτρων. Η συμφωνία μεταξύ των παραμέτρων που προκύπτουν από τη διαμερισματική και τη μη διαμερισματική ανάλυση εξαρτάται από την πυκνότητα των δεδομένων. Σε περιπτώσεις αραιών δεδομένων, όπως αναφέρθηκε, η NCA αναμένεται να φέρει διαφορετικά αποτελέσματα.

Τα μοντέλα αξιολογούνται από τρία χαρακτηριστικά: αναδρομικότητα, πρόβλεψη, κατανόηση. Η αναδρομικότητα αναφέρεται στην ικανότητα του μοντέλου να ανακαλεί τι συνέβη στο πείραμα, να επιβεβαιώνει τα αρχικά δεδομένα. Επιπλέον, θα πρέπει να προβλέπει τι θα συμβεί σε μελλοντικά πειράματα και να συνεισφέρει στην κατανόηση του συστήματος. Τα μοντέλα είναι είτε χρήσιμα, είτε λιγότερο χρήσιμα και θα πρέπει να κρίνονται ανάλογα με το πως προορίζονται να χρησιμοποιηθούν. Για παράδειγμα, αν ένα μοντέλο έχει αναπτυχθεί σε νέους ενήλικες με καλή προβλεπτική ικανότητα σε διαφορετικά δοσολογικά σχήματα, θα χαρακτηριστεί ως λανθασμένο αν δε διαθέτει την ίδια προβλεπτική ικανότητα σε γηριατρικούς πληθυσμούς (Rescigno, 1988);

Τα συστήματα των ζωντανών οργανισμών διαθέτουν μια ιδιαίτερα υψηλή πολυπλοκότητα, επομένως ένα μοντέλο δεν μπορεί να περιγράψει με απόλυτη ακρίβεια τις διαδικασίες που υφίσταται το φάρμακο σε έναν ζωντανό οργανισμό, αλλά παρέχουν μία προσεγγιστική περιγραφή. Όλα τα μοντέλα είναι λάθος, αλλά μερικά είναι χρήσιμα (Box, 1976). Κάποιες βασικές αρχές για τη μέθοδο ανάπτυξης και επικύρωσης ενός ΦΚ μοντέλου αναλύονται στη συνέχεια.



## 1.5 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Η διαδικασία της εύρεσης ενός ΦΚ μοντέλου ακολουθεί συγκεκριμένα βήματα τα οποία επαναλαμβάνονται μέχρι την ανάπτυξη ενός ικανοποιητικού για τις δεδομένες ανάγκες μοντέλου. Τα στάδια που ακολουθούνται είναι τα εξής (Bonate, 2011):

- I. Επιλογή ΦΚ μοντέλου.
- II. Προσαρμογή του μοντέλου.
- III. Έλεγχος του μοντέλου.
- IV. Επιστροφή στο βήμα I για αναθεώρηση του μοντέλου αν χρειάζεται.
- V. Έλεγχος και επικύρωση του μοντέλου.

### 1.5.1 Επιλογή πιθανού φαρμακοκινητικού μοντέλου

Το πρώτο βήμα για την ανάπτυξη ενός ΦΚ μοντέλου είναι η επιλογή του δομικού μοντέλου και του μοντέλου σφάλματος. Το δομικό μοντέλο επιλέγεται με βάση τη βιβλιογραφία που μπορεί να υπάρχει για το υπό μελέτη σύστημα ή από τη γραφική απεικόνιση των δεδομένων παρατηρώντας τις τάσεις που δημιουργούνται.

Το μοντέλο σφάλματος περιγράφει τη διαφορά των παρατηρούμενων δεδομένων ενός ατόμου με τις προβλέψεις του μοντέλου και ονομάζεται υπόλοιπη μεταβλητότητα (Mould & Upton, 2012). Ουσιαστικά η υπόλοιπη μεταβλητότητα εκφράζει τη μεταβλητότητα η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί, όπως σφάλματα στις μετρήσεις, στους χρόνους δειγματοληψίας, στην καταγραφή των αποτελεσμάτων, ατελή συμφωνία του μοντέλου με τα δεδομένα (Bonate, 2011; Mould & Upton, 2012, 2013). Το μοντέλο σφάλματος μπορεί να είναι ομοσκεδαστικό, ετεροσκεδαστικό ή συνδυαστικό.

Στο ομοσκεδαστικό μοντέλο σφάλματος, το σφάλμα θεωρείται σταθερό, δηλαδή η διακύμανση είναι σταθερή. Ονομάζεται και αθροιστικό σφάλμα αφού ισχύει (Dosne et al., 2016; Nguyen et al., 2017):

$$Y_i = \hat{Y}_i + \varepsilon_{intercept\ i} \quad (1.8)$$

Όπου,

$Y_i$ : οι μετρήσεις με σταθερή διακύμανση  $\sigma_{intercept}^2$

$\hat{Y}_i$ : οι τιμές από το μοντέλο

$\varepsilon_{intercept\ i}$ : τυχαία μεταβλητή που ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση  $\sigma_{intercept}^2$

Το πλεονέκτημα του ομοσκεδαστικού μοντέλου σφάλματος έναντι των υπολοίπων είναι η ικανότητά του να ερμηνεύει συστηματικά σφάλματα που προκύπτουν από την διακριτική ικανότητα των οργάνων. Αντίθετα, υπερεκτιμά το σφάλμα όταν η τιμή που προβλέπει το μοντέλο  $\hat{Y}_i$  είναι μικρή και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές συγκεντρώσεις όταν χρησιμοποιείται για τη μοντελοποίηση ΦΚ δεδομένων, ενώ υποεκτιμά το σφάλμα για μεγάλες τιμές του μοντέλου (Δοκουμετζίδης, 2020).

Στο ετεροσκεδαστικό σφάλμα δεν ισχύει η υπόθεση της σταθερής διακύμανσης που γίνεται στο αθροιστικό σφάλμα. Υπάρχει πληθώρα ετεροσκεδαστικών μοντέλων σφάλματος με συνηθέστερα το αναλογικό και το εκθετικό. Η γενική εξίσωση που περιγράφει το ετεροσκεδαστικό μοντέλο είναι (Dosne et al., 2016):

$$Y_i = \hat{Y}_i + \hat{Y}_i^\zeta \times \varepsilon_{slope\ i} \quad (1.9)$$

Όπου,

$\varepsilon_{slope\ i}$ : τυχαία μεταβλητή που ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση  $\sigma_{slope}^2$ .

$\zeta$ : δυναμική παράμετρος

Όπως αναφέρθηκε, η διακύμανση των  $Y_i$  στον συγκεκριμένο τύπο σφάλματος δεν είναι σταθερή και ισούται για κάθε χρονική στιγμή  $i$  με:

$$Var(Y_i) = \hat{Y}_i^{2\zeta} \times \sigma_{slope}^2 \quad (1.10)$$

Από τη σχέση (1.10) προκύπτει ότι η διακύμανση αυξάνεται με την αύξηση της τιμής του δομικού μοντέλου. Αν  $\zeta = 0$  η διακύμανση του σφάλματος είναι σταθερή άρα αποτελεί περίπτωση ομοσκεδαστικού μοντέλου. Αν  $\zeta = 1$  το μοντέλο σφάλματος ονομάζεται αναλογικό. Στο αναλογικό μοντέλο σφάλματος για μεγάλες τιμές του δομικού μοντέλου επιτρέπεται μεγάλο σφάλμα, ενώ για μικρές τιμές του μοντέλου το σφάλμα τείνει στο μηδέν. Το αναλογικό σφάλμα ερμηνεύει συσσωρευτικά σφάλματα (Δοκουμετζίδης, 2020). Το κύριο μειονέκτημά του είναι ότι υποεκτιμά το σφάλμα για μικρές τιμές του μοντέλου, για παράδειγμα για την τιμή του δομικού μοντέλου  $\hat{Y}_i = 0$  το σφάλμα θεωρείται και αυτό ίσο με μηδέν.

Το εκθετικό μοντέλο σφάλματος ορίζεται από την εξίσωση:

$$Y_i = \hat{Y}_i \times \exp(\varepsilon_{slope\ i}) \quad (1.11)$$

Όπου,  $\exp(\varepsilon_{slope\ i})$  ακολουθεί lognormal κατανομή με γεωμετρικό μέσο ίσο με 1 και διακύμανση  $\sigma_{slope}^2$ . Αν τα πειραματικά δεδομένα και το μοντέλο λογαριθμιστούν, το εκθετικό σφάλμα μετατρέπεται σε προσθετικό:

$$\ln(Y_i) = \ln(\hat{Y}_i) + \varepsilon_{slope\ i} \quad (1.12)$$

Το εκθετικό μοντέλο προτιμάται για δεδομένα συγκέντρωσης, καθώς είναι πάντα θετικές οι τιμές τους.

Τέλος, το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος είναι ένας συνδυασμός του ομοσκεδαστικού και του αναλογικού σφάλματος. Περιγράφεται από την εξίσωση:

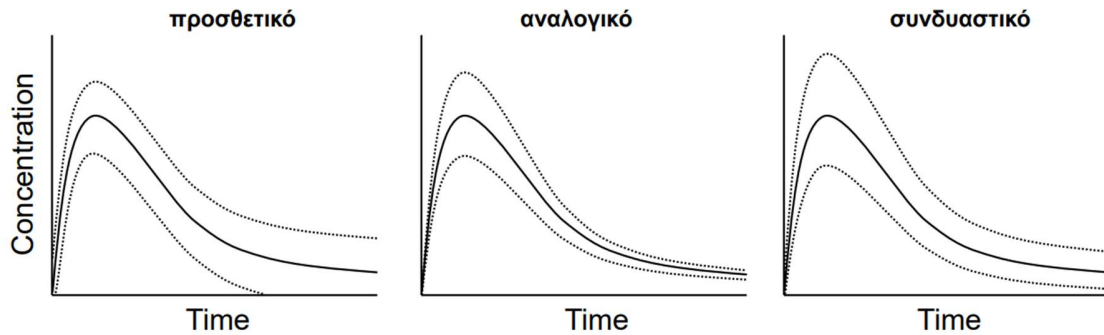
$$Y_i = \hat{Y}_i(1 + \varepsilon_{slope\ i}) + \varepsilon_{intercept\ i} \quad (1.13)$$

Με διακύμανση για το  $Y_i$ :

$$Var(Y_i) = (\hat{Y}_i^2 \times \sigma_{slope}^2) + \sigma_{intercept}^2 \quad (1.14)$$

Το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος είναι αρκετά χρηστικό και ρεαλιστικό καθώς δεν ισούται με μηδέν στις μικρές συγκεντρώσεις, αφού και αυτές υπολογίζονται με κάποιο ποσοστό σφάλματος και

είναι ανάλογο του δομικού μοντέλου σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επομένως, υπερισχύει το προσθετικό μοντέλο σε χαμηλές συγκεντρώσεις και το αναλογικό μοντέλο σε υψηλότερες συγκεντρώσεις.



ΕΙΚΟΝΑ 1.5: Γραφική απεικόνιση των μοντέλων σφάλματος (Δοκουμετζίδης, 2020).

### 1.5.2 Προσαρμογή του μοντέλου

Σημαντικό βήμα για την ανάπτυξη ενός μοντέλου από πειραματικά δεδομένα είναι η προσαρμογή αυτού στα δεδομένα (model fitting). Όταν η σχέση μεταξύ εξαρτημένων και ανεξάρτητων μεταβλητών είναι γραμμική, τα δεδομένα αναλύονται με γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (linear regression). Σε αυτή την περίπτωση, η εξίσωση της ευθείας  $\hat{Y}_i = a + b * x_i$  προσαρμόζεται στα δεδομένα  $Y_i$  με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Βέλτιστη ευθεία θεωρείται αυτή που ελαχιστοποιεί τις κάθετες αποστάσεις μεταξύ της ευθείας και των πειραματικών σημείων και βρίσκεται ελαχιστοποιώντας την τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης  $F$  (Objective Function Value, OFV) (Συμιλλίδου, 2020).

$$F(a, b) = \sum_{i=1}^n d_i^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2 = \sum_{i=1}^n (Y_i - (a + bx_i))^2 \quad (1.15)$$

Όπου,

$Y_i$ : οι παρατηρούμενες τιμές για κάθε τιμή  $x_i$

$\hat{Y}_i$ : οι τιμές  $Y$  που εκτιμώνται με βάση τη βέλτιστη ευθεία

$d_i$ : οι κάθετες αποστάσεις των σημείων  $Y_i$  από την ευθεία  $\hat{Y}_i$

Σκοπός είναι η ελαχιστοποίηση της αντικειμενικής συνάρτησης (1.15) εκτιμώντας τις παραμέτρους  $a$  και  $b$ , δηλαδή την αποτέμνουσα και την κλίση και βέλτιστης ευθείας. Αυτό επιτυγχάνεται μηδενίζοντας τις μερικές παραγώγους της αντικειμενικής συνάρτησης  $F$  (Εξίσωση 1.16) ως προς τα  $a$  και  $b$  (Συμιλλίδου, 2020).

$$\frac{dF}{da} = 0 \text{ και } \frac{dF}{db} = 0 \quad (1.16)$$

Για την ανάλυση των ΦΚ δεδομένων  $Y_i$  χρησιμοποιείται κυρίως η μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (nonlinear regression) καθώς τα ΦΚ μοντέλα είναι ως επί το πλείστον μη γραμμικά

(Sheiner & Beal, 1985). Στη μη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης για την ελαχιστοποίηση της αντικειμενικής συνάρτησης χρησιμοποιείται αριθμητική μέθοδος και δεν υπάρχει αναλυτική λύση. Οι διάφοροι αλγόριθμοι βελτιστοποίησης υπολογίζουν την τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης για διάφορες τιμές παραμέτρων μέχρι να επαληθευθεί κάποιο κριτήριο τερματισμού.

Σκοπός είναι να εκτιμηθούν τόσο οι παράμετροι του μοντέλου όσο και η αβεβαιότητα εκτίμησής τους. Όπως και στη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης, οι παράμετροι πρέπει να εκτιμηθούν ώστε να περιγράψουν όσο το δυνατόν καλύτερα τα δεδομένα. Η εκτίμηση των παραμέτρων πραγματοποιείται είτε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων είτε με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας που θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Όπως έχει αναφερθεί, όλα τα μοντέλα εκτιμούν τις μετρήσεις με ένα ποσοστό σφάλματος. Σκοπός είναι να εκτιμηθούν οι παράμετροι  $\xi$ , έτσι ώστε να ελαχιστοποιούνται τα σφάλματα  $\varepsilon_i$  του μοντέλου  $f$  από τις μετρήσεις  $Y_i$  (Δοκουμετζίδης, 2020).

$$Y_i = f(\xi, x_i) + \varepsilon_i \quad (1.17)$$

Όπου,

$Y_i$ : οι μετρήσεις, τα ΦΚ δεδομένα

$f$ : το μοντέλο, ισοδυναμεί με το συμβολισμό  $\hat{Y}_i$

$x_i$ : οι ανεξάρτητες μεταβλητές, στη συγκεκριμένη περίπτωση ο χρόνος

$\xi$ : οι παράμετροι, για παράδειγμα η κάθαρση

$\varepsilon_i$ : το σφάλμα

Στη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων OLS (Ordinary Least Squares) δεν πραγματοποιείται κάποια υπόθεση για την κατανομή των σφαλμάτων και η εκτίμηση γίνεται ελαχιστοποιώντας τα αθροίσματα των τετραγώνων των υπολοίπων. Ως υπόλοιπα ορίζονται από την εξίσωση 1.18 (Sheiner & Beal, 1985):

$$\varepsilon_i = Y_i - f(\xi, x_i) \quad (1.18)$$

Με τη μέθοδο OLS ελαχιστοποιείται η αντικειμενική συνάρτηση:

$$F(\xi) = \sum_{i=1}^n (Y_i - f(\xi, x_i))^2 \quad (1.19)$$

Υπολογίζονται μέσω της εξίσωσης 1.19 οι τιμές των  $\xi$  για τις οποίες η αντικειμενική συνάρτηση  $F(\xi)$  παίρνει την ελάχιστη τιμή αλλά και το τυπικό σφάλμα των  $\xi$ , δηλαδή η αβεβαιότητα με την οποία εκτιμήθηκαν.

Ωστόσο, η εκτίμηση των παραμέτρων μπορεί να πραγματοποιηθεί και με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας (maximum likelihood). Στη συγκεκριμένη μέθοδο γίνεται η υπόθεση ότι η πιθανότητα το  $\varepsilon_i$  (ή το  $Y_i$ ) να παίρνει μια συγκεκριμένη τιμή ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 (ή  $Y_i$ ) και τυπική απόκλιση  $\sigma$ . Η πιθανότητα για ένα σημείο να έχει τιμή  $Y_i$  ονομάζεται πιθανοφάνεια (Δοκουμετζίδης, 2020). Η πυκνότητα πιθανότητας δίνεται από τη σχέση:

$$L(Y_i|\xi, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(Y_i - \hat{Y}_i(\xi))^2}{2\sigma^2}} \quad (1.20)$$

Στην ανάλυση πολλών σημείων, αν οι πιθανοφάνειες των σημείων είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους, η πιθανοφάνεια για όλα τα σημεία είναι το γινόμενο τους.

$$L(Y|\xi, \sigma) = L(Y_1|\xi, \sigma_1) \times L(Y_2|\xi, \sigma_2) \times \dots \times L(Y_n|\xi, \sigma_n) = \prod_{i=1}^n L(Y_i|\xi, \sigma_i) \quad (1.21)$$

$$L(Y|\xi, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_i^2}} e^{-\frac{(Y_i - \hat{Y}_i(\xi))^2}{2\sigma_i^2}} \quad (1.22)$$

Σκοπός της ανάλυσης είναι ο υπολογισμός των παραμέτρων  $\xi$  και  $\sigma$  για τις οποίες η πιθανοφάνεια  $L$  διαθέτει τη μέγιστη τιμή, δηλαδή είναι περισσότερο πιθανή. Η συνάρτηση μεγιστοποιείται όταν  $(Y_i - \hat{Y}_i(\xi))^2$  είναι ελάχιστο. Γι' αυτό το λόγο δημιουργείται μια αντικειμενική συνάρτηση, η οποία να είναι ικανή να ελαχιστοποιηθεί. Από την εξίσωση 1.21 λογαριθμίζοντας προκύπτει το log-likelihood (LL = ln(L)) και πολλαπλασιάζοντας και τα δύο μέλη με το -2 προκύπτει:

$$-2LL(Y|\xi, \sigma) = n * \ln(2\pi) + \sum_{i=1}^n \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{2\sigma_i^2} + \ln(\sigma_i^2) \quad (1.23)$$

Η αντικειμενική συνάρτηση δίνεται από τον τύπο 1.24:

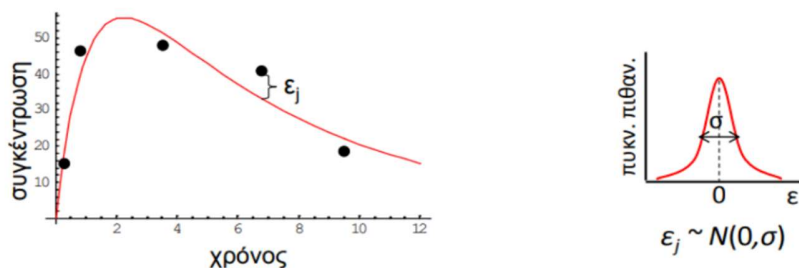
$$F(\xi, \sigma) = \sum_{i=1}^n \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{2\sigma_i^2} + \ln(\sigma_i^2) \quad (1.24)$$

Η μέθοδος αυτή ονομάζεται μέθοδος των εκτεταμένων ελαχίστων τετραγώνων (Extended Least Squares, ELS) και με τη συγκεκριμένη μέθοδο οι παράμετροι  $\xi$  και  $\sigma$  υπολογίζονται ταυτόχρονα (Sheiner & Beal, 1985).

### 1.5.3 Σύγκριση μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων και μέγιστης πιθανοφάνειας

Με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων υπολογίζονται οι τιμές των παραμέτρων  $\xi$  για τις οποίες η συνάρτηση  $\varepsilon_i = Y_i - f(\xi, x_i)$  ελαχιστοποιείται, δηλαδή τα σφάλματα λαμβάνουν τη μικρότερη τιμή. Η εκτίμηση των παραμέτρων  $\xi$  πραγματοποιείται ελαχιστοποιώντας τη συνάρτηση  $F(\xi) = \sum_{i=1}^n (Y_i - f(\xi, x_i))^2$  και ακολουθεί ο υπολογισμός της αβεβαιότητας με την οποία υπολογίστηκαν οι τιμές των  $\xi$ .

Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας υπολογίζονται οι τιμές των παραμέτρων  $\xi$  και  $\sigma$  για τις οποίες η συνολική πιθανότητα για όλα τα  $\varepsilon_i$  είναι μέγιστη. Για τον υπολογισμό αυτό ελαχιστοποιείται η συνάρτηση  $F(\xi, \sigma) = \sum_{i=1}^n \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{2\sigma_i^2} + \ln(\sigma_i^2)$ . Η πιθανότητα το κάθε  $\varepsilon_i$  να πάρει μία τιμή ακολουθεί κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση  $\sigma$ . Για το ομοσκεδαστικό σφάλμα ισχύει  $\sigma_i = \sigma$ , άρα η αντικειμενική συνάρτηση γίνεται  $F(\xi) = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2$  και  $\sigma^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n}$ , δηλαδή οι συναρτήσεις ταυτίζονται με αυτές της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων.



ΕΙΚΟΝΑ 1.6: Μέθοδος μεγίστης πιθανοφάνειας (Δοκουμετζίδης, 2020).

Επομένως, οι δύο μέθοδοι έχουν αρκετά κοινά σημεία και διαφέρουν στο γεγονός ότι η μέθοδος της μεγίστης πιθανοφάνειας είναι περισσότερο ευέλικτη, καθώς υπολογίζει ταυτόχρονα τις τιμές των  $\xi$  και  $\sigma$ . Επιπλέον, στη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας τα  $\sigma$  θεωρούνται παράμετροι όπως τα  $\xi$ , άρα όπως υπολογίζεται η αβεβαιότητα, δηλαδή τα τυπικά σφάλματα των παραμέτρων  $\xi$ , έτσι υπολογίζεται και η αβεβαιότητα της τυπικής απόκλισης  $\sigma$  (Δοκουμετζίδης, 2020).

#### 1.5.4 Αβεβαιότητα των παραμέτρων

Όπως ήδη έχει τονιστεί, κατά την εκτίμηση των παραμέτρων υπολογίζεται και η αβεβαιότητα με την οποία έχουν εκτιμηθεί. Η αβεβαιότητα είναι το μέτρο της εμπιστοσύνης που θα πρέπει να δίδεται σε μία εκτίμηση και εκφράζεται μέσα από τη διακύμανση της εκτιμήτριας  $\hat{\xi}$ ,  $Var(\hat{\xi})$ . Επομένως, όσο μεγαλύτερη η διακύμανση τόσο μεγαλύτερη αβεβαιότητα που έχει πραγματοποιηθεί μία εκτίμηση. Με τον όρο τυπικό σφάλμα (Standard Error, SE) ορίζεται η τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης.

Ο συντελεστής μεταβλητότητα (Coefficient of Variation, CV) προσδιορίζει τη σχετική αβεβαιότητα της εκτίμησης μέσω της σχέσης:

$$CV(\%) = \frac{SE(\hat{\xi})}{\hat{\xi}} 100\% \quad (1.25)$$

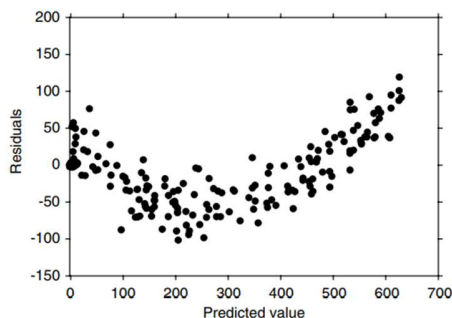
Η μεγάλη αβεβαιότητα πρακτικά σημαίνει ότι αν μεταβληθεί η εκτιμώμενη τιμή μίας παραμέτρου στο εύρος του τυπικού σφάλματος τότε η τιμή που υπολογίζει το μοντέλο για τη συγκεκριμένη παράμετρο δε θα μεταβληθεί σημαντικά.

Η αβεβαιότητα προκύπτει από την έλλειψη πληροφορίας στα δεδομένα ώστε να είναι ικανά να εκτιμήσουν με ακρίβεια μία παράμετρο. Ο σχεδιασμός του πειράματος από το οποίο προέκυψαν τα δεδομένα ενδέχεται να μην είναι ο κατάλληλος και έτσι να είναι αδύνατος ο υπολογισμός κάποιας παραμέτρου με ακρίβεια. Επιπρόσθετα, τα σφάλματα που προκύπτουν από τις μετρήσεις των δεδομένων συμβάλουν στην αβέβαιη εκτίμηση των παραμέτρων (Κεχαγιά, 2012).

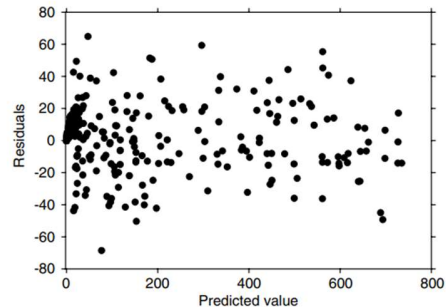
### 1.5.5 Έλεγχος και επικύρωση μοντέλου

Αφού ένα μοντέλο έχει αναπτυχθεί, επόμενο βήμα είναι η αξιολόγησή του και η σύγκρισή του με άλλα πιθανά μοντέλα, ώστε να βρεθεί το 'καλύτερο'. Ελέγχεται τόσο η καταλληλότητα του δομικού μοντέλου όσο και του μοντέλου σφάλματος. Τα τυπικά σφάλματα δίνουν μία αρχική εκτίμηση για το μοντέλο. Αυξημένα τυπικά σφάλματα υποδηλώνουν έλλειψη πληροφορίας για τον σωστό υπολογισμό των παραμέτρων.

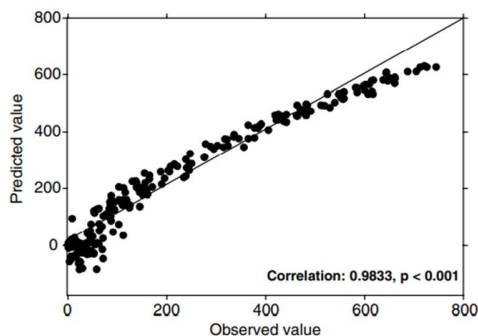
Για να προκύψουν αξιόπιστα συμπεράσματα είναι σημαντική η χρήση καλών διαγνωστικών εργαλείων. Τα κριτήρια καλής προσαρμογής (goodness of fit criteria) είναι είτε γραφήματα, είτε δείκτες (Bonate, 2011; Nguyen et al., 2017). Αρχικά, από τα γραφήματα των υπολοίπων (residuals) με τις τιμές που προβλέπει το μοντέλο (predicted values), διαπιστώνεται η ύπαρξη κάποιας συστηματικής τάσης. Τα σημεία θα πρέπει να είναι τυχαία κατανομημένα γύρω από την ευθεία που περνάει από μηδέν, διαφορετικά χρειάζεται να εξεταστεί η ύπαρξη τάσης. Με αυτόν τον τρόπο, ελέγχεται η επάρκεια του μοντέλου σφάλματος, δηλαδή υπόλοιπης μεταβλητότητας, που έχει επιλεγεί. Ακόμα, εξετάζονται τα γραφήματα των προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο συναρτήσει των παρατηρούμενων πειραματικών τιμών (predicted – observed). Από το συγκεκριμένο γράφημα παρατηρείται η ταύτιση του μοντέλου με τα πειραματικά δεδομένα και εξετάζεται η απόκλιση από τη μέση συμπεριφορά. Το μοντέλο εξετάζεται με βάση την απόκλιση του από την ευθεία  $y=x$ , συστηματική διακύμανση υποδηλώνει ελλιπή καθορισμό του μοντέλου (model misspecification). Με αυτό τον τρόπο ελέγχεται η επάρκεια του μοντέλου που έχει επιλεγεί.



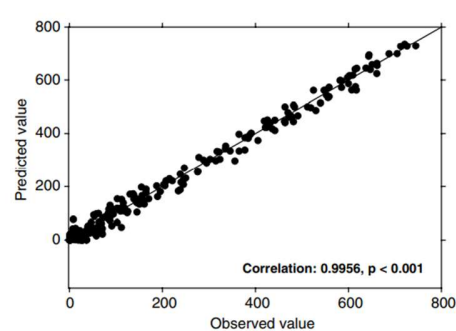
(α)



(β)



(γ)



(δ)

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.2: (α)-(β) Διαγράμματα υπολοίπων συναρτήσει των προβλεπόμενων τιμών. (α) Μοντέλο στο οποίο υπάρχει μία συστηματική τάση. (β) Τυχαία κατανομή των υπολοίπων γύρω από την ευθεία  $y=0$ . (γ) – (δ) Διαγράμματα προβλεπόμενων συναρτήσει παρατηρούμενων τιμών. (γ) Ελλιπής καθορισμός του μοντέλου – ύπαρξη τάσης. (δ) Επαρκές μοντέλο. (Bonate, 2011)

Οι αριθμοδείκτες που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των μοντέλων δεν είναι τόσο πληροφοριακοί όσο τα γραφήματα, ωστόσο συχνά είναι πολύ χρήσιμοι. Ο συντελεστής προσδιορισμού  $R^2$ , δείχνει το ποσοστό της μεταβλητότητας των δεδομένων που ερμηνεύεται από το μοντέλο και ορίζεται ως εξής:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y}_i)^2} \quad (1.26)$$

Ιδανικά  $R^2 = 1$ , δηλαδή το μοντέλο προβλέπει ακριβώς τα πειραματικά δεδομένα. Εάν προκύψει  $R^2 = 0$ , σημαίνει ότι το μοντέλο προβλέπει απλώς τη μέση τιμή ( $\bar{Y}_i$ ) των δεδομένων και κρίνεται πλήρως ακατάλληλο (Δοκουμετζίδης, 2020).

Γενικά, τα πολύπλοκα μοντέλα πολλών παραμέτρων περιγράφουν με μεγαλύτερη ευκολία ένα σετ δεδομένων (υπάρχουν περισσότεροι 'βαθμοί ελευθερίας', επιτρέποντας στο μοντέλο να πάρει περισσότερα σχήματα). Στη σύγκριση πολλών μοντέλων χρειάζεται να εξετάζεται και η αυξημένη πολυπλοκότητα του μοντέλου συναρτήσει των βελτιώσεων που προσφέρει στην εφαρμογή του. Τα κριτήρια πληροφορίας Akaike Information Criterion (AIC) και Bayesian Information Criterion (BIC) είναι ιδανικά για τη σύγκριση μοντέλων (Mould & Upton, 2013).

$$AIC = -2LL + 2p \quad (1.27)$$

$$BIC = -2LL + p * \ln(N) \quad (1.28)$$

Όπου,

-2LL: η αντικειμενική συνάρτηση

p: ο αριθμός των παραμέτρων του μοντέλου (όλες οι παράμετροι (πχ. σ) όχι μόνο οι παράμετροι ξ)

N: ο αριθμός των παρατηρήσεων

Συγκρίνοντας τις τιμές AIC δύο μοντέλων επιλέγεται αυτό με τη χαμηλότερη τιμή. Ομοίως και κατά τη σύγκριση των τιμών BIC. Το BIC προτιμά πιο απλά μοντέλα, ενώ το AIC αποτελεί συμβιβασμό ανάμεσα στην πολυπλοκότητα και την προσαρμογή, γι' αυτό και προτιμάται όταν τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Διαφορά στις τιμές BIC ή AIC > 10 μεταξύ δύο μοντέλων χαρακτηρίζεται ως 'πολύ ισχυρή' ένδειξη για επιλογή του μοντέλου με τη χαμηλότερη τιμή. Διαφορά μεταξύ 6 – 10 χαρακτηρίζεται ως 'ισχυρή' ένδειξη, 2 – 6 'θετική' ένδειξη, 0 – 2 'αδύναμη' ένδειξη. Μια διαφορά μεταξύ των τιμών AIC ή BIC δύο μοντέλων μεγαλύτερη του 2 είναι ικανή ώστε να οδηγήσει στη μελέτη του μοντέλου με τη χαμηλότερη τιμή κριτηρίου. Τα παραπάνω κριτήρια χρησιμοποιούνται μόνο για μοντέλα που έχουν προκύψει από τα ίδια δεδομένα (Mould & Upton, 2013).

Ένας ακόμα δείκτης είναι το τεστ των λόγων πιθανοφάνειας λ (Likelihood Ratio Test, LRT). Έστω δύο φωλιασμένα μοντέλα, δηλαδή μοντέλα που το ένα είναι ειδική περίπτωση του άλλου, τα οποία εκτιμώνται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας και αποτελούνται το ένα από αριθμό παραμέτρων f και πιθανοφάνεια  $L_f$  και το άλλο από r παραμέτρους και πιθανοφάνεια  $L_r$ , όπου  $f > r$ . Το likelihood ratio ορίζεται ως (Bonate, 2011):

$$\lambda = \frac{L_r}{L_f} \quad (1.29)$$

Εάν οι μέγιστες πιθανοφάνειες των r (reduced) και f (full) μοντέλων κατανομονται κανονικά τότε για μεγάλες τιμές n,  $-2\ln(\lambda)$  κατανομεται σαν μία τυχαία μεταβλητή  $\chi^2$  με f-r βαθμούς ελευθερίας.



Ένα  $a$  test ξεκαθαρίζει αν το full model είναι το καλύτερο μοντέλο, αν  $-2\ln(\lambda)$  είναι μεγαλύτερο από ή ίσο με την τιμή του  $\chi^2$  για βαθμούς ελευθερίας  $f-r$  και την κρίσιμη τιμή  $a$ . Αν  $LL_f$  και  $LL_r$  είναι οι λογαριθμικά τροποποιημένες τιμές της πιθανοφάνειας των μοντέλων  $f$  και  $r$  αντίστοιχα το τεστ των λόγων πιθανοφάνειας μπορεί να εκφραστεί και ως (Bonate, 2011):

$$LRT = 2(LL_f - LL_r) \quad (1.30)$$

$$2(LL_f - LL_r) \geq \chi^2_{(f-r),a} \quad (1.31)$$

Για παράδειγμα για διαφορά 1 βαθμό ελευθερίας μεταξύ full και reduced μοντέλων, η διαφορά των δύο μοντέλων πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 3.84 για επίπεδο εμπιστοσύνης  $\alpha=0.05$  ή 6.63 για επίπεδο εμπιστοσύνης  $\alpha=0.01$ . Οι τιμές αυτές βρίσκονται από πίνακες. Η χρησιμότητα του συγκεκριμένου δείκτη είναι ιδιαίτερα εμφανής στην επιλογή μοντέλου συμμεταβλητών, τα οποία είναι φωλιασμένα μοντέλα και θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Τελευταίο βήμα στη ΦΚ μοντελοποίηση αποτελεί η επικύρωση του μοντέλου, η οποία μπορεί να είναι εσωτερική ή εξωτερική. Μέσω της εσωτερικής επικύρωσης διαπιστώνεται αν το μοντέλο περιγράφει ικανοποιητικά τα πειραματικά δεδομένα από τα οποία προήλθε. Με την εξωτερική επικύρωση ελέγχεται αν το μοντέλο περιγράφει ικανοποιητικά νέα δεδομένα, δηλαδή τιμές που δε χρησιμοποιήθηκαν κατά την ανάπτυξή του. Οι δύο πιο διαδεδομένες μέθοδοι εσωτερικής επικύρωσης είναι το Visual Predictive Check (VPC) και το bootstrap.

Το VPC χρησιμοποιείται ώστε να εκτιμήσει πόσο καλά οι προβλέψεις που έγιναν από το ΦΚ μοντέλο περιγράφουν τα πραγματικά δεδομένα συμπεριλαμβανομένης της μεταβλητότητας (Sassen et al., 2020). Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογή κυρίως στα πληθυσμιακά ΦΚ μοντέλα που θα αναλυθούν στη συνέχεια εκτενώς. Για τη δημιουργία του VPC προσομοιώνονται αρχικά ένας μεγάλος αριθμός νέων σετ δεδομένων (1000 – 10000) χρησιμοποιώντας το τελικό μοντέλο, ίδιας μορφής με το αρχικό σετ πειραματικών δεδομένων. Για κάθε χρονική στιγμή υπολογίζονται 3 εκατοστημόρια (percentiles), συνήθως 5, 50, 95%, των δεδομένων και των προσομοιώσεων. Έπειτα, για κάθε χρονική στιγμή υπολογίζονται τα 90% διαστήματα εμπιστοσύνης των percentiles των προσομοιώσεων. Ελέγχεται αν τα percentiles των δεδομένων βρίσκονται εντός του διαστήματος εμπιστοσύνης των percentiles των προσομοιώσεων, τότε το μοντέλο είναι έγκυρο (Balakrishnan, 2014; Nguyen et al., 2017; Park et al., 2014; Sassen et al., 2020; Yano et al., 2001).

Μέσω της μεθόδου bootstrap παράγεται ένας μεγάλος αριθμός νέων σετ δεδομένων μέσω τυχαίας δειγματοληψίας με επανατοποθέτηση από το αρχικό σετ δεδομένων. Για κάθε νέο σετ υπολογίζονται οι παράμετροι και τα τυπικά σφάλματα του μοντέλου χρησιμοποιώντας τα νέα δεδομένα και το τελικό μοντέλο που έχει αναπτυχθεί. Οι παράμετροι και τα τυπικά σφάλματα που υπολογίζονται μέσω bootstrap συγκρίνονται με αυτά που έχουν υπολογιστεί από το μοντέλο με τα πειραματικά δεδομένα. Αν οι προβλεπόμενες τιμές των παραμέτρων είναι εντός του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης των μέσων τιμών των παραμέτρων που υπολογίστηκαν μέσω bootstrap, τότε το μοντέλο θεωρείται σταθερό (robust) (Balakrishnan, 2014; Bonate, 2011).

## 1.6 ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

---

Ως τώρα η ΦΚ ανάλυση που έχει αναφερθεί αφορά στην επεξεργασία και μοντελοποίηση δεδομένων από κάθε άτομο ξεχωριστά. Ωστόσο, από τα τέλη της δεκαετία του 1970 μελέτες και επιστημονικά άρθρα (Sheiner et al., 1977; Sheiner & Beal, 1980, 1981, 1983, 1985) περιγράφουν μία νέα προσέγγιση η οποία ονομάζεται πληθυσμιακή φαρμακοκινητική (population pharmacokinetics, popPK). Η πληθυσμιακή ΦΚ είναι η μελέτη της ΦΚ σε έναν πληθυσμό ενδιαφέροντος, δηλαδή αντί τα δεδομένα να μοντελοποιούνται για κάθε άτομο ξεχωριστά, δεδομένα από όλα τα άτομα μοντελοποιούνται ταυτόχρονα. Η πληθυσμιακή ΦΚ άλλαξε το ρόλο και την επίδραση της ΦΚ στην ανάπτυξη φαρμάκων.

Όλα τα φάρμακα παρουσιάζουν διατομική μεταβλητότητα (Between Subject Variability, BSV), δηλαδή μεταβλητότητα στο σχήμα συγκέντρωσης – χρόνου μεταξύ των ατόμων που ακολουθούν το ίδιο δοσολογικό σχήμα (Mould & Upton, 2012). Μπορεί να υπάρξουν και άλλα επίπεδα μεταβλητότητας όπως η ενδοατομική (within subject variability) και η υπόλοιπη (residual variability) (Bonate, 2011). Πολλές μελέτες πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φαρμάκων με σκοπό την αναγνώριση και την ποσοτικοποίηση αυτής της μεταβλητότητας. Η κατανόηση της επίδρασης παραγόντων όπως η ηλικία, το βάρος, η νεφρική/ηπατική λειτουργία στην έκθεση – ανταπόκριση στα φαρμακευτικά προϊόντα είναι σημαντική. Βελτιώνεται με αυτόν τον τρόπο η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, αφού ελέγχεται η μεταβλητότητα στην έκθεση του ατόμου στο φάρμακο. Οι παράγοντες αυτοί ονομάζονται συµμεταβλητές και μπορεί να είναι σωματομετρικοί (βάρος, ύψος), βιοχημικοί (αιματοκρίτης), φυλετικοί, δημογραφικοί κ.α.. Η πληθυσμιακή ΦΚ είναι μία καλά δομημένη, ποσοτική μέθοδος που ποσοτικοποιεί και εξηγεί τη μεταβλητότητα της συγκέντρωσης των φαρμάκων ανάμεσα στα άτομα (Sheiner et al., 1977).

Σε αντίθεση με τα παραδοσιακά ΦΚ μοντέλα, η πληθυσμιακή προσέγγιση μπορεί να αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας λίγες παρατηρήσεις για κάθε άτομο, ακόμα και μία παρατήρηση ανά άτομο είναι χρήσιμη. Επίσης, οι παράμετροι που υπολογίζονται μπορούν να συγκριθούν με προηγούμενες μελέτες, ώστε να εκτιμηθεί η συνέπεια μεταξύ των μελετών και των πληθυσμών. Ένα άλλο πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα που δίνεται στη σύγκριση με άλλα φάρμακα της ίδιας θεραπευτικής κατηγορίας, ως μέσο αξιολόγησης ενός νέου θεραπευτικού μέσου (Mould & Upton, 2012). Μέσω της πληθυσμιακής ΦΚ μπορούν να γίνουν προβλέψεις για ειδικούς πληθυσμούς ξεπερνώντας ηθικά προβλήματα, όπως σε παιδιατρικούς πληθυσμούς. Ακόμα, βρίσκει εφαρμογή στη μελέτη του δοσολογικού σχήματος ενός φαρμάκου, την εξατομίκευση της θεραπείας, αλλά τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει προσπάθειες χρήσης των αποτελεσμάτων του μοντέλου με σκοπό την απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας (Aoki et al., 2017; Bhattaram et al., 2005; Hooker, 2017). Ωστόσο, τα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι απαιτεί χρόνο, είναι μία δυσνόητη διαδικασία και διαφορετικοί αναλυτές μπορούν να καταλήξουν σε διαφορετικά αποτελέσματα (Bonate, 2011).

Σήμερα, η πληθυσμιακή ΦΚ αποτελεί αναπόσπαστο στοιχείο των κανονιστικών αιτήσεων για έγκριση νέων φαρμάκων, καθώς συνοψίζει ΦΚ δεδομένα από πολλές φάσεις της ανάπτυξης του φαρμάκου. Ήδη από το 1999 ο FDA με την 'πρόχειρη' οδηγία του για τις βιομηχανίες (Draft Guidance for Industry) εισήγαγε την πληθυσμιακή ΦΚ σε επίσημο επίπεδο. Η οδηγία αυτή αναβαθμίστηκε τον Ιούλιο του 2019 (FDA, 2019) με σκοπό να βοηθήσει τους επιστήμονες να υποβάλουν αιτήσεις για νέες εφαρμογές φαρμάκων (New Drug Applications, NDAs) και για άδειες βιολογικών προϊόντων (Biologics License Applications, BLAs) χρησιμοποιώντας πληθυσμιακή ΦΚ ανάλυση. Η πρόταση αυτή έγινε καθώς η μέθοδος αυτή ποσοτικοποιεί και εξηγεί τη μεταβλητότητα της συγκέντρωσης των φαρμάκων και ενδέχεται να μειώσει την ανάγκη για αιτήσεις ή υποχρεώσεις μετά την κυκλοφορία του προϊόντος.

### 1.6.1 Παραμετρική πληθυσμιακή φαρμακοκινητική

Σε μία κλινική δοκιμή ένα φάρμακο δίνεται σε έναν συγκεκριμένο πληθυσμό και λαμβάνονται δείγματα από τα βιολογικά υγρά των ατόμων. Έτσι προκύπτουν χρονοσειρές δεδομένα συγκέντρωσης, δηλαδή δεδομένα συγκέντρωσης – χρόνου για κάθε άτομο. Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι που προσδιορίζουν τον πληθυσμό θεωρείται ότι ανήκουν σε γνωστή παραμετρική στατιστική κατανομή, με άγνωστη τη μέση τιμή  $\theta$  και τη διακύμανση  $\Omega$  της παραμέτρου. Το μοντέλο που περιγράφει αυτή τη συνθήκη είναι:

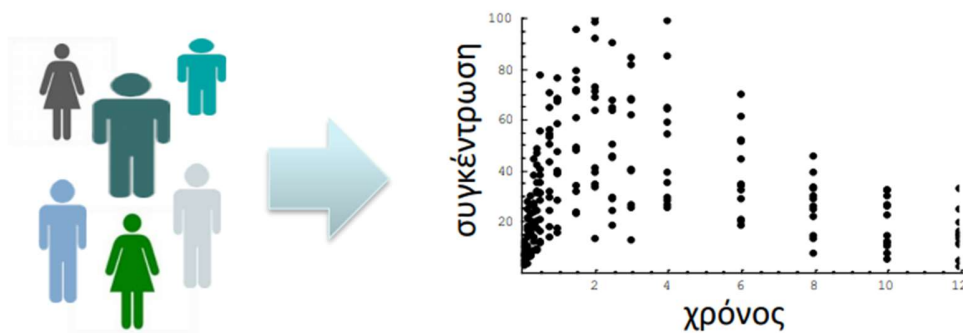
$$C_{ij} = f(\xi_j, t_i) + \varepsilon_{ij} \quad (1.32)$$

Όπου,

$C_{ij}$ , η συγκέντρωση του φαρμάκου για κάθε άτομο  $j$  κάθε χρονική στιγμή  $i$

$\xi_j$ , οι φαρμακοκινητικές παράμετροι για το άτομο  $j$ . Οι παράμετροι συνήθως ακολουθούν κανονική κατανομή με μέση τιμή  $\theta$  και διακύμανση  $\Omega$ .

$\varepsilon_{ij}$ , τα σφάλματα του μοντέλου για κάθε άτομο  $j$  κάθε χρονική στιγμή  $i$ , ονομάζεται υπόλοιπη μεταβλητότητα (residual variability). Αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ των πειραματικών δεδομένων για ένα άτομο και των προβλέψεων του μοντέλου. Ακολουθεί συνήθως κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση  $\sigma^2$ ,  $N(0, \sigma^2)$  (Mould & Upton, 2012).



ΕΙΚΟΝΑ 1.7: Χρονοσειρές δεδομένων συγκέντρωσης – χρόνου για κάθε άτομο.

Η προσαρμογή των δεδομένων, η εκτίμηση των παραμέτρων και της μεταβλητότητάς τους πραγματοποιείται είτε με απλή συγκέντρωση δεδομένων (naïve pooled data), είτε τη μέθοδο των δύο σταδίων (two stage approach), είτε με τα μοντέλα μεικτών επιδράσεων (mixed effects models) (Shen et al., 2007). Με την απλή συγκέντρωση δεδομένων, όλα τα δεδομένα συνδυάζονται σαν να προέρχονται από ένα μόνο άτομο και προσαρμόζονται στο μοντέλο χρησιμοποιώντας τις κλασικές μεθόδους. Η μέθοδος αυτή δεν προτιμάται καθώς δεν αναγνωρίζει τα διάφορα επίπεδα μεταβλητότητας. Χρησιμοποιώντας τη διαδικασία των δύο σταδίων, πραγματοποιείται εκτίμηση των παραμέτρων για κάθε άτομο χρησιμοποιώντας τις κλασικές μεθόδους. Έπειτα, εκτιμώνται οι παράμετροι για τον πληθυσμό (μέση τιμή, διακύμανση) χρησιμοποιώντας τις ατομικές εκτιμήσεις. Η μέθοδος αυτή απαιτεί μεγάλο όγκο δεδομένων, σε άλλη περίπτωση οι υπολογισμοί για τη διακύμανση μπορεί να οδηγήσουν σε αναξιόπιστα αποτελέσματα (Mould & Upton, 2012). Τα μοντέλα μεικτών επιδράσεων είναι τα πιο

διαδεδομένα, καθώς δεν απαιτούν τη χρήση πολλών δεδομένων. Όπως έχει αναφερθεί, τα ΦΚ μοντέλα είναι μη γραμμικά, επομένως αναλύονται στη συνέχεια τα μη γραμμικά πληθυσμιακά ΦΚ μοντέλα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

### 1.6.2 Μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων

---

Στα μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων (Nonlinear Mixed Effect Models, NLMEM) αξιολογούν ταυτόχρονα όλα τα δεδομένα από κάθε άτομο του υπό μελέτη πληθυσμού (Aarons, 1991). Στόχος είναι η εκτίμηση των ΦΚ παραμέτρων και των πηγών μεταβλητότητας στον πληθυσμό. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις αραιών δεδομένων, καθώς τα αραιά δεδομένα δεν αποφασίζουν την εκ των προτέρων εκτίμηση των ατομικών παραμέτρων, αλλά κάθε δεδομένο συμβάλλει στο τελικό μοντέλο. Η μεταβλητότητα εκτιμάται σε όλα τα επίπεδα χρησιμοποιώντας το συγκεκριμένο μοντέλο (Shen et al., 2007).

Ο όρος 'μη γραμμικά' αναφέρεται στο γεγονός ότι η εξαρτημένη μεταβλητή, συνήθως η συγκέντρωση, έχει μη γραμμική σχέση με τις παραμέτρους του μοντέλου και τις ανεξάρτητες μεταβλητές. Ο όρος 'μικτών επιδράσεων' αναφέρεται στις παραμέτρους. Οι παράμετροι που δεν αλλάζουν ανάμεσα στα άτομα ονομάζονται σταθερές επιδράσεις (fixed effects), ενώ αυτές που μεταβάλλονται ανάμεσα στα άτομα ονομάζονται τυχαίες επιδράσεις (random effects) (Mould & Upton, 2013). Ο συνδυασμός σταθερών και τυχαίων επιδράσεων ονομάστηκε μεικτές επιδράσεις.

Τα κύρια χαρακτηριστικά ενός πληθυσμιακού μοντέλου είναι το δομικό μοντέλο, το στατιστικό μοντέλο και το μοντέλο συμμεταβλητών (Mould & Upton, 2012, 2013). Το δομικό μοντέλο περιγράφει την πορεία συγκέντρωσης – χρόνου του φαρμάκου στον πληθυσμό, όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 1.5.1, και ορίζεται από βιβλιογραφικά δεδομένα συνδυαστικά με τις τάσεις των πειραματικών σημείων που διατίθενται για την έρευνα. Καίρια σημεία για την ανάπτυξη του δομικού μοντέλου είναι η επιλογή του σωστού αριθμού διαμερισμάτων και η εύρεση της κινητικής απομάκρυνσης. Εάν ο ρυθμός απομάκρυνσης είναι πρώτης τάξης, τότε είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση του φαρμάκου και η κάθαρση παραμένει σταθερή. Στην περίπτωση μηδενοταξικής απομάκρυνσης ο ρυθμός απομάκρυνσης δεν εξαρτάται από τη συγκέντρωση. Το στατιστικό μοντέλο περιγράφει την ανεξήγητη, τυχαία μεταβλητότητα των παρατηρήσεων, δηλαδή τα random effects. Το μοντέλο συμμεταβλητών περιγράφει τη μεταβλητότητα που προβλέπεται από τα ατομικά χαρακτηριστικά.

#### 1.6.2.1 Στατιστικό μοντέλο

Με μια πρώτη ανάγνωση φαίνεται σαν η πληθυσμιακή ΦΚ να αμελεί τον κάθε ασθενή και να επικεντρώνεται στον πληθυσμό. Η σημασία του ατόμου στον πληθυσμό φανερώνεται μέσω της μεταβλητότητας. Η γνώση της μεταβλητότητας είναι εξαιρετικά σημαντική στην ανάπτυξη ενός ασφαλούς και αποτελεσματικού φαρμάκου, καθώς αν ένα φάρμακο είναι στενού θεραπευτικού εύρους και παρουσιάζει αυξημένη μεταβλητότητα, τότε η πιθανότητα ανεπιθύμητων ή τοξικών αντιδράσεων είναι αυξημένη. Τα πληθυσμιακά ΦΚ μοντέλα παρέχουν την εξαιρετικά σημαντική δυνατότητα ταυτοποίησης της μεταβλητότητας μεταξύ των ατόμων, η οποία έχει αναφερθεί σαν διατομική μεταβλητότητα (BSV) και εκφράζει τις διαφορές στην έκθεση στο ίδιο προϊόν μεταξύ ενός ατόμου και ενός άλλου, αλλά και τη μεταβλητότητα μεταξύ των περιστάσεων, η οποία ονομάζεται ενδοατομική μεταβλητότητα (within subject variability, WSV) και εκφράζει τη διαφορά που παρουσιάζεται στο ίδιο άτομο κατά την έκθεσή του στο ίδιο προϊόν από τη μία δόση στην άλλη (Bonate, 2011; Mould & Upton, 2012).

Η υπόλοιπη μεταβλητότητα (residual variability) συμβολίζεται με  $\epsilon$  (EPS), όπως έχει ήδη αναφερθεί, αφορά τη διαφορά των τιμών του μοντέλου από τα δεδομένα και είναι η μεταβλητότητα που

απομένει αν έχουν εξηγηθεί όλες οι υπόλοιπες πηγές μεταβλητότητας (Bonate, 2011). Η  $\epsilon$  έχει μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση  $\sigma$  (SIGMA) που υπολογίζεται από τα δεδομένα. Με τη μέθοδο της γραμμικής παλινδρόμησης, η υπόλοιπη μεταβλητότητα είναι η μόνη που υπολογίζεται. Στα πληθυσμιακά μοντέλα τα επίπεδα μεταβλητότητας είναι δύο ή και περισσότερα. Συνήθως, το πρώτο επίπεδο αφορά τη διατομική μεταβλητότητα, ενώ το δεύτερο επίπεδο αφορά την κλασσική υπόλοιπη μεταβλητότητα.

Ένα μοντέλο μικτών επιδράσεων απαρτίζεται τόσο από σταθερές ‘fixed’ παραμέτρους όσο και από τυχαίες ‘random’. Οι σταθερές παράμετροι συμβολίζονται με  $\theta$  (THETA), έχουν ίδιες τιμές για κάθε άτομο και υπολογίζονται από τα δεδομένα. Οι τυχαίες παράμετροι συμβολίζονται με  $\eta$  (ETA) και αντιπροσωπεύουν τη διαφορά για ένα άτομο μεταξύ της τιμής της ατομικής παραμέτρου και της πληθυσμιακής παραμέτρου. Οι  $\eta$  ακολουθούν κανονική ή λογαριθμικά κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση  $\Omega$  (OMEGA) (Mould & Upton, 2012). Η διακύμανση  $\Omega$  περιγράφει την κατανομή της διατομικής μεταβλητότητας της παραμέτρου στον πληθυσμό που μελετάται. Σκοπός είναι ο υπολογισμός των σταθερών παραμέτρων  $\theta$ , των τυχαίων παραμέτρων  $\Omega$  και  $\sigma$  και των τυπικών σφαλμάτων αυτών (Δοκουμετζίδης, 2020).

Αν η ατομική παράμετρος  $\xi_j$  ακολουθεί κανονική κατανομή μπορεί να γραφεί ως εξής (Bonate, 2011):

$$\xi_j = \theta + \eta_j \tag{1.33}$$

Όπου,

$\theta$ , η πληθυσμιακή τιμή της παραμέτρου

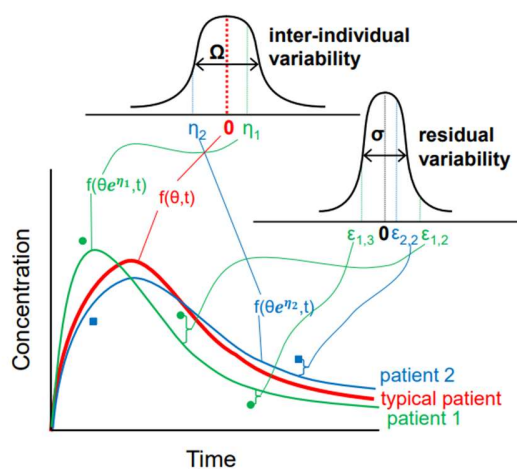
$\eta_j$ , η διαφορά μεταξύ της ατομικής παραμέτρου  $\xi_j$  και της πληθυσμιακής  $\theta$ , η στοχαστική μεταβλητή της διατομικής μεταβλητότητας. Ισχύει,  $\eta_j \sim N(0, \Omega_j)$  και  $\xi_j \sim N(\theta, \Omega_j)$

Αν η παράμετρος  $\xi_j$  ακολουθεί λογαριθμικά κανονική κατανομή τότε το μοντέλο ορίζεται ως εξής (Bonate, 2011):

$$\xi_j = \theta \times \exp(\eta_j) \tag{1.34}$$

$$\log(\xi_j) = \log(\theta) + \eta_j \tag{1.35}$$

Επομένως, το ΦΚ μοντέλο 1.32 μπορεί να γραφεί ως:  $C_{ij} = f(\theta \times e^{\eta_j}, t_i) + \epsilon_{ij}$ .



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.3: Απεικόνιση επιπέδων μεταβλητότητας (Πηγή: Δοκουμετζίδης, 2020).

### 1.6.2.2 Μοντέλο συμμεταβλητών

Η εύρεση των συμμεταβλητών είναι ιδιαίτερα σημαντικό βήμα στην ανάπτυξη ενός πληθυσμιακού ΦΚ μοντέλου. Συμμεταβλητή ονομάζεται κάθε μεταβλητή συγκεκριμένη για ένα άτομο που μπορεί να επηρεάζει τη ΦΚ ή τη ΦΔ του. Οι συμμεταβλητές χωρίζονται σε συνεχής, όπως η ηλικία και κατηγορικές, όπως το φύλο και η φυλή. Η μεταβλητότητα που παρατηρείται οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, οι οποίοι είναι κυρίως άγνωστοι και ποσοτικοποιούνται με στοχαστικό τρόπο (διατομική μεταβλητότητα,  $\Omega$ ), ενώ ορισμένοι μπορεί να είναι γνωστοί όπως η ηλικία, το βάρος, το φύλο. Η σχέση παραμέτρου – συμμεταβλητής εξηγεί γιατί η ΦΚ διαφέρει μεταξύ των ατόμων (Nguyen et al., 2017; Park et al., 2014). Η πληθυσμιακή ΦΚ αναπτύσσει μία ποσοτική σχέση μεταξύ της παραμέτρου και της συμμεταβλητής, ώστε να εξηγήσει ένα μέρος της διατομικής μεταβλητότητας (Mould & Urton, 2012). Δηλαδή, η συνολική BSV της παραμέτρου είναι σταθερή, ωστόσο ένα μέρος της περιγράφεται από τη συμμεταβλητή, ενώ το υπόλοιπο με στοχαστικό τρόπο.

Οι συμμεταβλητές εισάγονται στο δομικό μοντέλο ως προς μια μέση τιμή ( $\overline{cov}$ ), ώστε για τον τυπικό ασθενή που ισχύει  $cov_1 = \overline{cov}$ , η παράμετρος  $\xi$  να ισούται με την πληθυσμιακή τιμή της παραμέτρου, δηλαδή  $\xi = \theta_1$ . Τα συνήθη μοντέλα που χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή των συμμεταβλητών στο δομικό μοντέλο είναι το γραμμικό, το εκθετικό και το δυναμικό για συνεχείς τιμές ανάλογα με τη σχέση που εμφανίζει η μεταβλητή με την παράμετρο και το κατηγορικό μοντέλο για κατηγορικές τιμές (Bonate, 2011).

Στο γραμμικό μοντέλο ισχύει:

$$\xi = (\theta_1 + \theta_2(cov - \overline{cov})) \times \exp(\eta_1) \quad (1.36)$$

Στο εκθετικό μοντέλο ισχύει:

$$\xi = \theta_1 \exp(\theta_2(cov - \overline{cov})) \times \exp(\eta_1) \quad (1.37)$$

Το πρόβλημα του εκθετικού μοντέλου είναι ότι όταν το  $\theta_2$  είναι θετικός μεγάλος αριθμός, τότε το μοντέλο μπορεί γρήγορα να ‘εκραγεί’ και να οδηγήσει σε πολύ αυξημένα σφάλματα.

Το δυναμικό μοντέλο είναι πιο χρήσιμο καθώς ισχύει:

$$\xi = \theta_1 \left(\frac{cov}{\overline{cov}}\right)^{\theta_2} \times \exp(\eta_1) \quad (1.38)$$

Σε αυτή την περίπτωση το  $\theta_1$  αντιπροσωπεύει την παράμετρο  $\xi$  όταν το κλάσμα της συμμεταβλητής ισούται με 1, και το  $\theta_2$  αντιπροσωπεύει την αλλαγή στο  $\ln(\xi)$  ανά μονάδα αλλαγής στο  $\ln\left(\frac{cov}{\overline{cov}}\right)$ .

Για τις κατηγορικές μεταβλητές δεν υφίσταται μέση τιμή, επομένως η μεταβλητή εισάγεται στο μοντέλο ως εξής (Δοκουμετζίδης, 2020):

$$\xi = (\theta_1 + \theta_2(cov)) \times \exp(\eta_1) \quad \text{ή} \quad (1.39)$$

$$\xi = (\theta_1 \times \theta_2^{cov}) \times \exp(\eta_1) \quad (1.40)$$

## 1.7 ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑ

Σύμφωνα με τον FDA γενόσημο φάρμακο ονομάζεται το προϊόν που είναι ίδιο με ένα ήδη κυκλοφορούν φάρμακο όσον αφορά τη μορφή δοσολογίας, την ασφάλεια, την οδό χορήγησης, τα χαρακτηριστικά απόδοσης και τον σκοπό χρήσης (Πηγή: [www.fda.gov](http://www.fda.gov)). Αυτές οι ομοιότητες βοηθούν στην απόδειξη βιοϊσοδυναμίας, δηλαδή στην απόδειξη ότι το γενόσημο φάρμακο λειτουργεί με τον ίδιο τρόπο και να παρέχει το ίδιο κλινικό όφελος με το πρωτότυπο. Τα γενόσημα και τα πρωτότυπα διαθέτουν την ίδια δραστική ουσία, ωστόσο μπορούν να διαφέρουν στο χρώμα, στη γεύση και σε άλλα χαρακτηριστικά που δεν επηρεάζουν την απόδοση και την ποιότητα του προϊόντος.

Βιοϊσοδυναμία (Bioequivalence, BE) ορίζεται σύμφωνα το Code of Federal Regulations<sup>1</sup>, η απουσία σημαντικής διαφοράς στο ρυθμό και την έκταση απορρόφησης στα οποία το δραστικό συστατικό ή το δραστικό τμήμα σε φαρμακευτικά ισοδύναμα ή φαρμακευτικές εναλλακτικές ουσίες καθίστανται διαθέσιμα στη θέση της δράσης του φαρμάκου όταν χορηγούνται στην ίδια μοριακή δόση, υπό παρόμοιες συνθήκες σε κατάλληλα σχεδιασμένη μελέτη (FDA, 2002, 2014). Ο ρυθμός απορρόφησης μετράται μέσω του  $C_{max}$ , δηλαδή της μέγιστης παρατηρούμενης συγκέντρωσης. Η έκταση της απορρόφησης εκτιμάται μέσω του εμβαδού κάτω από την καμπύλη  $C - t$  (AUC). Το  $AUC_t$  μετρά το εμβαδόν μέχρι την τελευταία πειραματική τιμή στην οποία έγινε δειγματοληψία, ενώ το  $AUC_{inf}$  εκτιμά τη συνολική έκθεση του οργανισμού στο φάρμακο από τη στιγμή της χορήγησης μέχρι την απομάκρυνσή του (FDA, 2014; Gerlie, 2007).

Ήδη από το 1992 με οδηγία του ο FDA συστήνει ένα πρότυπο in vivo σχέδιο μελέτης βιοϊσοδυναμίας που βασίζεται στη χορήγηση είτε μιας (single dose) είτε πολλαπλών (multiple doses) δόσεων για το υπό εξέταση (Test, T) και το πρωτότυπο (Reference, R) προϊόν, σε υγιή άτομα σε ξεχωριστές περιπτώσεις, με τυχαία ανάθεση στις δύο πιθανές αλληλουχίες χορήγησης φαρμάκου (FDA, 2001). Η οδηγία προτείνει για τη στατιστική ανάλυση των δεικτών της βιοϊσοδυναμίας (AUC,  $C_{max}$ ) την προσέγγιση της μέσης βιοϊσοδυναμίας, δηλαδή τον υπολογισμό του 90% διαστήματος εμπιστοσύνης για τη διαφορά των δύο αριθμητικών μέσων των λογαριθμοποιημένων τιμών των παραμέτρων για τα σκευάσματα υπό έλεγχο και αναφοράς. Για να θεωρηθούν τα δύο προϊόντα βιοϊσοδύναμα θα πρέπει το απολογαριθμοποιημένο διάστημα εμπιστοσύνης να εμπίπτει εντός των ορίων βιοϊσοδυναμίας που είναι 80 – 125% για το λόγο των μέσων των προϊόντων (FDA, 2001). Αν ένα από τα όρια είναι εκτός αποδεκτού εύρους τα δύο φάρμακα δεν μπορούν να θεωρηθούν βιοϊσοδύναμα.

### 1.7.1 Υπολογισμός Δεικτών Βιοϊσοδυναμίας

Το Γραφείο Γενοσήμων Προϊόντων (Office of Generic Drugs, OGD) του FDA ήδη από το 1996 αποδέχεται οι τιμές των AUC και  $C_{max}$  να υπολογίζονται με μη διαμερισματική ανάλυση (Pentikis et al., 1996). Η NCA απαιτεί λίγες υποθέσεις, ωστόσο έναν μεγάλο αριθμό δειγμάτων ανά άτομο (συνήθως μεταξύ 10 – 20) για τον υπολογισμό των δεικτών βιοϊσοδυναμίας (Dubois et al., 2010). Οι περιορισμοί συνεχίζονται καθώς για τον υπολογισμό του AUC χρησιμοποιείται η μέθοδος των τραπεζίων, γίνεται εκτίμηση του ρυθμού απομάκρυνσης  $\lambda_z$  και το  $C_{max}$  βρίσκεται από τα 'παρατηρούμενα' δεδομένα. Επομένως, οι υπολογισμοί που πραγματοποιούνται μέσω της NCA ενέχουν λάθη.

Η μέθοδος της NCA αντιμετωπίζει πρόβλημα στην επεξεργασία αραιών δεδομένων και παρουσιάζει ιδιαίτερη ευαισθησία σε περιπτώσεις που λείπουν δεδομένα. Ακόμα, δημιουργείται πρόβλημα στην παρεμβολή από την τελευταία μετρούμενη τιμή έως το άπειρο για τον υπολογισμό του  $AUC_{inf}$  (Balakrishnan, 2014; Hooker, 2017).

<sup>1</sup> Ορισμός από 21 CFR § 320.1

Ο Wagner το 1967 (Wagner, 1967) ήταν από τους πρώτους που αναφέρθηκαν στην χρήση των υπολογιστών στη ΦΚ ανάλυση με σκοπό τη γρήγορη ανάλυση δεδομένων και τη ΦΚ προσομοίωση. Ωστόσο, το μοντέλο ως τότε ήταν ατομικό, δηλαδή μοντελοποιούνταν τα δεδομένα κάθε ατόμου ξεχωριστά. Η εύρεση της πληθυσμιακής ΦΚ τη δεκαετία του 1970 από τους Sheiner & Beal και η ανάπτυξη του προγράμματος NONMEM έδωσε την ουσιαστική βάση στην προσέγγιση μέσω μοντέλου.

Όπως έχει αναφερθεί, τα ΦΚ δεδομένα μπορούν να αναλυθούν μέσω μη γραμμικών μοντέλων μικτών επιδράσεων. Το κύριο πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα επεξεργασίας δεδομένων με λίγες πειραματικές μετρήσεις ανά άτομο. Αυτό επιτρέπει να πραγματοποιούνται αναλύσεις σε ασθενείς, στον πληθυσμό – στόχο, στους οποίους η ΦΚ μπορεί να διαφέρει από αυτή των υγείων ατόμων. Σε Ευρωπαϊκή οδηγία που αφορά τα βιοομοειδή προϊόντα, τα οποία συνήθως ακολουθούν μη γραμμική ΦΚ, συστήνεται ο υπολογισμός των χαρακτηριστικών απομάκρυνσης, όπως είναι η κάθαρση, για συγκριτικές ΦΚ μελέτες. Όπως είναι γνωστό, αυτά τα χαρακτηριστικά δεν μπορούν να υπολογιστούν μέσω NCA, επομένως επικρατούν τα NLMEM. Μέσω των μοντέλων, μπορεί να γίνει καλύτερα κατανοητό το βιολογικό σύστημα συγκριτικά με την NCA που αποτελεί μια εμπειρική προσέγγιση, έτσι ερμηνεύονται με μεγαλύτερη επιτυχία τα διφορούμενα αποτελέσματα. Επιπλέον, τα πληθυσμιακά μοντέλα παρέχουν μια μαθηματική εξίσωση και ένα σετ τιμών παραμέτρων που περιγράφουν αναλυτικά την καμπύλη της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο πλάσμα συναρτήσει του χρόνου. Τα NLMEM χρησιμοποιούν όλα τα δεδομένα ταυτόχρονα και εκτιμούν τη μεταβλητότητα και το υπόλοιπο σφάλμα, κάτι που δε συμβαίνει στην NCA (Pentikis et al., 1996).

Η χρήση των NLMEM παραμένει σπάνια στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του φαρμάκου ή στην ανάλυση διασταυρωτών μελετών (Dubois et al., 2010). Υπάρχουν εννιά μελέτες που χρησιμοποιούν τα NLMEM για την ανάλυση βιοϊσοδυναμίας (Dubois et al., 2010; Fredette et al., 2005; Panhard and Mentre, 2005; Hu et al., 2004; Zhou et al., 2004; Maier et al., 1999; Combrink et al., 1997; Pentikis et al., 1996; Kaniwa et al., 1990). Οι Zhou et al., Panhard and Mentre, και Dubois et al. αναλύουν δεδομένα με λίγες μετρήσεις ανά άτομο, ενώ όλοι οι υπόλοιποι με μεγάλο αριθμό μετρήσεων. Οι έρευνες δείχνουν οι αναλύσεις βιοϊσοδυναμίας με NCA και με NLMEM να έχουν παρόμοια αποτελέσματα.

Οι Panhard and Mentre και Dubois et al. κατέληξαν ότι τα NLMEM είναι πιο αποτελεσματικά από την NCA. Συγκεκριμένα οι Dubois et al. συνέκριναν το τεστ βιοϊσοδυναμίας βασισμένο στις ατομικές εκτιμήσεις των AUC και  $C_{max}$  μέσω NCA με αυτό που βασίζεται στις ατομικές Μπαεσιανές εκτιμήσεις με NLMEM. Αξιολόγησαν με προσομοιώσεις την ακρίβεια των μέσων εκτιμήσεων του δείγματος και το σφάλμα τύπου I των δοκιμών βιοϊσοδυναμίας και των δύο προσεγγίσεων. Προσομοίωσαν προφίλ συγκέντρωσης – χρόνου με διαφορετικές ρυθμίσεις μεταβλητότητας κάθε φορά. Ως αποτέλεσμα βρέθηκε η δοκιμή βιοϊσοδυναμίας βασισμένη σε NCA να φέρει ικανοποιητικά αποτελέσματα για υψηλές και χαμηλές τιμές μεταβλητότητας, ωστόσο όταν το υπόλοιπο σφάλμα είναι υψηλό, το σφάλμα τύπου I είναι πολύ πιθανό και όταν ο αριθμός των δειγμάτων ανά άτομο είναι μικρός, οι τιμές υπολογίζονται με μεγάλο bias. Επομένως, προτείνεται η χρήση των NLMEM σε περιπτώσεις μικρού αριθμού δειγμάτων ανά άτομο και υψηλού υπολοίπου σφάλματος.

Οι Pentikis et al., υπολόγισαν τα AUC και  $C_{max}$  με πληθυσμιακά ΦΚ μοντέλα σαν εναλλακτική λύση της NCA. Βρέθηκε οι τελικές εκτιμήσεις και το 90% διάστημα εμπιστοσύνης για τα AUC T/R και  $C_{max}$  T/R να είναι παρόμοια, υποδεικνύοντας την συνέπεια των αποτελεσμάτων, ανεξάρτητα της μεθόδου χρήσης. Προτάθηκε η χρήση σε πιο περίπλοκα μοντέλα και η σύγκριση των μεθόδων, η σύγκριση αυτή θα πραγματοποιηθεί στην παρούσα εργασία. Οι Zhou et al. πραγματοποίησαν τεστ βιοϊσοδυναμίας στις ατομικές Μπαεσιανές εκτιμήσεις (EBEs) του όγκου κατανομής και της σταθερής κατάστασης μέσω της συγκέντρωσης. Δηλαδή, διεξάγονται δοκιμές βιοϊσοδυναμίας σε παραμέτρους που επιδρούν στη θεραπεία. Όλες οι μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι απαιτούνται



αναλύσεις προσομοίωσης με σκοπό την αξιολόγηση των μελετών βιοϊσοδυναμίας με NLMEM και τη σύγκρισή τους με αυτές που πραγματοποιήθηκαν με NCA.

## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η ροπινιρόλη αποτελεί ένα ιδιαίτερα διαδεδομένα αντιπαρκινσονικό φάρμακο που χορηγείται είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με λεβοντόπα. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η πληθυσμιακή φαρμακοκινητική ανάλυση ενός πρωτοτύπου και ενός υπό μελέτη σκευάσματος ροπινιρόλης και η μελέτη της βιοϊσοδυναμίας τους βασισμένοι στα αποτελέσματα του μοντέλου. Ειδικότερα, η μελέτη διενεργήθηκε χρησιμοποιώντας πειραματικά δεδομένα συγκέντρωσης ροπινιρόλης στο αίμα ως προς τον χρόνο για κάθε προϊόν. Τα δεδομένα προήλθαν από διασταυρωτή μελέτη βιοϊσοδυναμίας 2x2 σε 30 υγιείς εθελοντές μετά από απλή χορήγηση ενός δισκίου παρατεταμένης αποδέσμευσης 2 mg από το στόμα, σε συνθήκες νηστείας. Διερευνήθηκε επίσης η επίδραση δημογραφικών χαρακτηριστικών (βάρους, ύψος, BMI, ηλικία, φύλο, φυλή) ως συμμεταβλητές στις φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Βιβλιογραφικά η διαθέσιμη πληροφορία για την πληθυσμιακή φαρμακοκινητική ανάλυση της ροπινιρόλης είναι περιορισμένη.

Η κλασική μελέτη βιοϊσοδυναμίας με μη διαμερισματική ανάλυση αντιμετωπίζει πρόβλημα σε περιπτώσεις αραιών δεδομένων, σε μελέτες που λείπουν δεδομένα, στη διαδικασία παρεμβολής από το τελευταίο πειραματικό σημείο έως το άπειρο και κάνει την υπόθεση για ίσο βάρος όλων των παρατηρήσεων (Hooker, 2017). Στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκε βιοϊσοδυναμία με τα αποτελέσματα της μη διαμερισματικής ανάλυσης των δεδομένων των δύο σκευασμάτων και με τα αποτελέσματα της πληθυσμιακής φαρμακοκινητικής ανάλυσής τους. Τα αποτελέσματα των δύο μελετών συγκρίθηκαν.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι:

- Η απόκτηση πληροφοριών σχετικά με τη φαρμακοκινητική της ροπινιρόλης στον οργανισμό.
- Η διερεύνηση παραγόντων, όπως τα δημογραφικά δεδομένα, που επιδρούν στη φαρμακοκινητική συμπεριφορά του φαρμάκου.
- Ο προσδιορισμός της διατομικής μεταβλητότητας των φαρμακοκινητικών παραμέτρων.
- Η μελέτη βιοϊσοδυναμίας μεταξύ των δύο σκευασμάτων ροπινιρόλης χρησιμοποιώντας την προσέγγιση που βασίζεται στα αποτελέσματα του μοντέλου και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με αυτά της κλασικής βιοϊσοδυναμίας με μη διαμερισματική ανάλυση.

### 3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα πειραματικά δεδομένα της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα ως προς τον χρόνο που διερευνήθηκαν στην παρούσα εργασία προήλθαν από μελέτη βιοϊσοδυναμίας της ροπινιρόλης. Πρόκειται για τυχαιοποιημένη, απλής χορήγησης, διασταυρωτή μελέτη 2x2, δηλαδή δύο περιόδων με δύο αλληλουχίες χορήγησης, η οποία πραγματοποιήθηκε σε 30 ενήλικες υγιείς εθελοντές σε συνθήκες νηστείας. Η μελέτη βιοϊσοδυναμίας εκτελέστηκε ανάμεσα σε δύο σκευάσματα ροπινιρόλης, σε μορφή από του στόματος (per os) χορηγούμενων δισκίων παρατεταμένης αποδέσμευσης 2 mg, το υπό μελέτη φάρμακο (Test, T) και το σκεύασμα αναφοράς (Reference, R) (Requip, Prolonged Release Tablet 2mg, GlaxoSmithKline A.B.E.E (GSK)).

Ακολουθώντας το πρωτόκολλο, οι εθελοντές υπεβλήθησαν σε προκλινικό έλεγχο πριν από τη χορήγηση της πρώτης δόσης ροπινιρόλης, από την ημέρα -15 έως την ημέρα 0. Την ημέρα 1 οι εθελοντές έλαβαν μόνο μία δόση του σκευάσματος T ή R, κατά τη διάρκεια των ημερών 1, 2 και 3 (περίοδος 1), συλλέγονταν δείγματα αίματος από τους εθελοντές ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Από την ημέρα 1 έως την ημέρα 7, οι εθελοντές δεν έλαβαν άλλη δόση του φαρμάκου και αυτή η περίοδος αποτέλεσε την περίοδο έκπλυσης. Την ημέρα 8 ακολούθησε η δεύτερη χορήγηση σκευάσματος ροπινιρόλης με αντίστροφη αλληλουχία, δηλαδή οι εθελοντές που έλαβαν στην πρώτη περίοδο το σκεύασμα T θα λάβει στην δεύτερη περίοδο το σκεύασμα R και αντίστροφα. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στις ημέρες 8, 9 και 10 (Περίοδος 2) ανά τακτά χρονικά διαστήματα, ίδια με αυτά της περιόδου 1.

Οι επιλεχθέντες εθελοντές ήταν ενήλικες άνδρες και γυναίκες ηλικίας 19 – 44 χρόνων οι οποίοι πληρούσαν τις προϋποθέσεις ένταξης στη μελέτη. Οι εθελοντές είχαν δείκτη μάζας σώματος BMI = 19.4 – 29.8 kg/m<sup>2</sup>. Η καταγωγή τους διέφερε καθώς υπήρχαν εθελοντές μαύροι, λευκοί, Αμερικανοί ιθαγενείς ή από την Αλάσκα, Ασιάτες και άλλων εθνικοτήτων. Όλοι έλαβαν το πρωτότυπο και το υπό μελέτη προϊόν με επαρκή περίοδο έκπλυσης μεταξύ των χορηγήσεων. Το εκάστοτε προϊόν χορηγήθηκε από το στόμα με 240 ml νερό μετά από ολονύχτια νηστεία σύμφωνα με το πρωτόκολλο (EMA, 2010). Μετά τη χορήγηση οι εθελοντές δεν έλαβαν τροφή για τουλάχιστον 4 h, ενώ στη συνέχεια χορηγήθηκαν προκαθορισμένα γεύματα.

Τα κριτήρια επιλογής εθελοντών σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Φαρμάκων (World Health Organization, WHO) είναι τα ακόλουθα (WHO, 2017):

- Οι εθελοντές να είναι υγιείς (χρησιμοποιούνται ασθενείς στις μελέτες μόνο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις στις οποίες το φάρμακο ελλοχεύει κινδύνους για την ασφάλεια των εθελοντών).
- Άνδρες και γυναίκες ηλικίας 18 – 55 χρονών.
- Οι γυναίκες να μην κυοφορούν και να μην υπάρχει πιθανότητα κύησης κατά τη διάρκεια της μελέτης.
- Ο δείκτης μάζας σώματος να είναι μεταξύ 18 – 30 kg/m<sup>2</sup>.
- Οι εθελοντές να μην έχουν ιστορικό αλκοολισμού ή εθισμού στα ναρκωτικά.
- Προτιμώνται μη καπνιστές.
- Εργαστηριακές εξετάσεις εντός φυσιολογικών ορίων.
- Λαμβάνεται το ιατρικό ιστορικό για τον έλεγχο της καταλληλότητας των εθελοντές και ελέγχεται η φυσική τους κατάσταση.
- Ο εθελοντής πρέπει να συγκαταθέτει γραπτώς για τη συμμετοχή του στη μελέτη.

### 3.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε ανά τακτά χρονικά διαστήματα με σκοπό τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της ροπινιρόλης στο πλάσμα. Ο συνολικός αριθμός των δειγμάτων που συλλέχθηκαν στη διάρκεια της κάθε περιόδου ήταν 19 και η δειγματοληψία κάθε περιόδου διήρκεσε 60 h με χρόνους μέτρησης στις 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48 και 60 h. Την χρονική στιγμή  $t=0$  h ο εθελοντής λάμβανε το εκάστοτε προϊόν. Συνεπώς, για τη διενέργεια της μελέτης ελήφθησαν συνολικά 38 δείγματα αίματος από τον κάθε εθελοντή, συμπεριλαμβανομένων και των δύο περιόδων.

### 3.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση της ροπινιρόλης ήταν η υψηλή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) σε συνδυασμό με τη φασματοσκοπία μάζας (Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy, LC/MS). Το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantification, LLOQ) για τον προσδιορισμό της ροπινιρόλης στη χρησιμοποιούμενη στήλη ήταν 10 pg/mL.

### 3.4 ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

Χρησιμοποιήθηκαν μη γραμμικά μοντέλα μικτών επιδράσεων με σκοπό την ΦΚ ανάλυση των δεδομένων συγκέντρωσης – χρόνου που συλλέχθηκαν για όλους τους εθελοντές. Στην παρούσα έρευνα έγινε χρήση του MonolixSuite 2019R2 (Lixoft, France) για την ανάπτυξη των πληθυσμιακών ΦΚ μοντέλων των R και T. Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιεί για την εκτίμηση της μεγίστης πιθανοφάνειας των παραμέτρων είναι η στοχαστική προσέγγιση μεγιστοποίησης προσδοκίας (Stochastic Approximation Expectation Maximization, SAEM). Ο SAEM αντικαθιστά το βήμα εκτίμησης της μεγίστης προσδοκίας με μία στοχαστική διαδικασία, η οποία είναι πιο αποτελεσματική και παρουσιάζει βελτιωμένη σύγκλιση στις εκτιμήσεις της μεγίστης πιθανοφάνειας (Chan et al., 2011). Βελτίωση στην εφαρμογή του αλγορίθμου SAEM στο Monolix, είναι η χρήση των ρυθμίσεων Markov Chain Monte Carlo (MCMC) για το βήμα της προσομοίωσης και έτσι επιταχύνεται η διαδικασία σύγκλισης του αλγορίθμου προς τη λύση (Trajnard et al., 2020).

Ο SAEM λειτουργεί σε δύο φάσεις, η πρώτη φάση ονομάζεται εξερευνητική και η δεύτερη φάση εξομάλυνσης (Πηγή: [www.monolix.lixoft.com/tasks/population-parameter-estimation-using-saem](http://www.monolix.lixoft.com/tasks/population-parameter-estimation-using-saem)). Στην πρώτη φάση εξερευνάται η περιοχή της κάθε παραμέτρου και προσεγγίζεται η μεγίστη πιθανοφάνεια, ενώ στη δεύτερη φάση γίνεται η σύγκλιση στη μεγίστη πιθανοφάνεια. Σε κάθε επανάληψη ο SAEM γεννά νέες ατομικές παραμέτρους χρησιμοποιώντας το MCMC και υπολογίζει από αυτές νέες πληθυσμιακές παραμέτρους. Όταν φτάσει στην περιοχή των μεγίστων πιθανοφανειών πραγματοποιεί τυχαία βήματα στην περιοχή και υπολογίζει τις πληθυσμιακές παραμέτρους. Η φάση εξομάλυνσης, ξεκινά από το τελευταίο σημείο που έχει υπολογίσει στη φάση εξερεύνησης, γεννά ατομικές παραμέτρους χρησιμοποιώντας το MCMC και εκτιμά νέες πληθυσμιακές παραμέτρους χρησιμοποιώντας τις ατομικές όλων των προηγούμενων επαναλήψεων της φάσης εξομάλυνσης αυτή τη φορά. Ο αλγόριθμος ονομάζεται στοχαστικός λόγω της δειγματοληψίας ατομικών παραμέτρων. Επιπλέον, δεν απαιτείται ο υπολογισμός της πιθανοφάνειας σε κάθε επανάληψη.

Όλα τα μοντέλα κωδικοποιήθηκαν ως συστήματα διαφορικών εξισώσεων χρησιμοποιώντας τη γλώσσα του Mlxtran. Χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα που εκφράζονται με συνήθεις διαφορικές εξισώσεις, αλλά και μοντέλα με διαφορικές εξισώσεις καθυστέρησης, καθώς το Monolix υποστηρίζει την

επίλυσή τους. Όλες οι παράμετροι έγινε η υπόθεση ότι ακολουθούν λογαριθμοκανονική κατανομή. Οι τυχαίες επιδράσεις ( $\eta$ ) κάθε παραμέτρου ακολουθούν κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και διακύμανση  $\omega^2$ .

Το Monolix είναι μέρος του πακέτου MonolixSuite 2019R2. Μέσα από την μεγάλη βιβλιοθήκη του Monolix μπορούν να αναπτυχθούν NLMEM και να γίνει εκτίμηση των παραμέτρων. Το πρόγραμμα παράγει γραφήματα που βοηθούν στην ανάπτυξη του μοντέλου. Το Datxplore είναι ένα πακέτο οπτικοποίησης των δεδομένων που ανήκει και αυτό το MonolixSuite 2019R2. Παρέχει μία πρώτη ανάγνωση στα δεδομένα, καθώς μπορούν να χωριστούν με βάση τις συμμεταβλητές, να χρωματιστούν και να βρεθούν στοιχεία που θα βοηθήσουν στην μετέπειτα ανάπτυξη του μοντέλου (Traynard et al., 2020).

Επιπλέον, το Monolix μπορεί να συνδεθεί με το πακέτο RStudio και να χρησιμοποιηθεί μέσω R scripts. Μέσω του πακέτου R Rsmix (R speaks Monolix) τα μοντέλα του Monolix μπορούν να αξιολογηθούν μέσω bootstrap (Πηγή: [www.rsmix.webropix.org](http://www.rsmix.webropix.org)). Η συγκεκριμένη ιδιότητα χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για αξιολόγηση των μοντέλων και την εκτίμηση της σταθερότητάς τους. Ακόμα, μέσω της συνάρτησης R Simulx του πακέτου mlxR, η οποία αναγεννά δεδομένα για μοντέλα του Monolix, υπολογίστηκαν οι δείκτες βιοϊσοδυναμίας AUC και  $C_{max}$  χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου, ώστε να πραγματοποιηθεί η ανάλυση βιοϊσοδυναμίας με βάση το μοντέλο (Πηγή: [www.simulx.webropix.org](http://www.simulx.webropix.org)).

Χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Phoenix WinNonlin της Certara για την πραγματοποίηση της μη διαμερισματικής ανάλυσης των δεδομένων για τα δύο σκευάσματα. Το Phoenix υπολογίζει τις τιμές των παραμέτρων από τα ανεπεξέργαστα δεδομένα χρησιμοποιώντας κατάλληλες μεθόδους για αραία ή σειριακά δεδομένα (Πηγή: [www.certara.com/software/phoenix-winnonlin](http://www.certara.com/software/phoenix-winnonlin)). Επομένως, με αυτόν τον τρόπο εκτιμήθηκαν οι δείκτες βιοϊσοδυναμίας AUC και  $C_{max}$  με μη διαμερισματικό τρόπο.

Όπως έχει αναφερθεί, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η απόδειξη βιοϊσοδυναμίας των δύο προϊόντων ροπινιρόλης χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου. Η ανάλυση βιοϊσοδυναμίας πραγματοποιήθηκε και αυτή μέσω του Phoenix. Έγιναν δύο αναλύσεις, τόσο για τους δείκτες που υπολογίστηκαν με μη διαμερισματική ανάλυση, όσο και για τους δείκτες που υπολογίστηκαν με βάση του μοντέλο μέσω του R. Τα αποτελέσματα των δύο βιοϊσοδυναμιών συγκρίθηκαν.

### 3.5 ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

---

Η δομή του σετ δεδομένων περιέχει για κάθε εθελοντή το σύνολο των συλλεγόμενων πληροφοριών, όπως τη δόση χορήγησης, τις μετρούμενες συγκεντρώσεις, τα δημογραφικά του στοιχεία που θα χρησιμοποιηθούν στην εύρεση συμμεταβλητών. Κάθε γραμμή δεδομένων αντιστοιχεί σε ένα άτομο μία χρονική στιγμή και διαφορετικοί τύποι πληροφοριών (δόση, μετρούμενη συγκέντρωση, συμμεταβλητές) καταγράφονται σε διαφορετικές στήλες.

Ανάλογα με τις πληροφορίες που περιέχει κάθε γραμμή θεωρείται, γραμμή χορήγησης (περιέχει πληροφορίες σχετικά με το δοσολογικό σχήμα), γραμμή παρατήρησης (περιέχει μία παρατήρηση), γραμμή χορήγησης – παρατήρησης (περιέχει πληροφορίες τόσο για το δοσολογικό σχήμα όσο και μία παρατήρηση). Στο MonolixSuite2016R1, μια γραμμή δεν θα μπορούσε να είναι τόσο γραμμή δόσης όσο και γραμμή απόκρισης, δύο γραμμές ήταν απαραίτητες για τον καθορισμό μιας πληροφορίας δόσης και μίας παρατήρησης που συμβαίνουν ταυτόχρονα. Συγκεκριμένα, στην έκδοση MonolixSuite2019R2 που χρησιμοποιήθηκε, εάν υπάρχει μη μηδενική δόση και τιμή στη στήλη απόκρισης, την θεωρούμε ως δόση και απόκριση, ωστόσο για την αποφυγή σύγχυσης και τη δυνατότητα εισαγωγής των δεδομένων σε όλες τις εκδόσεις του MonolixSuite, χρησιμοποιήθηκε διαφορετική γραμμή για κάθε συμβάν της ίδιας χρονικής στιγμής (Πηγή: [www.dataset.lixoft.com](http://www.dataset.lixoft.com)).

Η επέκταση του αρχείου πρέπει να είναι της μορφής .csv ή .txt και η πρώτη γραμμή του σετ περιέχει την επικεφαλίδα κάθε στήλης, ωστόσο κατά την εισαγωγή των δεδομένων στις εφαρμογές του MonolixSuite επιλέγεται ο τύπος της κάθε στήλης. Κάποιοι από τους σημαντικότερους τύπους οι οποίοι βρήκαν εφαρμογή και στην παρούσα εργασία είναι οι εξής (Πηγή: [www.dataset.lixoft.com](http://www.dataset.lixoft.com)):

ID: ταυτότητα του ατόμου

TIME: χρόνος χορήγησης ή παρατήρησης

AMOUNT: δόση χορήγησης

CONTINUOUS COVARIATE: συνεχής συμμεταβλητή, η οποία λαμβάνει τιμές σε συνεχή κλίμακα

CATEGORICAL COVARIATE: κατηγορική συμμεταβλητή, η οποία λαμβάνει πεπερασμένο αριθμό τιμών

OBSERVATION: καταγράφει τη μέτρηση για συνεχή, μετρημένα, κατηγορηματικά δεδομένα ή δεδομένα από το χρόνο στο γεγονός (time-to-event).

## 3.6 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

### 3.6.1 Επιλογή δομικού φαρμακοκινητικού μοντέλου

Αρχικά, διάφορα δομικά διαμερισματικά μοντέλα από τη βιβλιοθήκη του Monolix μελετήθηκαν με σκοπό την περιγραφή της κατανομής της ροπινιρόλης για δύο προϊόντα T και R. Από προεπιλογή οι ατομικές παράμετροι και η διατομική μεταβλητότητα των παραμέτρων έχουν λογαριθμοκανονική κατανομή στον πληθυσμό γιατί οι τιμές τους πρέπει να είναι θετικές. Άλλες πιθανές κατανομές είναι η κανονική, η logit – normal και πρέπει να εξεταστούν σε αυτό το βήμα. Στο Monolix η έκφραση των παραμέτρων με λογαριθμοκανονική κατανομή ισοδυναμεί με την εφαρμογή ενός εκθετικού μοντέλου διατομικής μεταβλητότητας. Εξετάστηκε πλήθος μοντέλων, με σκοπό την εύρεση του καταλληλότερου για την περιγραφή της συγκέντρωσης της ροπινιρόλης ως προς το χρόνο για τα T και R.

### 3.6.2 Επιλογή μοντέλου σφάλματος

Ακολουθεί η επιλογή του κατάλληλου μοντέλου σφάλματος με σκοπό την ερμηνεία της υπόλοιπης μεταβλητότητας. Η υπόλοιπη μεταβλητότητα έχει μέση τιμή 0 και τυπική απόκλιση  $\sigma$ . Διάφορα μοντέλα σφάλματος (συνδυαστικό, αναλογικό, προσθετικό) αξιολογήθηκαν με βάση την τιμή της αντικειμενικής συνάρτησης, αλλά και με βάση τα κριτήρια αξιολόγησης και επικύρωσης του μοντέλου.

Από προεπιλογή, το επιλεγμένο μοντέλο σφάλματος είναι το συνδυαστικό, με έναν προσθετικό και έναν αναλογικό όρο. Το συνδυαστικό μοντέλο είναι καλή επιλογή για την πρώτη δοκιμή μοντέλου και στη συνέχεια μπορεί να τροποποιηθεί. Αναφέρεται στο Monolix ως (Traynard et al., 2020):

$$CONC = Cc + (a + bCc) * e \quad (3.1)$$

Όπου,

CONC, οι παρατηρήσεις από το σετ δεδομένων

Cc, το αποτέλεσμα του δομικού μοντέλου

α και β, οι παράμετροι του υπόλοιπου μοντέλου σφάλματος, α ο προσθετικός και β ο αναλογικός όρος

e, μια τυπική κανονική τυχαία μεταβλητή που γεννά το μοντέλο υπόλοιπου σφάλματος

### 3.6.3 Επιλογή συσχετίσεων και συμμεταβλητών

---

Από προεπιλογή, δεν υπάρχουν συσχετίσεις μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων. Οι συσχετίσεις μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων (random effects, η) λαμβάνουν υπ' όψη ότι τα άτομα με αυξημένη τιμή σε μία παράμετρο (για παράδειγμα στην κάθαρση) τείνουν να έχουν αυξημένη ή μειωμένη τιμή και σε μία άλλη παράμετρο (για παράδειγμα στον όγκο) ανεξάρτητα από την επίδραση των συμμεταβλητών στις παραμέτρους αυτές (Traynard et al., 2020). Τα τεστ συσχετίσεων πραγματοποιούνται ώστε να δειχθεί αν οι τυχαίες επιδράσεις συσχετίζονται. Ως μηδενική υπόθεση λαμβάνεται:

$H_0$  : το γινόμενο των επιδράσεων της πρώτης και της δεύτερης παραμέτρου είναι μηδέν  
Η μηδενική υπόθεση αξιολογείται με t-test.

Πριν την εισαγωγή συσχετίσεων στο μοντέλο, η μικρή τιμή p ( $p < 0.05$ ) είναι ένδειξη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων δύο παραμέτρων και πρέπει να συμπεριληφθεί ως μέρος του μοντέλου. Σε αντίθετη περίπτωση, οι προσομοιώσεις του μοντέλου δε θα συσχετίζουν τις τυχαίες επιδράσεις των δύο παραμέτρους, το οποίο δεν είναι αυτό που παρατηρείται χρησιμοποιώντας τα δεδομένα (Πηγή: [www.monolix.lixoft.com/graphics/random-effects-joint-dist](http://www.monolix.lixoft.com/graphics/random-effects-joint-dist)). Μετά την εισαγωγή της συσχέτισης στο μοντέλο, η μεγάλη τιμή p υποδεικνύει ότι δε μπορεί να απορριφθεί η υπόθεση ότι η συσχέτιση μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων είναι μηδενική. Αν η συσχέτιση δεν είναι σημαντικά διαφορετική από το μηδέν, δε χρειάζεται να συμπεριληφθεί στο μοντέλο. Οι σημαντικές συσχετίσεις εμφανίζονται τόσο στα διαγράμματα “Correlation between random effects” όσο και μέσω του correlation t-test αξιολογώντας την τιμή p.

Μετά την επιλογή του δομικού μοντέλου εξετάστηκε η επίδραση των δημογραφικών χαρακτηριστικών ως συμμεταβλητές στις φαρμακοκινητικές παραμέτρους. Από προεπιλογή, στο αρχικό μοντέλο δεν συμπεριλαμβάνονται συμμεταβλητές. Οι συμμεταβλητές εισάγονται μία – μία, ξεκινώντας από τη στατιστικά σημαντικότερη και παρακολουθώντας αν βελτιώνει τα κριτήρια που αναφέρονται στη συνέχεια. Η σταδιακή χειροκίνητη διαδικασία πραγματοποιείται σε απλά μοντέλα, όπου ο χρήστης μπορεί να προσθέτει και να αφαιρεί έναν πεπερασμένο αριθμό συμμεταβλητών και να αξιολογεί τη συμβολή τους στο μοντέλο. Ωστόσο, για πολύπλοκα μοντέλα το Monolix προσφέρει τη δυνατότητα αυτόματης αναζήτησης συμμεταβλητών συγκρίνοντας τα κριτήρια πληροφορίας και τα στατιστικά κριτήρια, με σκοπό να προτείνει το συνδυασμό με τις χαμηλότερες τιμές αυτών. Στη συγκεκριμένη έρευνα, πραγματοποιήθηκε χειροκίνητη αναζήτηση συμμεταβλητών και συσχετίσεων με σκοπό τη αξιολόγηση της κάθε προσθήκης στο μοντέλο.

Για να αξιολογηθεί η προσθήκη μια συμμεταβλητής στο μοντέλο και να γίνει αποδεκτή θα πρέπει να τηρεί τις παρακάτω προδιαγραφές (Bonate, 2011; Karatza & Karalis, 2020; Δοκουμετζίδης, 2020):

- Το σχετικό τυπικό σφάλμα της νέας μεταβλητής  $\beta$  (beta) που θα υπολογιστεί να είναι χαμηλό, ώστε η μεταβλητή αυτή να υπολογίζεται με αξιοπιστία.
- Η διατομική μεταβλητότητα ( $\omega$ ) της παραμέτρου στην οποία προστέθηκε μία συμμεταβλητή, θα πρέπει να μειώνεται, ώστε να ερμηνεύεται μέρος αυτής από τη συμμεταβλητή.
- Χαμηλές τιμές p τόσο στο Pearson's correlation test, το οποίο ελέγχει αν η συσχέτιση των δύο παραμέτρων είναι σημαντική, όσο και στο Wald test, που ελέγχει αν η τιμή της μεταβλητής  $\beta$  είναι σημαντικά διαφορετική από το μηδέν. Τα αποτελέσματα των δύο τεστ συχνά είναι αντικρουόμενα, ωστόσο θα πρέπει κάθε περίπτωση να εξετάζεται ξεχωριστά και σε συνάρτηση με τη συνολική συμπεριφορά του μοντέλου στην εκάστοτε προσθήκη.
- Το -2LL θα πρέπει να μειώνεται τουλάχιστον κατά 3.84 για την προσθήκη μίας παραμέτρου με  $\alpha = 0.05$ .

### 3.6.4 Αξιολόγηση και επικύρωση μοντέλου

Η ικανότητα του μοντέλου να περιγράφει τα πειραματικά δεδομένα αξιολογείται με βάση στατιστικά στοιχεία και γραφήματα καλής προσαρμογής. Η ακρίβεια υπολογισμού των παραμέτρων εκτιμάται με βάση το σχετικό τυπικό σφάλμα (%RSE) (Karatza & Karalis, 2020). Δοκιμάζοντας πλήθος δομικών μοντέλων, μοντέλων σφάλματος και συμμεταβλητών με σκοπό την εκλογή του μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα κριτήρια με σκοπό τη σύγκριση μεταξύ των μοντέλων και την αξιολόγησή τους (Δοκουμετζίδης, 2020):

- Η επιτυχής ολοκλήρωση του αλγορίθμου SAEM.
- Οι λογικές τιμές των πληθυσμιακών παραμέτρων ( $\theta$ ) οι οποίες μπορούν να παρατηρηθούν στον οργανισμό, λογικές τυπικές αποκλίσεις των πληθυσμιακών παραμέτρων ( $\omega$ ), καθώς και μικρά ποσοστά σχετικού τυπικού σφάλματος (% R.S.E) της κάθε πληθυσμιακής παραμέτρου και της διατομικής μεταβλητότητας αυτών.
- Τα μοντέλα συγκρίνονται με βάση τα αριθμητικά κριτήρια. Τα κριτήρια πληροφορίας AIC και BIC χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση μη φωλιασμένων μοντέλων και το στατιστικό κριτήριο  $-2LL$  για την επιλογή μεταξύ φωλιασμένων μοντέλων, όπως η σύγκριση μοντέλων μετά την προσθήκη συμμεταβλητών. Η μείωση στα κριτήρια μεγαλύτερη από 3.84 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική, για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$ .
- Η αξιολόγηση μέσω των γραφημάτων παρατηρήσεων (Observation, OBS) συναρτήσεως των προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο ατομικών συγκεντρώσεων (Individual Predicted, IPRED). Με αυτόν τον τρόπο απεικονίζεται η έκταση της απόκλισης της μέσης συμπεριφοράς, η οποία υπολογίζεται με βάση όλα τα πειραματικά των εθελοντών, από τη συμπεριφορά του κάθε εθελοντή ξεχωριστά. Η καταλληλότητα του μοντέλου εκτιμάται από παρατηρούμενες αποκλίσεις από την ευθεία  $y=x$ .
- Το γράφημα ατομικών σταθμισμένων υπολοίπων (Individual Weighted Residuals, IWRES) συναρτήσεως των τιμών των προβλεπόμενων ατομικών συγκεντρώσεων (Individual Predicted, IPRED). Χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του μοντέλου υπόλοιπης μεταβλητότητας. Αν τα ατομικά σταθμισμένα υπόλοιπα βρίσκονται ομοιόμορφα και τυχαία καταναμημένα γύρω από το μηδέν και σε απόσταση 2 τυπικών αποκλίσεων από αυτό ( $\pm 2 SD$ ), το μοντέλο θεωρείται επαρκές (Mould & Upton, 2013).
- Η επικύρωση του μοντέλου με VPC και bootstrap. Το διάγραμμα οπτικού ελέγχου προβλεπτικής ικανότητας (VPC) εκφράζει την ικανότητα του μοντέλου να περιγράφει τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξή του. Όταν τα διαστήματα εμπιστοσύνης των εκατοστημορίων των προσομοιωμένων δεδομένων εμπεριέχουν τα εκατοστημόρια των παρατηρήσεων το μοντέλο θεωρείται κατάλληλο. Μέσω του bootstrap, όπως έχει αναφερθεί στη θεωρία, δημιουργούνται νέα σετ δεδομένων με τυχαία δειγματοληψία από το αρχικό σετ. Υπολογίζοντας την τυπική απόκλιση (που έχει τη σημασία τυπικού σφάλματος) μέσω bootstrap ελέγχεται η αντοχή του μοντέλου και η σταθερότητά του. Για την εφαρμογή του bootstrap χρησιμοποιήθηκε το πακέτο του R (Rsmix), το οποίο συνδέει την R με το Monolix και η εντολή bootstrap.

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Στην εικόνα 4.1 απεικονίζεται ένα μέρος του σετ δεδομένων του πρωτοτύπου προϊόντος σε αρχείο excel.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	ID	TIME (h)	AMT (ng)	CONC (ng/L)	PERIOD	SEQ	SEX	AGE (years)	H (cm)	W (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	RACE
2	1	0	2000000	.	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
3	1	0	.	0.0	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
4	1	1	.	175.4	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
5	1	2	.	661.9	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
6	1	3	.	955.0	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
7	1	4	.	914.0	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
8	1	5	.	1037.2	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
9	1	6	.	951.2	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
10	1	7	.	930.1	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
11	1	8	.	1116.6	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
12	1	9	.	1096.6	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
13	1	10	.	1020.7	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
14	1	12	.	1273.2	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
15	1	14	.	1286.3	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
16	1	16	.	1264.3	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
17	1	18	.	1137.6	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
18	1	24	.	658.4	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
19	1	36	.	100.1	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
20	1	48	.	32.0	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
21	1	60	.	20.1	2	1	M	36	171.0	67.5	23.1	1
22	2	0	2000000	.	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
23	2	0	.	0.0	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
24	2	1	.	234.7	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
25	2	2	.	903.9	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
26	2	3	.	1144.9	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
27	2	4	.	1291.4	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
28	2	5	.	1420.3	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1
29	2	6	.	1089.1	1	2	F	19	158.0	54.7	21.9	1

ΕΙΚΟΝΑ 4.1: Καταγραφή δεδομένων πρωτοτύπου.

Παρατηρείται ότι στους 30 εθελοντές τη χρονική στιγμή  $t=0$  h χορηγήθηκαν  $2 \cdot 10^6$  ng σκευάσματος ροπινιρόλης. Το σύνολο δεδομένων περιέχει μετρήσεις συγκέντρωσης ανά τακτά χρονικά διαστήματα για 60 h μετά τη χορήγηση σε κάθε εθελοντή. Επιπλέον, διατίθενται δημογραφικές πληροφορίες που θα χρησιμοποιηθούν ως συμμεταβλητές όπως το φύλο, η ηλικία, το ύψος, το βάρος, ο δείκτης μάζας σώματος και η φυλή. Οι πληροφορίες αυτές εκφράζονται σε στήλες:

ID: ταυτότητα του εθελοντή

TIME: ο χρόνος χορήγησης ή παρατήρησης σε ώρες (h)

AMT: η δόση χορήγησης σε ng

CONC: η παρατηρούμενη συγκέντρωση σε ng/L

PERIOD: οι περίοδοι της μελέτης. Κατηγορική μεταβλητή που λαμβάνει τις τιμές 1 και 2

SEQ: η σειρά χορήγησης (sequence), δηλαδή η σειρά με την οποία ο κάθε εθελοντής παίρνει τα σκευάσματα. Κατηγορική μεταβλητή που λαμβάνει τιμές 1 και 2, όπου TR=1 και RT=2

SEX: το φύλο του ατόμου, το οποίο παίρνει τιμές F για τις γυναίκες και M για τους άνδρες

AGE: η ηλικία του ατόμου σε έτη ( $\gamma$ )

H: το ύψος του ατόμου σε εκατοστά (cm)

W: το βάρος του ατόμου σε κιλά (kg)



BMI: ο δείκτης μάζας σώματος του ατόμου σε kg/m<sup>2</sup>

RACE: η φυλή του ατόμου η οποία ορίζεται ως, 1: Μαύρη φυλή, 2: Λευκή φυλή, 3: Αμερικάνοι ιθαγενείς ή από την Αλάσκα, 4: Ασιάτες, 5: Άλλο

Το Datxplore οπτικοποιεί τα δεδομένα και παρέχει ενδείξεις για το δομικό μοντέλο, τα στοιχεία του στατιστικού μοντέλου αλλά και πιθανές σχέσεις μεταξύ των μεταβλητών. Εισάγοντας τα δεδομένα στο Datxplore επιλέγεται ο τύπος κάθε στήλης, ID ως ID, TIME ως TIME, AMT ως AMOUNT, CONC ως OBSERVATION, PERIOD, SEQ, SEX, RACE ως CATEGORICAL COVARIATE και AGE, H, W, BMI ως CONTINUOUS COVARIATE.

Αρχικά, τα βασικά δημογραφικά χαρακτηριστικά που αφορούν το κάθε άτομο είναι κοινά για T και R, εφόσον η ίδια ομάδα εθελοντών έχει λάβει και τα δύο σκευάσματα. Στους πίνακες 4.1 και 4.2 φαίνονται στοιχεία για τις συνεχείς και τις κατηγορικές συμμεταβλητές των δεδομένων. Όπως παρατηρείται, το δείγμα εθελοντών δεν είναι απόλυτα ομοιογενές, καθώς ο αριθμός των ανδρών που συμμετείχαν στην έρευνα είναι περίπου ο τριπλάσιος συγκριτικά με αυτό τον γυναικών. Γενικά, έχει αναφερθεί ότι οι γυναίκες εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης φαρμάκου στο πλάσμα λόγω της διαφοράς στον όγκο κατανομής, στην περιεκτικότητα του νερού στο σώμα, στην κάθαρση λόγω νεφρικής ροής και μεταβολικής δραστηριότητας και λόγω της διαφοράς στο βάρος (Carrasco-Portugal & Flores-Murrieta, 2011). Στον αντίποδα, έχει βρεθεί οι φαρμακοκινητικές παράμετροι να επηρεάζονται από την γαστρεντερική ροή του αίματος. Οι γυναίκες εμφανίζουν χαμηλότερη ροή αίματος οργάνων και επομένως θεωρητικά χαμηλότερη έκταση και ρυθμό απορρόφησης, ωστόσο η θεωρία αυτή δεν έχει επιβεβαιωθεί.

Ακόμη, οι μαύροι εθελοντές αποτελούσαν πάνω από το 50% του συνολικού αριθμού εθελοντών. Ο μεταβολισμός του εντέρου μέσω του κυτοχρώματος P450 (CYP) 3A4 ή η μεταφορά από Ρ-γλυκοπρωτεΐνη μπορεί να επηρεάσει τη βιοδιαθεσιμότητα. Έχει βρεθεί ότι η βιοδιαθεσιμότητα της κυκλοσπορίνης είναι χαμηλότερη σε μαύρους εθελοντές συγκριτικά με Καυκάσιους και Ισπανόφωνους, επομένως αφού και η ροπινιρόλη μεταβολίζεται σε ένα ποσοστό από το ίδιο ένζυμο ενδεχομένως η ανομοιογένεια των εθελοντών να επηρεάσει το τελικό αποτέλεσμα (Johnson, 1997; Schwab et al., 2002).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1: Δημογραφικά στοιχεία συνεχών μεταβλητών εθελοντών.

	MIN	Q1	MEDIAN	Q3	MAX	SD
AGE	19	24	31.5	38	44	7.83
BMI	19.4	23.1	24.7	27.3	29.8	2.67
H	158	167	171	178	188	7.98
W	54.7	67.1	75.35	82.6	94.8	10.25

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2: Δημογραφικά στοιχεία κατηγορικών μεταβλητών εθελοντών.

	1	2	3	4	5		F	M
RACE	17	6	2	3	2	SEX	8	22

#### 4.1.1 Ανάλυση Δεδομένων Πρωτοτύπου

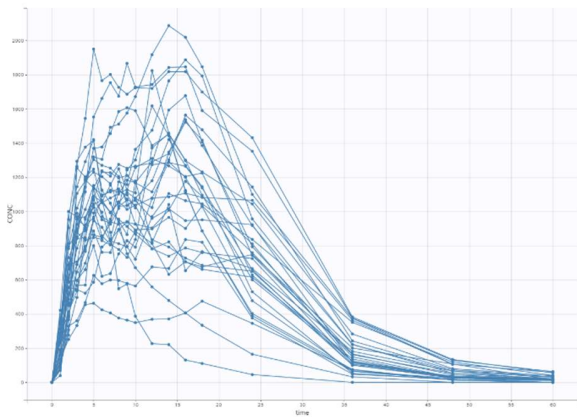
---

Στο διάγραμμα 4.1 (α) απεικονίζεται το σύνολο των παρατηρήσεων του R συναρτήσει του χρόνου. Παρατηρώντας μεμονωμένα τα δεδομένα των εθελοντών διαπιστώνεται η ύπαρξη διπλής κορυφής απορρόφησης στην πλειονότητά τους (Διάγραμμα 4.1 β,γ). Το φαινόμενο αυτό δεν είναι πάντα εμφανές (Διάγραμμα 4.1 δ).

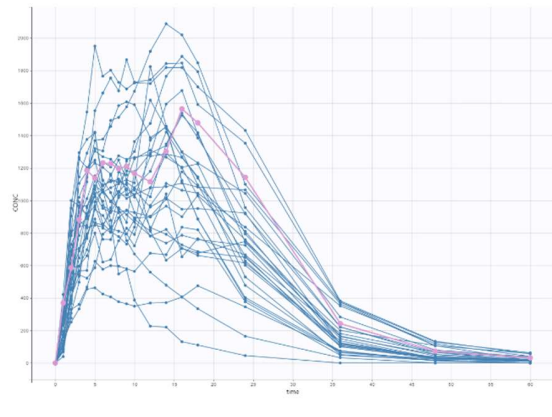
Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψε η ύπαρξη διπλής κορυφής απορρόφησης (double peak phenomenon), φαινόμενο που είχε παρατηρηθεί και στην εργασία των Tompson & Vearer, οι οποίοι ανέλυσαν και το πρωτότυπο προϊόν της GSK το οποίο μελετάται και στην παρούσα εργασία. Βιβλιογραφικά έχει βρεθεί ότι η διπλή κορυφή εξηγείται λόγω εντεροηπατικής ανακυκλοφορίας, λόγω καθυστερημένης γαστρικής κένωσης ή λόγω προβλημάτων (μεταβλητότητα) στην απορρόφηση (Godfrey et al., 2009; Metsugi et al., 2008; Mirfazaelian & Mahmoudian, 2006). Η εντεροηπατική ανακυκλοφορία αναφέρεται στην κυκλοφορία της χολής από το ήπαρ, στο οποίο παράγεται, στο λεπτό έντερο, που βοηθά στην πέψη των λιπών και άλλων ουσιών, πίσω στο ήπαρ (Karatza & Karalis, 2020). Με αυτή την εξήγηση της διπλής κορυφής απορρόφησης, η πρώτη κορυφή θα πρέπει να είναι η μεγαλύτερη, κάτι το οποίο δεν ισχύει σε όλες τις περιπτώσεις. Εξετάστηκαν γι' αυτόν τον λόγο πλήθος μοντέλων με πρώτη και μηδενική τάξη απορρόφησης, καθυστερούμενο ή όχι χρόνο εμφάνισης της συγκέντρωσης.

Ο ρυθμός και η έκταση της απορρόφησης του φαρμάκου εξαρτάται από το χρόνο που ξοδεύει στο στομάχι και κατά μήκος του λεπτού εντέρου μετά την από του στόματος χορήγηση. Ο χρόνος αυτός καθορίζεται από τη γαστρική κένωση και την γαστρεντερική κινητικότητα. Η απορρόφηση των φαρμάκων από το στομάχι συνήθως είναι πολύ μικρή, επομένως παραμένουν στο στομάχι ώστε να περάσουν στο λεπτό έντερο και στη συνέχεια να απορροφηθούν. Για φάρμακα με υψηλή διαλυτότητα στο νερό και υψηλή διαπερατότητα, η γαστρική κένωση είναι ιδιαίτερα κρίσιμος παράγοντας για την απορρόφησή τους, καθώς ένα μέρος της δόσης τους μπορεί να καθυστερήσει στο στομάχι και αυτό ονομάζεται καθυστερούμενη γαστρική κένωση (Metsugi et al., 2008). Η καθυστερούμενη γαστρική κένωση έχει ως αποτέλεσμα ένα ασυνήθιστο προφίλ C – t στο πλάσμα και ενδεχομένως πολλαπλές κορυφές απορρόφησης. Η περίπτωση αυτή ωστόσο είναι αρκετά σπάνια (Godfrey et al., 2009).

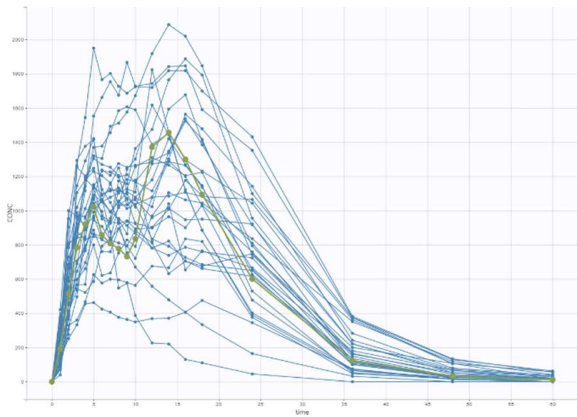
Ο συνηθέστερος λόγος εμφάνισης διπλής κορυφής απορρόφησης είναι η μεταβλητότητα στην απορρόφηση σε διάφορες περιοχές του εντέρου. Παρατηρείται χαμηλή απορρόφηση στη νήστιδα συγκριτικά με τον δωδεκαδάκτυλο και τον ειλεό. Αυτή η εξήγηση είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη σε περιπτώσεις εμφάνισης διπλής κορυφής απορρόφησης στα δεδομένα C – t στο πλάσμα, καθώς έχει μια φυσιολογική μετάφραση. Στη συγκεκριμένη περίπτωση απαιτείται η εκτίμηση πλήθους μεταβλητών αυξάνοντας την πιθανότητα σφάλματος στις εκτιμήσεις. Στη συγκεκριμένη εργασία γίνεται η υπόθεση ότι η διπλή κορυφή απορρόφησης εμφανίζεται λόγω μεταβλητότητας στην απορρόφηση και/ή λόγω χαρακτηριστικών στη μορφοποίηση, όπως η ύπαρξη πολλών στιβάδων.



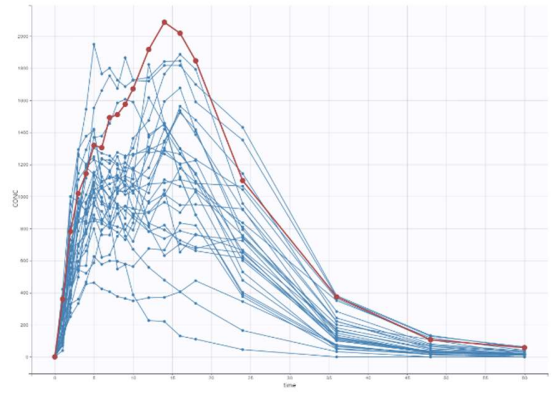
(α)



(β)



(γ)

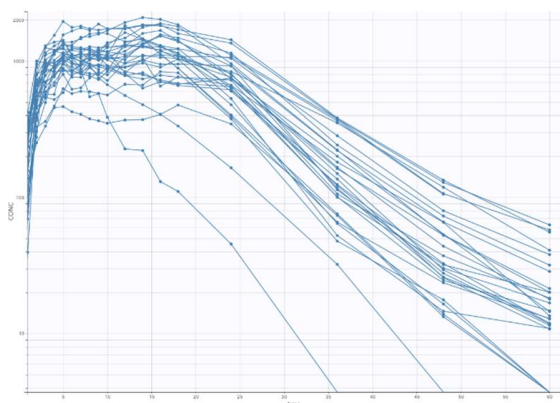


(δ)

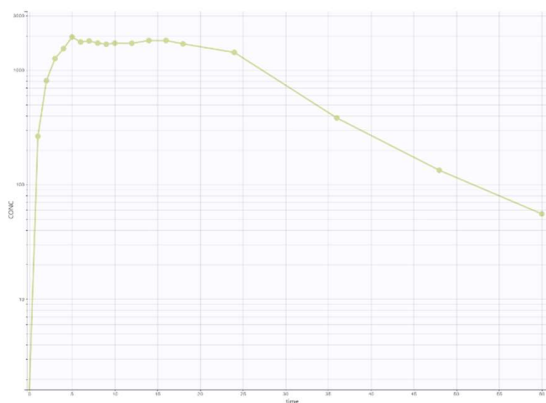
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.1: (α) Απεικόνιση των δεδομένων  $C-t$  του  $R$ . (β)-(γ) Εμφάνιση διπλής κορυφής απορρόφησης σε εθελοντές 20 και 26 που έλαβαν το  $R$ . (δ) Απουσία διπλής κορυφής απορρόφησης σε εθελοντή 14 που έλαβε το  $R$ .

Με σκοπό τον αρχικό προσδιορισμό των κινητικών ιδιοτήτων του σκευάσματος, χρησιμοποιείται λογαριθμική κλίμακα στον άξονα  $y$  της συγκέντρωσης (Διάγραμμα 4.2 α). Διαπιστώνεται γραμμική αύξηση της συγκέντρωσης τους πρώτους χρόνους μετά τη χορήγηση, ενώ στη συνέχεια παρατηρείται πλατό και ακολουθεί γραμμική απομάκρυνση της ροπονιρόλης σε μεγαλύτερους χρόνους. Μελετώντας καλύτερα τη φάση απομάκρυνσης για κάθε άτομο, ως επί το πλείστον εμφανίζεται γραμμική φάση απομάκρυνσης (Διάγραμμα 4.2 β), ωστόσο ορισμένοι εθελοντές έχουν απομάκρυνση δύο κλίσεων (Διάγραμμα 4.2 γ), χαρακτηριστικό του διδιαμερισματικού μοντέλου.

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΙΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ ΥΓΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

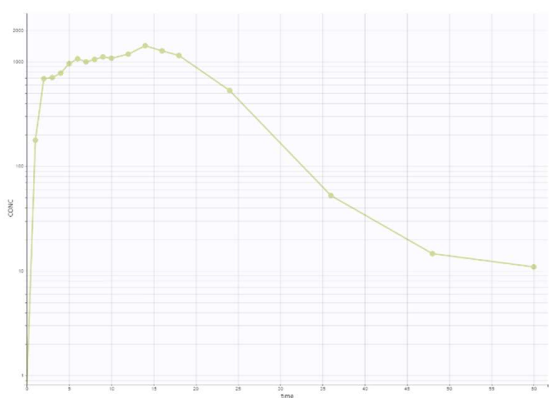


(α)



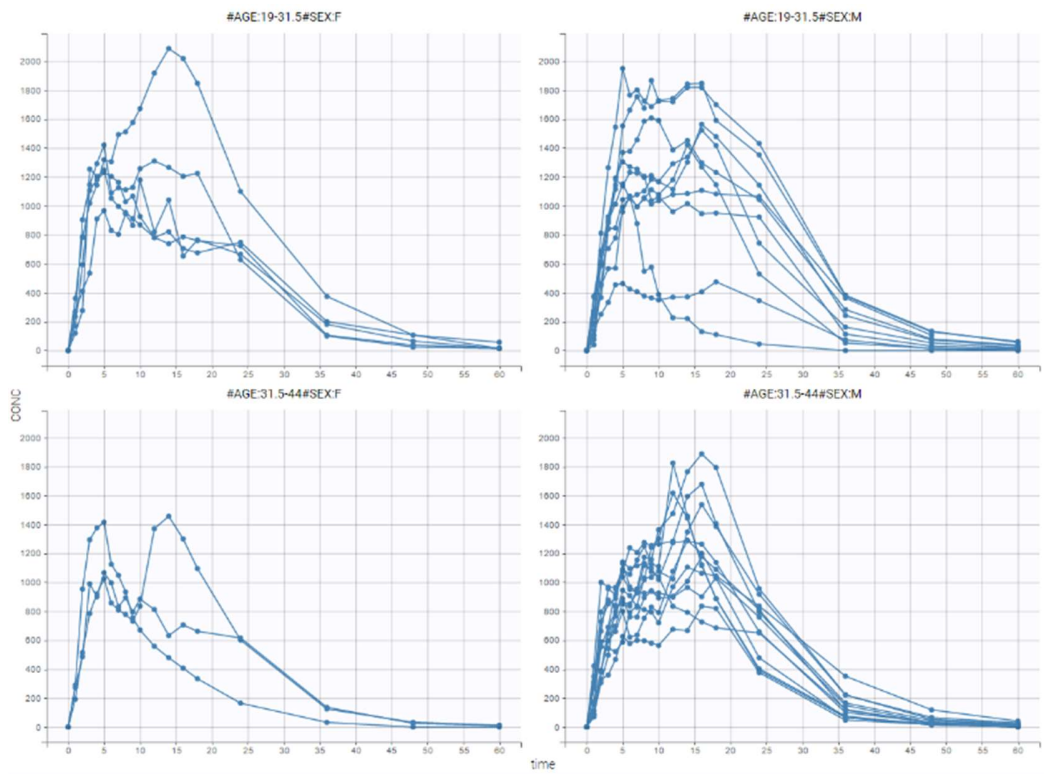
(β)

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.2: (α) Απεικόνιση των δεδομένων  $\log C-t$  του R. (β) Απεικόνιση των δεδομένων  $\log C-t$  για τον εθελοντή 8. (γ) Απεικόνιση των δεδομένων  $\log C-t$  για τον εθελοντή 28.



(γ)

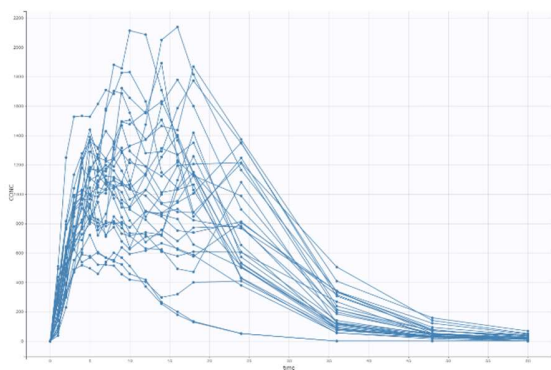
Διαχωρίζοντας τα δεδομένα του πρωτοτύπου με βάση το φύλο και την ηλικία εμφανίζεται οι γυναίκες κάθε ηλικίας να έχουν χαμηλότερο  $C_{max}$  και μικρότερη έκταση απορρόφησης συγκριτικά με τους άνδρες, επιβεβαιώνοντας ενδεχομένως την υπόθεση ότι η μειωμένη έκταση απορρόφησης των γυναικών οφείλεται στη χαμηλότερη οργανική ροή αίματος ή στη διαφορά βάρους (Carrasco-Portugal & Flores-Murrieta, 2011). Επιπλέον, τους μεγαλύτερους άνδρες, ηλικίας 31.5 – 44 χρονών, το  $C_{max}$  εμφανίζεται αργότερα συγκριτικά με τους νεότερους, έχοντας έτσι μεγαλύτερη δεύτερη κορυφή απορρόφησης. Επομένως, το φύλο και η ηλικία φαίνεται να επηρεάζουν το προφίλ συγκέντρωσης – χρόνου. Αξίζει να σημειωθεί ότι λόγω του μικρού αριθμού εθελοντών γυναικών η επίδραση του φύλου ενδεχομένως να μην είναι τόσο αξιόπιστη.



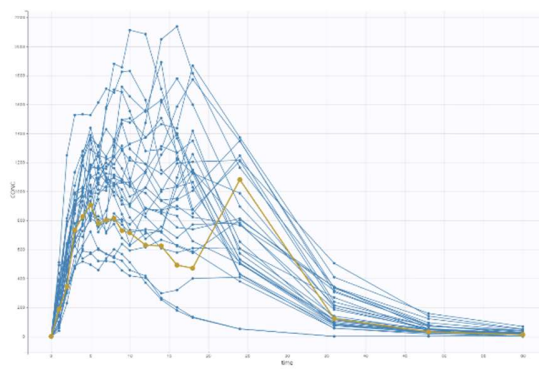
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.3: Δεδομένα C-t του R διαχωρισμένα με βάση το φύλο και τη μέση ηλικία των εθελοντών.

#### 4.1.2 Ανάλυση Δεδομένων Υπό Εξέταση Προϊόντος

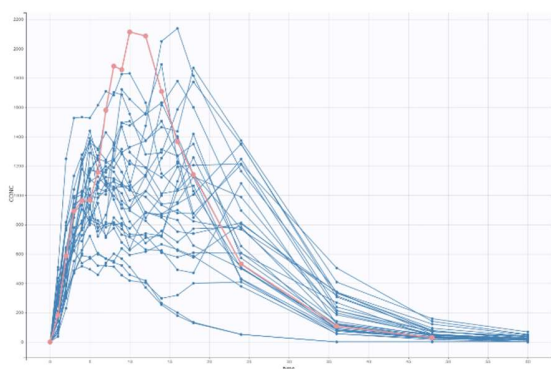
Στη συνέχεια ακολούθησε η ανάλυση των δεδομένων του υπό εξέταση σκευάσματος αναλογικά με την παραπάνω διαδικασία που ακολουθήθηκε και για το πρωτότυπο προϊόν. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.3, παρατηρείται και στο T διπλή κορυφή απορρόφησης σε δεδομένα εθελοντών, ωστόσο το φαινόμενο αυτό δεν ισχύει για όλους τους εθελοντές (Διάγραμμα 4.3 γ) αλλά για την πλειοψηφία αυτών.



(α)



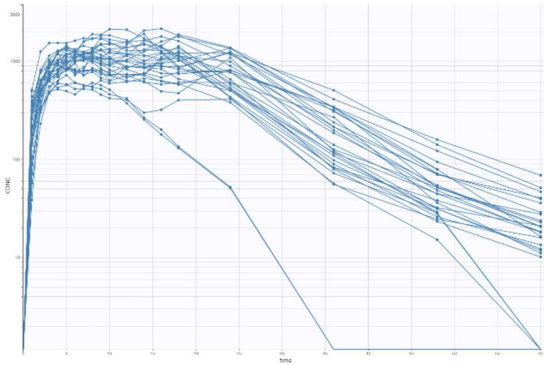
(β)



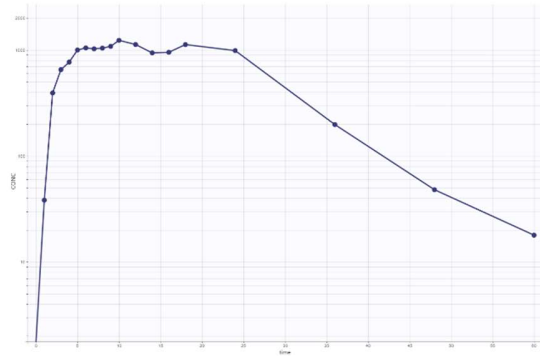
(γ)

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.4: (α) Απεικόνιση των δεδομένων  $C-t$  του T. (β) Έμφαση στα δεδομένα  $C-t$  για τον εθελοντή 30. (γ) Έμφαση στα δεδομένα  $C-t$  για τον εθελοντή 16.

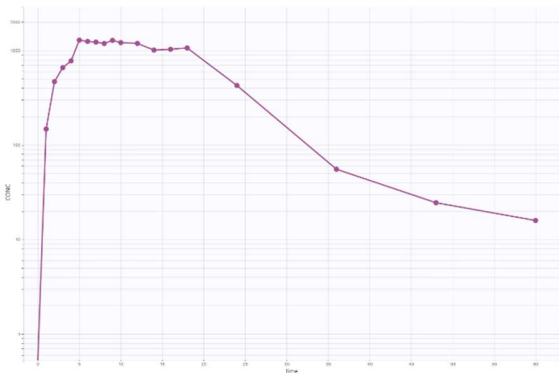
Με σκοπό την εκτίμηση της κινητικής του  $T$  έγινε η απεικόνιση  $\log C - t$  (Διάγραμμα 4.5). Όπως και στο  $R$ , παρατηρείται ότι η απομάκρυνση είναι γραμμική, ωστόσο ορισμένοι εθελοντές εμφανίζουν απομάκρυνση δύο κλίσεων.



(α)



(β)



(γ)

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.5: (α) Απεικόνιση των δεδομένων  $\log C - t$  του  $T$ . (β) Δεδομένα  $\log C - t$  για τον εθελοντή 21. (γ) δεδομένα  $\log C - t$  για τον εθελοντή 18.

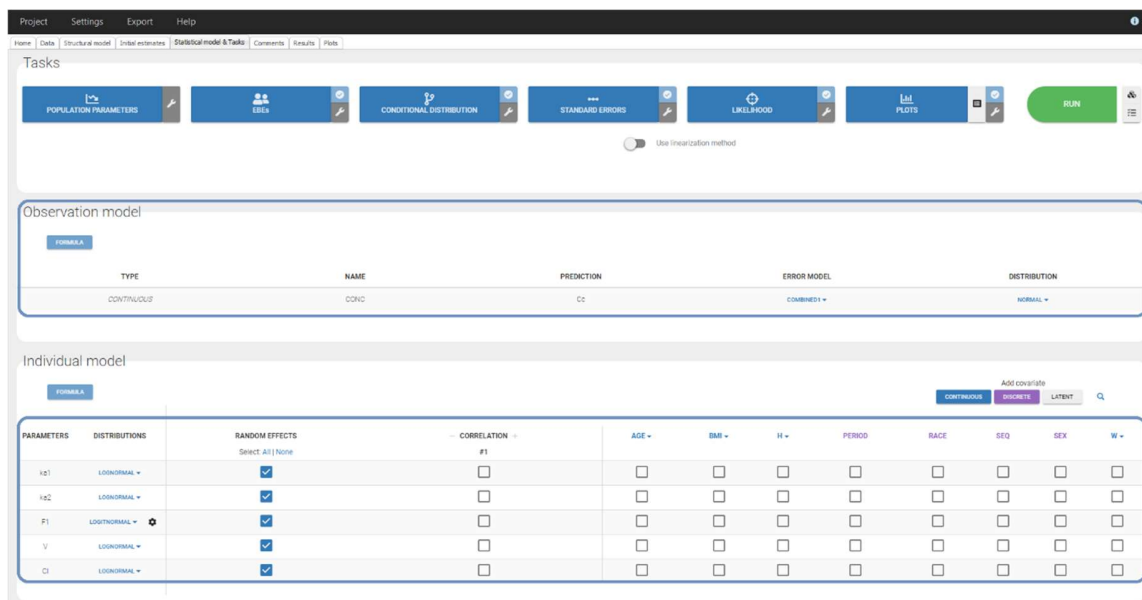
## 4.2 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΥ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

### 4.2.1 Ανάπτυξη μοντέλου πρωτοτύπου

#### 4.2.1.1 Διερεύνηση δομικού μοντέλου πρωτοτύπου

Το πρώτο βήμα είναι ο ορισμός ενός δομικού μοντέλου. Όπως βρέθηκε από το Datxplore, τα δεδομένα εμφανίζουν διπλή κορυφή απορρόφησης. Η βιβλιοθήκη PK double absorption περιέχει όλους τους συνδυασμούς δύο μικτών απορροφήσεων με διαφορετικούς τύπους και καθυστερήσεις. Οι απορροφήσεις μπορούν να καθοριστούν ως ταυτόχρονες ή διαδοχικές και με προκαθορισμένη ή ανεξάρτητη σειρά.

Αρχικά, εξετάζεται το μονοδιαμερισματικό μοντέλο χωρίς προσθήκη συμμεταβλητών. Μονοδιαμερισματικό ονομάζεται το μοντέλο στο οποίο γίνεται η υπόθεση ότι το σώμα είναι μια κινητικά ομοιογενείς μονάδα και η κατανομή του φαρμάκου στο σώμα είναι ακαριαία (Savic et al., 2007). Ως πρώτο υπό εξέταση μοντέλο (R\_model1) επιλέγεται από τη βιβλιοθήκη του Monolix το μοντέλο το οποίο περιγράφει ένα μονοδιαμερισματικό μοντέλο με κινητική πρώτης τάξης και χωρίς χρονική καθυστέρηση, τόσο στην πρώτη όσο και στη δεύτερη απορρόφηση και γραμμική απομάκρυνση. Στη συνέχεια, ορίζονται ως αρχικές τιμές, λογικές τιμές μεταβλητών οι οποίες υποδεικνύουν καλή προσαρμογή στα δεδομένα και έχουν βιβλιογραφική βάση. Για την αξιολόγηση του δομικού μοντέλου, το στατιστικό μοντέλο διατηρείται όπως είναι προεπιλεγμένο, δηλαδή, συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος με προσθετικό και αναλογικό όρο και τις προεπιλεγμένες κατανομές των ατομικών παραμέτρων αγνοώντας συμμεταβλητές και συσχετίσεις.

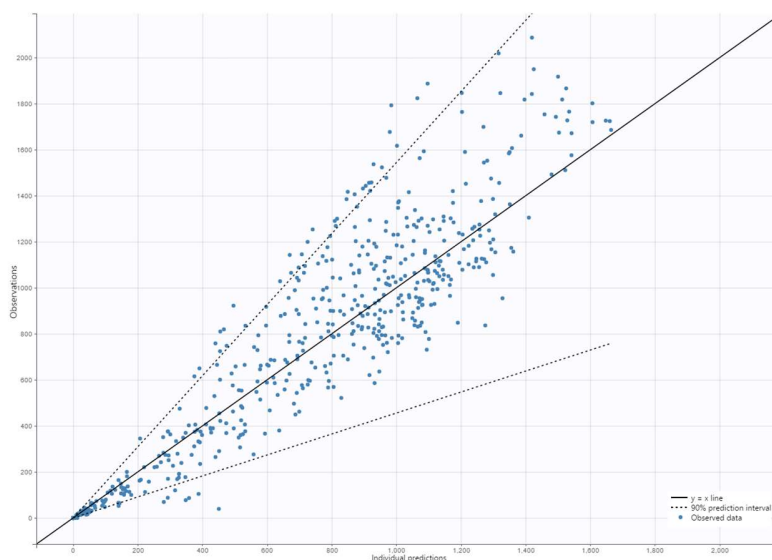


ΕΙΚΟΝΑ 4.2: Επιφάνεια εργασίας Monolix με σκοπό την επιλογή στατιστικού μοντέλου.

Παρατηρήθηκε αδυναμία επιτυχούς ολοκλήρωσης του αλγορίθμου, λόγω αδυναμίας υπολογισμού του τυπικού σφάλματος και του σχετικού τυπικού σφάλματος της πρακτικά μηδενικής τιμής του προσθετικού όρου ( $a$ ) του μοντέλου σφάλματος.



Στο διάγραμμα καλής προσαρμογής OBS – IPRED (Διάγραμμα 4.6) παρατηρείται οι προβλέψεις να υποεκτιμούν σε μεγάλο βαθμό τις παρατηρούμενες ατομικές συγκεντρώσεις, οδηγώντας σε μεγάλες αποκλίσεις από την ευθεία  $y=x$ . Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με μία καθυστέρηση ανάμεσα στη χορήγηση και την απορρόφηση της ροπινιρόλης, συνεπώς ένα μοντέλο με καθυστερούμενη απορρόφηση ενδεχομένως να προσαρμόζεται καλύτερα στα δεδομένα.



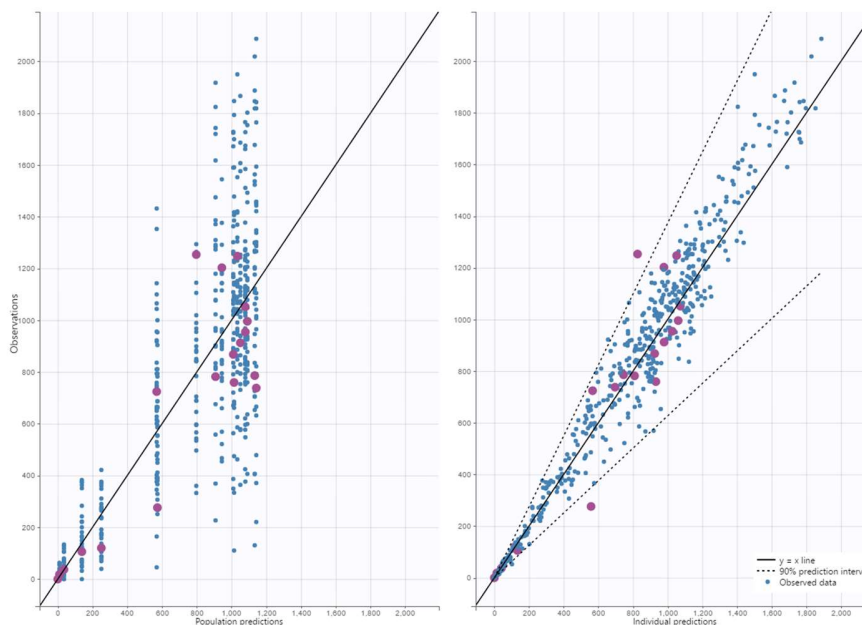
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.6: OBS - IPRED για το *R\_model1*.

Επιλέγεται από τη βιβλιοθήκη του MonolixSuite το μοντέλο (*R\_model2*), μονοδιαμερισματικό μοντέλο διπλής κορυφής απορρόφησης με γραμμικής απομάκρυνσης, πρώτη και δεύτερη απορρόφηση πρώτης τάξης με καθυστέρηση lag time. Επιλέγεται true στο Force longer delay, δηλαδή εφόσον οι δύο απορροφήσεις έχουν επιλεχθεί με καθυστέρηση, αναγκάζεται η καθυστέρηση της δεύτερης απορρόφησης να είναι μεγαλύτερη από της πρώτης ( $Tlag2 = Tlag1 + diggTlag2$ ).

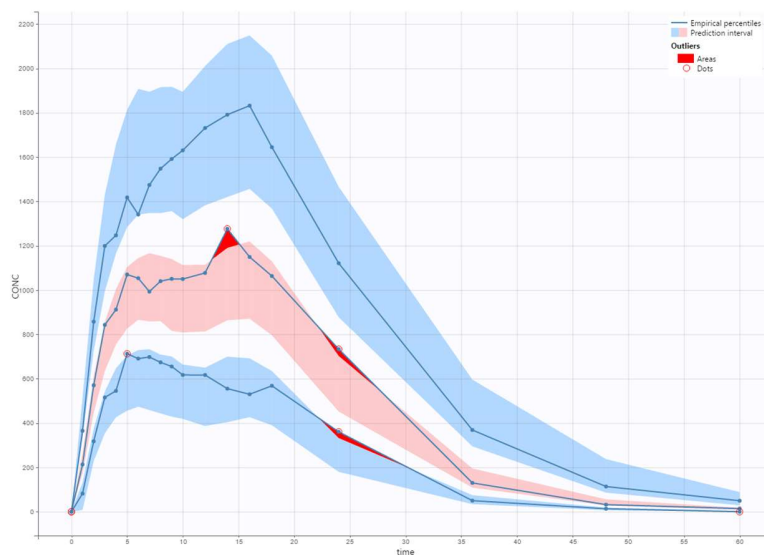
Ο χρόνος καθυστέρησης σχετίζεται με το χρονικό διάστημα μεταξύ της χορήγησης του δισκίου και της πρώτης εμφάνισής του στη γενική κυκλοφορία. Αντανακλά τις διαδικασίες που σχετίζονται με τη φάση απορρόφησης του φαρμάκου, όπως η διάλυσή του, η απελευθέρωσή του από το σύστημα μεταφοράς και η διέλευσή του στις θέσεις απορρόφησης (Nerella et al., 1993; Savic et al., 2007). Οι παράμετροι που περιγράφουν το μοντέλο είναι οι σταθερές πρώτης και δεύτερης απορρόφησης ( $ka_1$ ,  $ka_2$ ), το κλάσμα απορρόφησης στην πρώτη απορρόφηση ( $F_1$ ), η χρονική καθυστέρηση της πρώτης απορρόφησης ( $Tlag1$ ), η χρονική διαφορά μεταξύ της καθυστέρησης της πρώτης και δεύτερης απορρόφησης ( $diggTlag2$ ), ο όγκος κατανομής ( $V$ ) και η κάθαρση ( $Cl$ ). Για την ορθή λειτουργία του SAEM επιλέγεται στο εξής το πολλαπλασιαστικό μοντέλο σφάλματος, καθώς ο προσθετικός όρος είναι πρακτικά μηδέν.

Από τα κριτήρια AIC και BIC του πίνακα 4.4 φαίνεται η βελτίωση του μοντέλου έπειτα από την πρόσθεση των χρονικών καθυστερήσεων, η οποία επιβεβαιώνεται και μέσω των διαγραμμάτων παρατηρήσεων – προβλέψεων τόσο για τις πληθυσμιακές όσο και για τις ατομικές προβλέψεις (Διάγραμμα 4.7). Παρατηρείται τα δεδομένα να συμφωνούν με το συγκεκριμένο μοντέλο, καθώς καταγράφονται ομοιόμορφα γύρω από την ευθεία  $y=x$  με ποσοστό 2.6% εκτός του 90% διαστήματος πρόβλεψης, ωστόσο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαίνεται οι προβλέψεις να υποεκτιμούν τις παρα-

τηρούμενες τιμές. Επιπλέον, παρατηρείται το μονοδιαμερισματικό μοντέλο να επαρκεί, καθώς υπάρχει καλή προσαρμογή στο διάγραμμα προβλέψεων παρατηρήσεων και δε δημιουργούνται τάσεις.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.7: OBS - PRED για το  $R\_model2$ .



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.8: VPC για το  $R\_model2$ .

Ακολούθησε τροποποίηση μόνο της δεύτερης κορυφής απορρόφησης του  $R\_model2$ , επιλέγοντας αυτή να ακολουθεί καθυστέρηση transit time ( $R\_model3$ ). Όπως φαίνεται στον πίνακα 4.4, οι τιμές των κριτηρίων είναι εμφανώς μικρότερες από αυτές του προηγούμενου μοντέλου. Ελέγχονται

η σταθερότητα του μοντέλου υπολογίζοντας τα τυπικά σφάλματα μέσω bootstrap, χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση bootstrap στο πακέτο Rsmix, ώστε η R να συνδέεται με το Monolix (“R speaks Monolix”). Η συνάρτηση αυτή δημιουργεί σύνολα δεδομένων με επανατοποθέτηση και εκτελεί το μοντέλο του Monolix για καθένα από αυτά. Εκτελέστηκαν 500 τέτοια σύνολα δεδομένων και διαπιστώθηκε η αστάθεια του μοντέλου, εμφανίζοντας ιδιαίτερα υψηλές τιμές τυπικών σφαλμάτων και σχετικών τυπικών σφαλμάτων στην μεταβλητή  $ka_2$  (Πίνακας 4.3).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3: Τιμές  $ka_2$  μέσω bootstrap για το R\_model3.

<b>AVERAGE</b>	54.93
<b>S.E.</b>	485.64
<b>R.E.S. (%)</b>	<b>884.16 %</b>

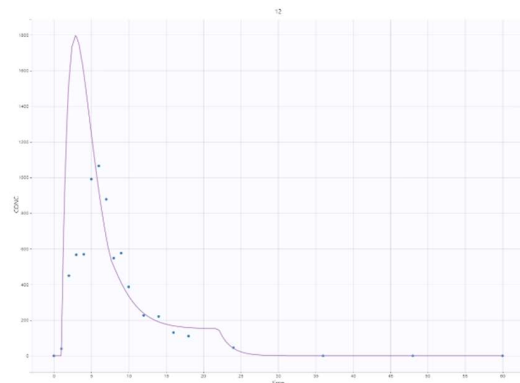
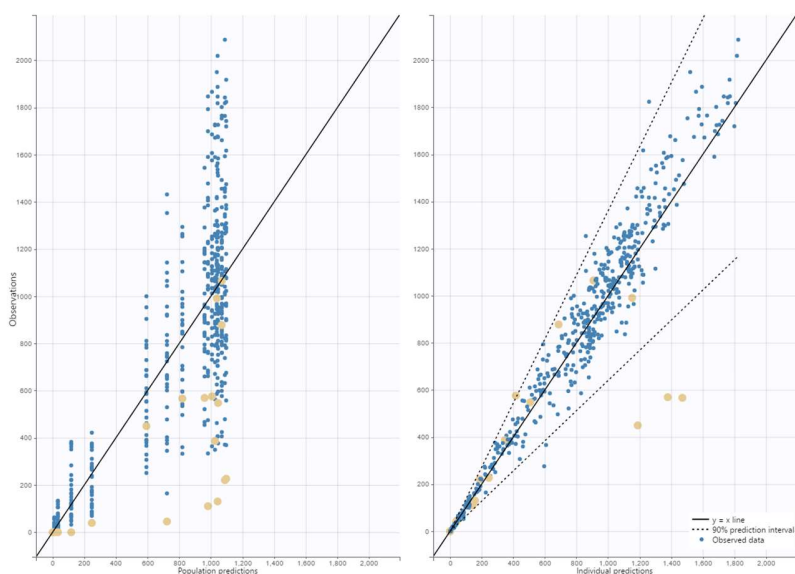
Με σκοπό τη βελτίωση της δεύτερης απορρόφησης, τροποποιείται η δεύτερη κορυφή του R\_model2, δοκιμάζοντας το μοντέλο (R\_model4) από την βιβλιοθήκη του Monolix, το οποίο είναι μονοδιαμερισματικό μοντέλο γραμμικής απομάκρυνσης με πρώτη κορυφή απορρόφησης πρώτης τάξης με καθυστέρηση lag time και δεύτερη κορυφή απορρόφησης μηδενικής τάξης με καθυστέρηση lag time. Στον πίνακα 4.4 εμφανίζεται να διαθέτει χαμηλότερες τιμές στα κριτήρια AIC και BIC συγκριτικά με το R\_model2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4: Τιμές κριτηρίων για τα μοντέλα του πρωτοτύπου.

	R_model1	R_model2	R_model3	R_model4
<b>-2 x log-likelihood</b>	5085.76	4841.20	4787.50	4797.67
<b>Akaike Information Criteria (AIC)</b>	5109.76	4871.20	4821.50	4827.67
<b>Bayesian Information Criteria (BIC)</b>	5126.58	4892.22	4845.32	4848.68
<b>Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)</b>	5147.16	4915.75	4871.79	4872.21

Το διάγραμμα παρατηρήσεων – προβλέψεων εμφανίζει την ίδια συμπεριφορά με αυτό του R\_model2. Η πλειονότητα των σημείων που βρίσκονται εκτός του 90% διαστήματος προβλέψεων ανήκουν στον εθελοντή 12. Απομονώνοντας τα δεδομένα C – t του εθελοντή 12 (Διάγραμμα 4.9 β) φαίνεται το μοντέλο να μη περιγράφει με επιτυχία τα δεδομένα του και για αυτόν τον λόγο να εμφανίζεται η παραπάνω αστοχία.

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΙΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ ΥΓΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ



(β)

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.9: (α) OBS - PRED για το R\_model4. (β) Διάγραμμα C-t για τον εθελοντή 12 με βάση το μοντέλο R\_model4.

(α)

Επομένως, στα δύο επικρατή δομικά μοντέλα R\_model2 και R\_model4 εφαρμόστηκε bootstrap στο R – Studio με σκοπό την εξέταση της σταθερότητας και ανθεκτικότητάς τους. Από τα αποτελέσματα, βρέθηκε πολύ καλή συμφωνία στις πληθυσμιακές τιμές των παραμέτρων και της διακύμανσης (ω) αυτών που υπολογίστηκαν μέσω bootstrap, με αυτές που βρέθηκαν μέσω του Monolix. Ωστόσο, παρατηρούνται αυξημένα σφάλματα στον υπολογισμό της διακύμανσης των παραμέτρων του R\_model4 συγκριτικά με το R\_model2. Για το λόγο αυτό, επιλέγεται το R\_model2 ως το βασικό δομικό φαρμακοκινητικό μοντέλο του πρωτότυπου σκευάσματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.5: Αποτελέσματα bootstrap για τα μοντέλα R\_model2 και R\_model4.

	R_model2			R_model4			
	Average	S.E.	R.S.E. (%)	Average	S.E.	R.S.E. (%)	
ka1_pop	0.11	0.03	27.41%	ka1_pop	0.11	0.04	41.96%
ka2_pop	0.24	0.05	20.50%	Tk02_pop	14.68	2.76	18.80%
F1_pop	0.78	0.03	3.31%	F1_pop	0.71	0.08	11.46%
Tlag1_pop	0.41	0.07	17.93%	Tlag1_pop	0.45	0.09	20.44%
diffTlag2_pop	11.60	0.59	5.05%	diffTlag2_pop	8.40	2.09	24.92%
V_pop	376.18	106.43	28.29%	V_pop	258.90	55.66	21.50%
Cl_pop	75.84	6.05	7.98%	Cl_pop	72.12	4.59	6.36%
omega_ka1	0.19	0.10	51.64%	omega_ka1	0.41	0.34	84.32%
omega_ka2	0.26	0.13	48.10%	omega_Tk02	0.19	0.07	39.46%
omega_F1	0.43	0.10	23.23%	omega_F1	0.42	0.12	29.31%
omega_Tlag1	0.49	0.12	24.94%	omega_Tlag1	0.48	0.16	32.42%
omega_diffTlag2	0.17	0.06	35.69%	omega_diffTlag2	0.25	0.15	60.71%
omega_V	0.18	0.07	38.23%	omega_V	0.39	0.34	86.57%

omega_Cl	0.36	0.06	17.33%	omega_Cl	0.32	0.06	17.53%
b	0.24	0.03	11.47%	b	0.22	0.04	16.12%

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.6: Αποτελέσματα Monolix για τα μοντέλα R\_model2 και R\_model4.

R_model2				R_model4			
	VALUE	STOCH. APPROX.			VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E. (%)			S.E.	R.S.E. (%)
<b>Fixed Effects</b>							
ka1_pop	0.0994	0.00533	5.37	ka1_pop	0.0908	0.00639	7.03
ka2_pop	0.205	0.0253	12.3	Tk02_pop	15.4	1.13	7.33
F1_pop	0.783	0.0215	2.75	F1_pop	0.713	0.0205	2.88
Tlag1_pop	0.422	0.0781	18.5	Tlag1_pop	0.506	0.0505	9.98
diffTlag2_pop	11.4	0.528	4.65	diffTlag2_pop	8.37	0.565	6.75
V_pop	331	30.1	9.07	V_pop	236	16.3	6.91
Cl_pop	75.4	5.24	6.94	Cl_pop	73.3	4.77	6.51
<b>Standard Deviation of the Random Effects</b>							
omega_ka1	0.205	0.0403	19.7	omega_ka1	0.373	0.0615	16.5
omega_ka2	0.255	0.143	55.9	omega_Tk02	0.227	0.0593	26.1
omega_F1	0.52	0.117	22.5	omega_F1	0.317	0.0757	23.9
omega_Tlag1	0.471	0.155	33	omega_Tlag1	0.389	0.0806	20.7
omega_diffTlag2	0.175	0.033	18.9	omega_diffTlag2	0.225	0.0551	24.5
omega_V	0.247	0.0652	26.4	omega_V	0.151	0.0697	46
omega_Cl	0.374	0.0499	13.3	omega_Cl	0.347	0.0505	14.6
<b>Error Model Parameters</b>							
b	0.228	0.00871	3.83	b	0.225	0.00893	3.97

#### 4.2.1.2 Διερεύνηση στατιστικού μοντέλου πρωτοτύπου

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα ο προσθετικός όρος  $a$  του συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος είναι πρακτικά μηδενικός, επομένως, η χρήση του συνδυαστικού ( $CONC = Cc + (a + bCc) * e$ ) και του προσθετικού μοντέλου ( $CONC = Cc + a * e$ ) σφάλματος κρίνεται ακατάλληλη, κάνοντας μάλιστα τον αλγόριθμο SAEM να μη λειτουργεί ορθά. Επιλέγεται το πολλαπλασιαστικό μοντέλο σφάλματος ( $CONC = Cc + bCc * e$ ) για το επιλεχθέν δομικό μοντέλο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.7: Τιμές του συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος R\_model1.

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E. (%)
<b>Error Model Parameters</b>			
a	2.22e-16	nan	nan
b	0.227	0.00905	3.98

#### 4.2.1.3 Διερεύνηση μοντέλου συσχετίσεων και συμμεταβλητών πρωτοτύπου

Από το R\_model2 που επιλέχθηκε ως βασικό δομικό μοντέλο η μεγαλύτερης σημαντικότητας συσχέτιση, δηλαδή αυτή με την μικρότερη τιμή  $p$  είναι μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων  $F_1$  και  $\text{diffFlag2}$ , όπου  $p=0.032$ . Το μοντέλο που προκύπτει ονομάζεται R\_model2a. Εισάγοντας τη συσχέτιση, παρατηρείται μείωση των στατιστικών κριτηρίων, ωστόσο αυξάνεται η διατομική μεταβλητότητα των  $F_1$  και  $\text{diffFlag2}$ , επομένως η συσχέτιση απορρίπτεται για αυτόν τον λόγο. Δεν υπάρχουν άλλες σημαντικές συσχετίσεις, επομένως ακολουθεί η διερεύνηση των συμμεταβλητών.

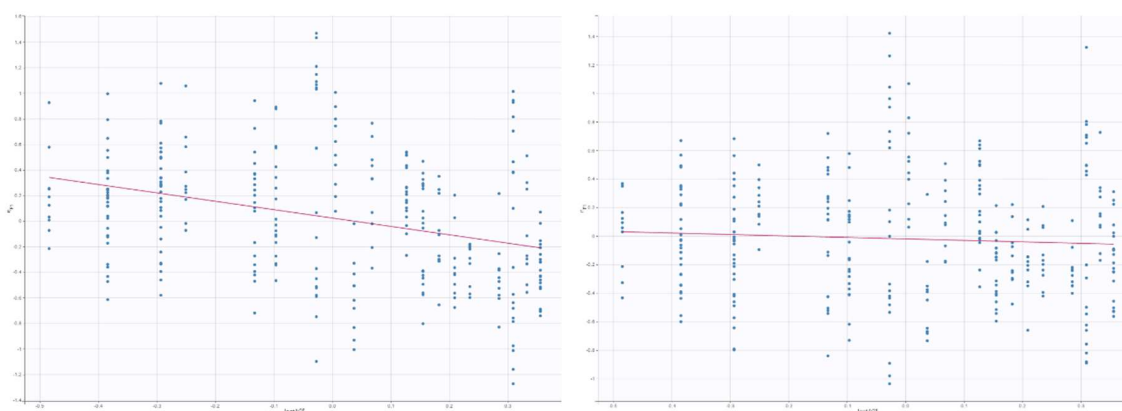
Το πρώτο βήμα στην αναζήτηση συμμεταβλητών είναι η προσθήκη της ηλικίας σαν συμμεταβλητή στο κλάσμα που απορροφάται από την πρώτη κορυφή  $F_1$ , αφού παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή  $p$ , το μοντέλο που προκύπτει ονομάζεται R\_model2b. Η προσθήκη γίνεται έπειτα από λογαριθμική τροποποίηση της ηλικίας στο Monolix. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται μια νέα συμμεταβλητή με το όνομα  $\text{logtAGE}$  για την οποία ισχύει  $\text{logtAGE} = \log\left(\frac{\text{AGE}}{30.828}\right)$ , όπου η ηλικία διαιρείται με τον σταθμισμένο μέσο όρο, δηλαδή, τον μέσο όρο από τις ατομικές τιμές ηλικίας του συνόλου των δεδομένων σταθμισμένο με τον αριθμό των παρατηρήσεων ανά άτομο. Επιλέγοντας τη λογαριθμικά τροποποιημένη τιμή της ηλικίας  $\text{logtAGE}$  σαν συμμεταβλητή, η σχέση που προκύπτει είναι η εξής:

$$\log\left(\frac{F_1}{1 - F_1}\right) = \log\left(\frac{F_{1pop}}{1 - F_{1pop}}\right) + \text{beta}_{F1\_logtAGE} * \text{logtAGE} + \text{eta}_{F1}$$

Με την προσθήκη αυτή, παρατηρείται λογικός υπολογισμός της μεταβλητής  $\text{beta}_{F1\_logtAGE}$  με αποδεκτό τυπικό σφάλμα (44.5%), μείωση στο  $-2LL > 3.84$ . Επιπλέον, μείωση της διατομικής μεταβλητότητας του  $F_1$  όπως φαίνεται στον πίνακα 4.8 και στα γραφήματα 4.10, συνεπώς, ένα μέρος της μεταβλητότητας ερμηνεύεται από τη συμμεταβλητή. Τα Pearson's correlation και Wald tests επιβεβαιώνουν τη σημαντικότητα της συγκεκριμένης συσχέτισης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.8: Μείωση της μεταβλητότητας του  $F_1$  μετά την προσθήκη της ηλικίας ως συμμεταβλητή.

	Omega_F1 R_model2 (χωρίς συμμεταβλητή)	Omega_F1 R_model2b (προσθήκη $\text{logtAGE}$ ως συμμεταβλητή)
Monolix	0.52	0.43
Bootstrap	0.43	0.32

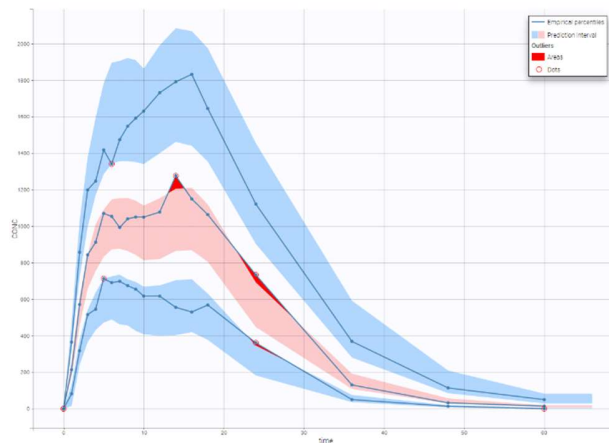


ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.10: Random effects  $F_1 - \text{logtAGE}$  πριν και μετά την εισαγωγή της συμμεταβλητής.

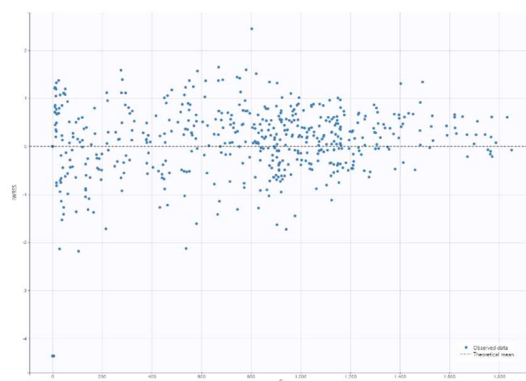
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.9: Εισαγωγή συµµεταβλητών στο µοντέλο του πρωτοτύπου.

Όνοµα µοντέλου	Συσχέτιση ή συµµεταβλητή	-2LL	ΔAIC	ΔBIC	Επιλογή συσχέτισης
R_model2a	R_model2 + ( $F_1 - \text{diffTlag2}$ )	3	7.61	5.86	OXI
R_model2b	R_model2 + logtAGE on $F_1$	7.2	4.25	2.85	NAI

Από τα τεστ και τα γραφήµατα των ατοµικών µεταβλητών σε συνάρτηση µε τις συµµεταβλητές δεν παρατηρήθηκε καµία άλλη παράµετρος να εμφανίζει σηµαντική τιµή  $p < 0.05$  ώστε να εξεταστεί η εισαγωγή της στο µοντέλο. Εποµένως, το τελικό µοντέλο του πρωτοτύπου προϊόντος είναι ένα µονοδιαµερισµατικό φαρµακοκινητικό µοντέλο µε δύο κορυφές απορρόφησης, η πρώτη εξ αυτών ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης µε χρονική καθυστέρηση lag time, οµοίως και η δεύτερη, η αποµάκρυνση από τον οργανισµό πραγµατοποιείται µε γραµµικό τρόπο. Τέλος, καµία συσχέτιση µεταξύ των τυχαίων επιδράσεων των παραµέτρων δεν κρίθηκε σηµαντική ενώ, η µεταβλητή logtAGE προστέθηκε ως συµµεταβλητή στο κλάσµα του φαρµάκου που απορροφάται από την πρώτη κορυφή απορρόφησης, ερµηνεύοντας µέρος της διατοµικής µεταβλητότητας.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.11: VPC για το τελικό µοντέλο του πρωτοτύπου.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.12: . Διάγραµµα µεμονωµένων σταθµισµένων υπολοίπων (IWRES) σε σχέση µε τις τιµές των προβλεπόµενων ατοµικών συγκεντρώσεων (CIPRED) για το τελικό µοντέλο του πρωτοτύπου σκευάσµατος ροπι νιρόλης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.10: Αποτελέσματα τελικού μοντέλου πρωτοτύπου.

R_model2b				
	VALUE	STOCH. APPROX.		Bootstrap
		S.E.	R.S.E.(%)	
Fixed Effects				
ka1_pop	0.0976	0.00485	4.98	24.73
ka2_pop	0.212	0.0217	10.2	19.63
F1_pop	0.787	0.0191	2.42	3.43
beta_F1_logtAGE	-1.05	0.416	39.7	44.61
Tlag1_pop	0.429	0.0558	13	19.53
diffTlag2_pop	11.5	0.545	4.72	5.40
V_pop	325	23	7.07	25.30
Cl_pop	75.4	5.18	6.87	7.65
Standard Deviation of the Random Effects				
omega_ka1	0.215	0.0402	18.7	52.37
omega_ka2	0.153	0.0727	47.7	47.98
omega_F1	0.429	0.11	25.7	38.52
omega_Tlag1	0.468	0.0992	21.2	26.37
omega_diffTlag2	0.194	0.0378	19.5	33.23
omega_V	0.203	0.0878	43.3	39.58
omega_Cl	0.37	0.0485	13.1	17.34
Error Model Parameters				
b	0.228	0.00927	4.06	11.53

Στατιστικά κριτήρια τελικού ΦΚ μοντέλου R	
-2 x log-likelihood	4834.95
Akaike Information Criteria (AIC)	4866.95
Bayesian Information Criteria (BIC)	4889.37
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	4912.90

## 4.2.2 Ανάπτυξη μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος

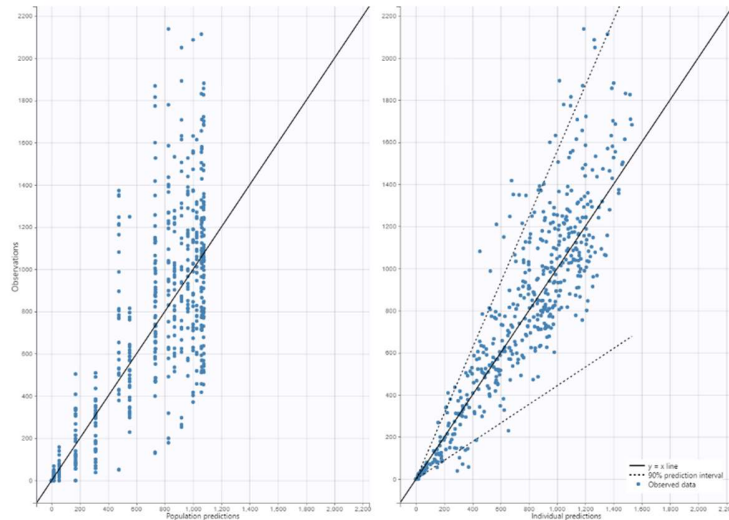
### 4.2.2.1 Διερεύνηση δομικού μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος

Όπως στο R έτσι και στο T βρέθηκε από το Datxplre ότι τα δεδομένα του ακολουθούν μονοδιαμερισματική ή διδιαμερισματική κινητική δύο κορυφών απορρόφησης με γραμμική απομάκρυνση. Επιλέγεται αρχικά από τη βιβλιοθήκη του PK Double Absorption του Monolix το μονοδιαμερισματικό μοντέλο (T\_model1), το οποίο περιγράφει με κινητική πρώτης τάξης και χωρίς χρονική καθυστέρηση τόσο στην πρώτη όσο και στη δεύτερη απορρόφηση με γραμμική απομάκρυνση. Ορίζονται ως αρχικές τιμές, λογικές τιμές μεταβλητών οι οποίες υποδεικνύουν καλή προσαρμογή στα δεδομένα και έχουν βιβλιογραφική βάση. Ως στατιστικό μοντέλο επιλέγεται το συνδυαστικό μοντέλο σφάλματος και οι προεπιλεγμένες κατανομές των ατομικών παραμέτρων αγνοώντας συμμεταβλητές και συσχετίσεις.

Κατά την ολοκλήρωση του μοντέλου, παρατηρείται αδυναμία ολοκλήρωσης του αλγορίθμου λόγω του μη υπολογισμού των σφαλμάτων για την μηδενική τιμή του προσθετικού όρου του μοντέλου σφάλματος. Όπως και στο πρωτότυπο, παρατηρήθηκε από το διάγραμμα παρατηρήσεων – προ-



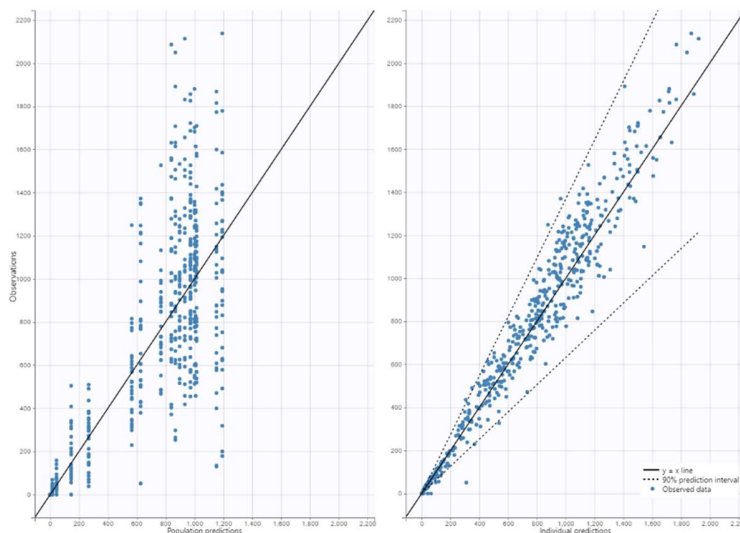
βλέψων υποεκτίμηση στον υπολογισμό των προβλεπόμενων τιμών συγκριτικά με τις παρατηρούμενες. Επομένως, και το T φαίνεται να χαρακτηρίζεται από χρονική καθυστέρηση ανάμεσα στη χορήγηση και την απορρόφηση του προϊόντος.



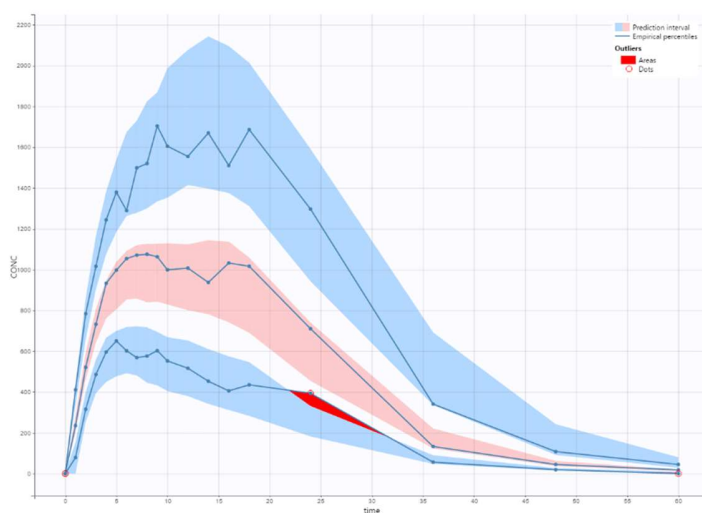
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.13: OBS - PRED για το  $T\_model1$ .

Το δεύτερο μονοδιαμερισματικό μοντέλο που εξετάζεται επομένως, χαρακτηρίζεται από χρονική καθυστέρηση lag time τόσο στην πρώτη όσο και στη δεύτερη απορρόφηση με γραμμική απομάκρυνση ( $T\_model2$ ). Σε αυτή την περίπτωση επιλέγεται ως μοντέλο σφάλματος το αναλογικό μοντέλο, καθώς η τιμή του προσθετικού όρου είναι μηδενική και οδηγεί σε σφάλματα.

Από τα διαγράμματα 4.14 και 4.15 παρατηρείται καλή προσαρμογή των δεδομένων με το επιλεγθέν μοντέλο και σαφής μείωση στις τιμές των κριτηρίων AIC και BIC (Πίνακας 4.11) μετά την προσθήκη των χρονικών καθυστερήσεων.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.14: OBS - PRED για το  $T\_model2$ .



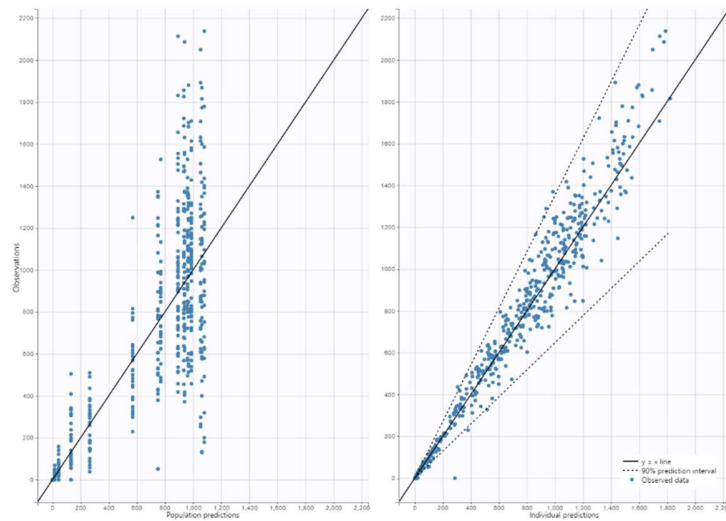
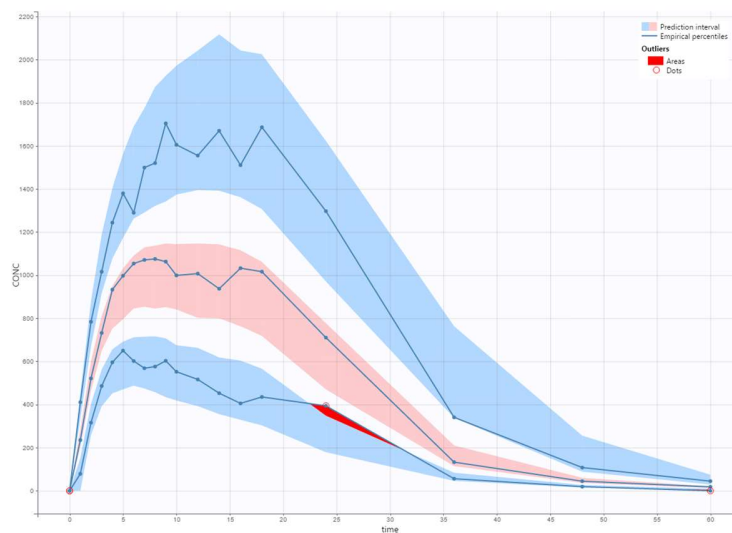
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.15: VPC για το  $T\_model2$ .

Με σκοπό την περαιτέρω βελτίωση του μοντέλου, επιλέγεται το μονοδιαμερισματικό μοντέλο με πρωταξική πρώτη κορυφή απορρόφησης με lag time, τροποποιείται μόνο τη δεύτερη κορυφή απορρόφησης του  $T\_model2$ , επιλέγεται αυτή να ακολουθεί κινητική μηδενικής τάξης με χρονική καθυστέρηση lag time και διατηρείται η γραμμική απομάκρυνση ( $T\_model3$ ).

Το μοντέλο  $T\_model3$  στον πίνακα 4.11 εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές στατιστικών κριτηρίων. Τα διαγνωστικά γραφήματα παρατηρήσεων – προβλέψεων και το VPC παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά με αυτή του  $T\_model2$ .

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.11: Τιμές κριτηρίων για τα μοντέλα του υπό μελέτη προϊόντος.

	$T\_model1$	$T\_model2$	$T\_model3$
<b>-2 x log-likelihood</b>	5104.33	4828.08	4803.84
<b>Akaike Information Criteria (AIC)</b>	5128.33	4858.08	4833.84
<b>Bayesian Information Criteria (BIC)</b>	5145.14	4879.10	4854.85
<b>Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)</b>	5165.73	4902.62	4878.38

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.16: OBS - IPRED για το  $T\_model3$ .ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.17: VPC για το  $T\_model3$ .

Τα δύο μοντέλα δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές. Με σκοπό τον έλεγχο της σταθερότητας τους πραγματοποιήθηκε η διαγνωστική διεργασία bootstrap στο R – studio για κάθε μοντέλο και τα αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα 4.12. Τα αποτελέσματα του Monolix με αυτά του bootstrap συγκλίνουν για τα δύο μοντέλα, ωστόσο τα σχετικά τυπικά σφάλματα των διακυμάνσεων των παραμέτρων εμφανίζονται αυξημένα στο  $T\_model3$  δείχνοντας την αστάθεια του μοντέλου. Γι' αυτό το λόγο, παρόλο που το  $T\_model3$  διαθέτει χαμηλότερες τιμές στατιστικών κριτηρίων, επιλέγεται για τη συνέχεια της ανάλυσης το  $T\_model2$  ως το βασικό φαρμακοκινητικό μοντέλο του εν δυνάμει γενοσήμου προϊόντος. Παρατηρείται κοινή συμπεριφορά των T και R στις δοκιμές των διαφόρων μοντέλων και τελικά κοινό δομικό μοντέλο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.12: Σύγκριση αποτελεσμάτων bootstar για τα T\_model2 και T\_model3.

T_model2				T_model3			
	AVERAGE	S.E.	R.S.E. (%)		AVERAGE	S.E.	R.S.E. (%)
ka1_pop	0.10	0.02	25.59	ka1_pop	0.09	0.02	19.46
ka2_pop	0.27	0.04	13.65	Tk02_pop	11.46	2.19	19.15
F1_pop	0.76	0.02	3.24	F1_pop	0.72	0.05	6.85
Tlag1_pop	0.34	0.08	24.04	Tlag1_pop	0.34	0.08	24.59
diffTlag2_pop	12.85	1.38	10.76	diffTlag2_pop	10.79	2.06	19.09
V_pop	323.68	73.74	22.78	V_pop	273.88	32.10	11.72
Cl_pop	76.35	6.82	8.93	Cl_pop	74.07	5.54	7.48
omega_ka1	0.11	0.06	53.08	omega_ka1	0.16	0.22	138.76
omega_ka2	0.21	0.11	53.94	omega_Tk02	0.20	0.06	30.56
omega_F1	0.31	0.12	38.77	omega_F1	0.37	0.21	56.15
omega_Tlag1	0.65	0.19	29.13	omega_Tlag1	0.66	0.18	27.20
omega_diffTlag2	0.40	0.11	26.81	omega_diffTlag2	0.61	0.28	46.10
omega_V	0.11	0.06	52.71	omega_V	0.15	0.16	113.38
omega_Cl	0.38	0.09	22.61	omega_Cl	0.34	0.07	21.19
b	0.23	0.03	12.26	b	0.22	0.03	11.77

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.13: Σύγκριση αποτελεσμάτων Monolix για τα T\_model2 και T\_model3.

T_model2				T_model3			
	VALUE	STOCH. APPROX.			VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)			S.E.	R.S.E. (%)
<b>Fixed Effects</b>							
ka1_pop	0.0876	0.00238	2.72	ka1_pop	0.0842	0.00219	2.6
ka2_pop	0.257	0.027	10.5	Tk02_pop	11	1.05	9.59
F1_pop	0.76	0.0169	2.22	F1_pop	0.731	0.0206	2.82
Tlag1_pop	0.331	0.0667	20.2	Tlag1_pop	0.357	0.0683	19.1
diffTlag2_pop	13.1	1.15	8.71	diffTlag2_pop	11.1	1.31	11.8
V_pop	293	19.4	6.6	V_pop	264	17.3	6.56
Cl_pop	75.1	5.33	7.09	Cl_pop	74	5.19	7.02
<b>Standard Deviation of the Random Effects</b>							
omega_ka1	0.0844	0.0239	28.3	omega_ka1	0.0855	0.0205	24
omega_ka2	0.165	0.119	72.3	omega_Tk02	0.193	0.0861	44.6
omega_F1	0.3	0.0781	26	omega_F1	0.279	0.0759	27.2
omega_Tlag1	0.697	0.174	24.9	omega_Tlag1	0.632	0.162	25.6
omega_diffTlag2	0.397	0.0691	17.4	omega_diffTlag2	0.518	0.131	25.3
omega_V	0.145	0.0504	34.7	omega_V	0.149	0.0471	31.7
omega_Cl	0.378	0.0576	15.3	omega_Cl	0.372	0.0554	14.9
<b>Error Model Parameters</b>							
b	0.221	0.00865	3.91	b	0.215	0.00846	3.94

#### 4.2.2.2 Διερεύνηση στατιστικού μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος

Όπως και στο πρωτότυπο, παρατηρήθηκε μηδενική τιμή του προσθετικού όρου  $a$  του στατιστικού μοντέλου και αδυναμία υπολογισμού των σφαλμάτων αυτού, επομένως ήδη από την εύρεση του δομικού μοντέλου έχει επιλεγεί το αναλογικό μοντέλο σφάλματος.

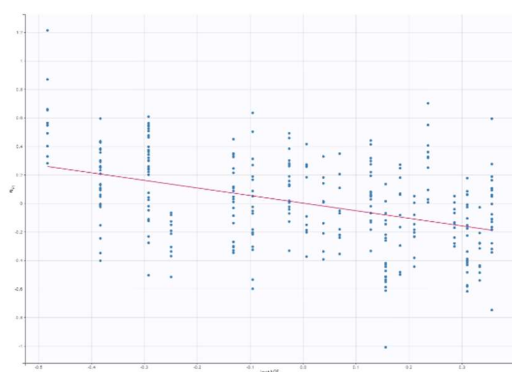
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.14: Τιμές του συνδυαστικού μοντέλου σφάλματος  $T\_model1$ .

	VALUE	STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E. (%)
Error Model Parameters			
<b>a</b>	2.22e-16	nan	nan
<b>b</b>	0.338	0.0122	3.6

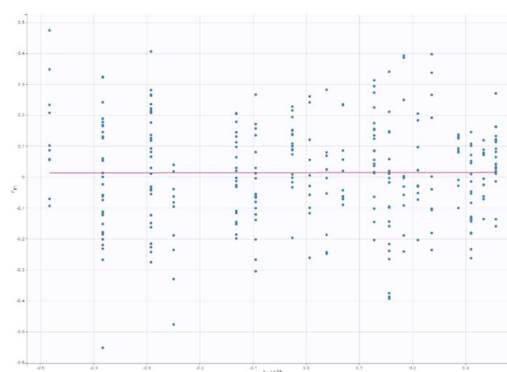
#### 4.2.2.3 Διερεύνηση μοντέλου συσχετίσεων και συμμεταβλητών υπό μελέτη προϊόντος

Ομοίως με το πρωτότυπο προϊόν και ακολουθώντας όσα αναφέρθηκαν στην παράγραφο 4.2.1.3 ακολούθησε η αναζήτηση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ και συμμεταβλητών που χαρακτηρίζουν το μοντέλο. Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των random effects παραμέτρων, δηλαδή δεν εμφανίστηκε  $p < 0.05$  για κανένα ζεύγος τυχαίων επιδράσεων ( $\eta$ ,  $\eta$ ) παραμέτρων. Επομένως, καμία συσχέτιση δεν προστέθηκε στο φαρμακοκινητικό μοντέλο.

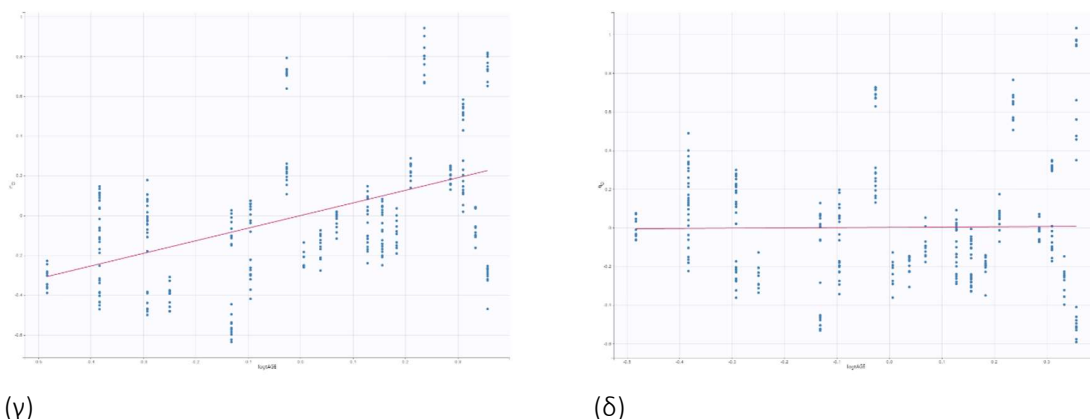
Στη συνέχεια, η λογαριθμικά τροποποιημένη τιμή της ηλικίας  $\log tAGE = \log\left(\frac{AGE}{30.828}\right)$  διαιρεμένη με τον σταθμισμένο μέσο όρο των ηλικιών, προστέθηκε ως συμμεταβλητή στο κλάσμα του φαρμάκου που απορροφάται από την πρώτη απορρόφηση ( $T\_model2a$ ), καθώς εμφάνισε τη στατιστικά σημαντικότερη τιμή με  $p = 0.0019$ . Μετά την προσθήκη της συμμεταβλητής, παρατηρείται μείωση στα κριτήρια πληροφορίας και στο στατιστικό κριτήριο (Πίνακας 4.16), αξιόπιστος υπολογισμός της παραμέτρου  $\beta_{F1\_logtAGE}$ , μείωση της διατομικής μεταβλητότητας του F1 από 0.3 σε 0.16 με τους υπολογισμούς του Monolix, καθώς και των τυχαίων επιδράσεων μεταξύ F1 –  $\log tAGE$  αφού μέρος αυτής της μεταβλητότητας ερμηνεύτηκε. Τα Pearson's correlation και Wald tests επιβεβαιώνουν τη σημασία της συγκεκριμένης συσχέτισης, επομένως συμπεριλαμβάνεται στο μοντέλο.



(α)



(β)



(γ) (δ)  
 ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.18:  $T\_model2$  random effects (α - β)  $F1 - \logtage$  (γ - δ)  $CI - \logtage$  πριν και μετά την εισαγωγή της συμμεταβλητής.

Ακολούθως, τη στατιστικά σημαντικότερη τιμή εμφανίζει η κάθαρση (CI) με την λογαριθμικά τροποποιημένη τιμή της ηλικίας διαιρεμένη τον σταθμισμένο μέσο όρο των ηλικιών (logtage) με  $p=0.007$ . Αφού συμπεριληφθεί στο μοντέλο (Tmodel\_2b), μειώνονται οι τιμές -2LL, AIC και BIC, μειώνεται το omega\_CI από 0.38 σε 0.32 με τους υπολογισμούς του Monolix, η τιμή της παραμέτρου beta\_CI\_logtAGE υπολογίστηκε με επαρκή αξιοπιστία και τα Pearson's correlation και Wald tests επιβεβαίωσαν τη σημασία εισαγωγής της παρούσας συσχέτισης στο μοντέλο.

Με τον ίδιο τρόπο ελέγχθηκε η λογαριθμικά τροποποιημένη τιμή του ύψος διαιρεμένη με τον σταθμισμένο μέσο όρο των υψών  $\log\left(\frac{H}{172.141}\right)$  ως συμμεταβλητή στο diffTlag2 (Tmodel\_2c) με  $p=0.038$ . Ωστόσο, δεν είναι δυνατός ο υπολογισμός του σφάλματος για την παράμετρο beta\_diffTlag2\_logtH, επομένως δε συμπεριλαμβάνεται στο μοντέλο.

Ακολουθεί προσθήκη της περιόδου ως συμμεταβλητή στο Tlag1 με  $p=0.028$  (T\_model2d). Εμφανίστηκε αύξηση των αξιολογούμενων κριτηρίων (Πίνακας 4.16), το Wald test υποδεικνύει ότι η τιμή beta\_Tlag1\_PERIOD=-0.615 δεν είναι σημαντικά διαφορετική από το μηδέν με  $p>0.05$ , η τιμή αυτή υπολογίζεται με σχετικά αυξημένο σχετικό τυπικό σφάλμα 55.5%. Με βάση τα παραπάνω, η συσχέτιση αυτή δε συμπεριλαμβάνεται στο μοντέλο.

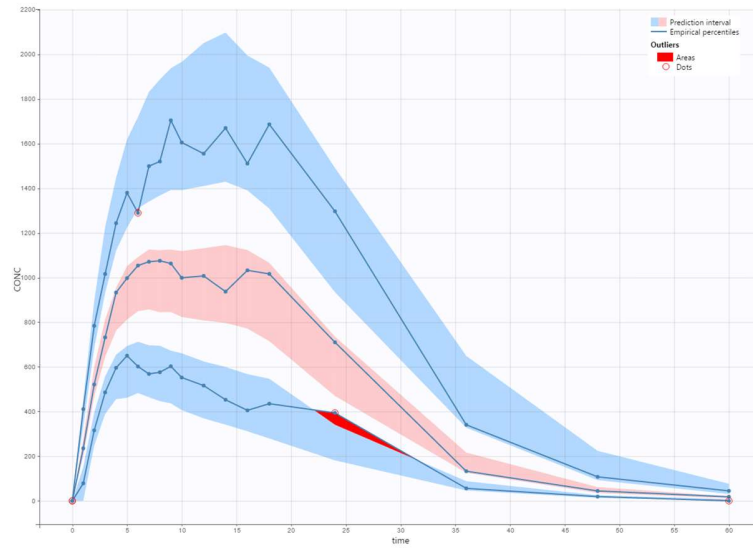
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.15: Wald test προσθήκη περιόδου ως συμμεταβλητή στο Tlag1.

Tlag1		
	STATISTICS	P-VALUE
beta_Tlag1_PERIOD_2	-0.615	0.0708139

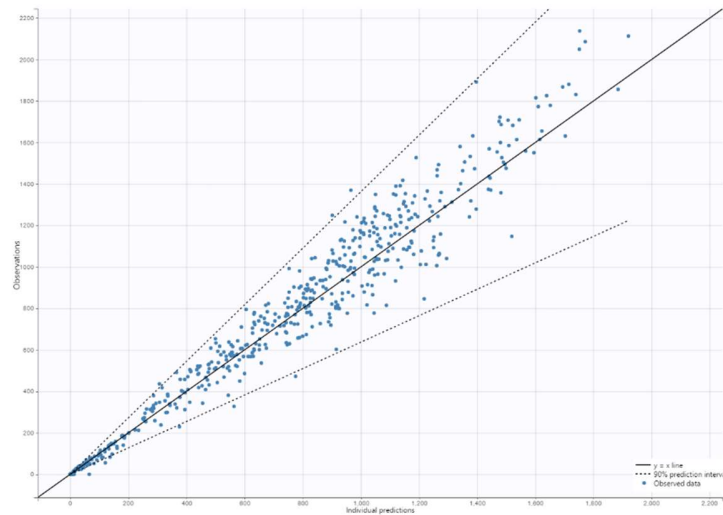
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.16: Εισαγωγή συμμεταβλητών στο μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.

Όνομα μοντέλου	Συσχέτιση ή συμμεταβλητή	$\Delta(-2LL)$	$\Delta AIC$	$\Delta BIC$	Επιλογή συσχέτισης
T_model2a	T_model2 + logtAGE on F1	12.24	10.24	8.85	NAI
T_model2b	T_model2a + logtAGE on CI	7.84	5.72	4.31	NAI
T_model2c	T_model2b + logtH on diggTlag2	5.91	3.91	2.52	OXI
T_model_2d	T_model2b + PERIOD on Tlag1	-1.96	-1.96	-1.96	OXI

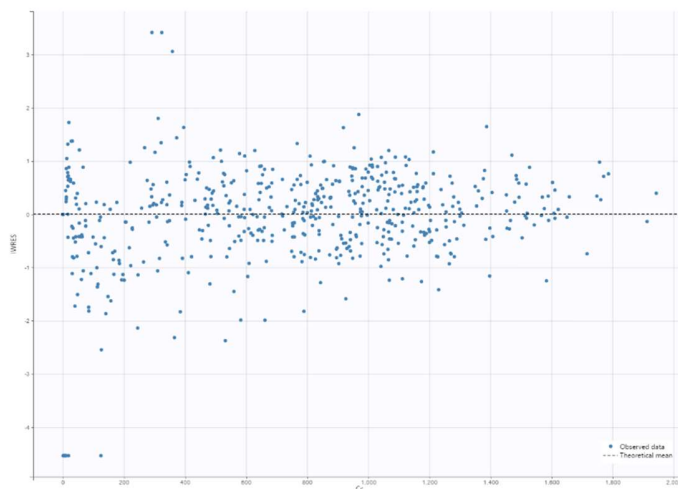
Επομένως, το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος είναι ένα μονοδιαμερισματικό φαρμακοκινητικό μοντέλο με δύο κορυφές απορρόφησης, η πρώτη εξ αυτών ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης με χρονική καθυστέρηση lag time, ομοίως και η δεύτερη, η απομάκρυνση από τον οργανισμό πραγματοποιείται με γραμμικό τρόπο. Τέλος, καμία συσχέτιση μεταξύ των τυχαίων επιδράσεων των παραμέτρων δεν κρίθηκε σημαντική ενώ, η μεταβλητή logtAGE προστέθηκε ως συμμεταβλητή στο κλάσμα του φαρμάκου που απορροφάται από την πρώτη κορυφή απορρόφησης και στην κάθαρση, ερμηνεύοντας μέρος της διατομικής μεταβλητότητας.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.19: VPC για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.20: OBS – IPRED για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη προϊόντος.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.21: Διάγραμμα μεμονωμένων σταθμισμένων υπολοίπων (IWRES) σε σχέση με τις τιμές των προβλεπόμενων ατομικών συγκεντρώσεων (IPRED) για το τελικό μοντέλο του υπό μελέτη σκευάσματος ροπι-νιρόλης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.17: Αποτελέσματα τελικού μοντέλου υπό μελέτη προϊόντος.

T_model2b				
	VALUE	STOCH. APPROX.	Bootstrap	
		S.E.	R.S.E.(%)	
Fixed Effects				
ka1_pop	0.09	0.003	3.32	16.91
ka2_pop	0.28	0.038	13.9	17.25
F1_pop	0.77	0.013	1.72	2.64
beta_F1_logtAGE	-1.21	0.3	25.2	32.35
Tlag1_pop	0.34	0.079	23.5	24.04
diffTlag2_pop	13.27	1.33	10.0	9.61
V_pop	306.01	16.54	5.41	17.48
Cl_pop	75.37	4.71	6.25	6.78
beta_Cl_logtAGE	0.7	0.26	36.7	37.35
Standard Deviation of the Random Effects				
omega_ka1	0.11	0.027	25.4	50.00
omega_ka2	0.36	0.18	50.5	50.44
omega_F1	0.16	0.14	85.6	56.97
omega_Tlag1	0.69	0.23	33.7	25.55
omega_diffTlag2	0.38	0.057	15.2	31.54
omega_V	0.12	0.051	40.8	55.70
omega_Cl	0.32	0.059	18.3	17.52
Error Model Parameters				
b	0.22	0.0089	4.03	11.98

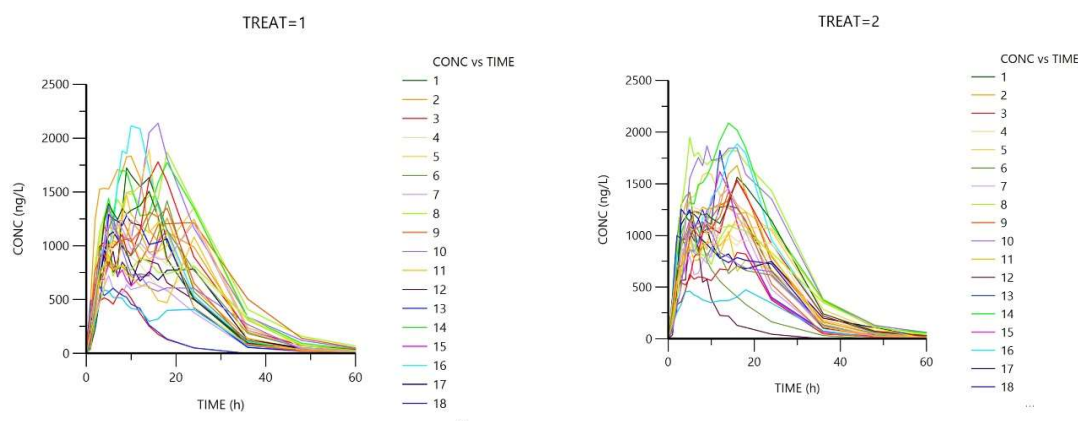
Στατιστικά κριτήρια τελικού ΦΚ μοντέλου T	
-2 x log-likelihood	4808.12
Akaike Information Criteria (AIC)	4842.12
Bayesian Information Criteria (BIC)	4865.94
Corrected Bayesian Information Criteria (BICc)	4889.47



### 4.3 ΑΠΟΔΕΙΞΗ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 3.1, στη συγκεκριμένη μελέτη συμμετείχαν 30 υγιείς εθελοντές (8 γυναίκες και 22 άνδρες), ηλικίας 19 – 44 γ (μέση τιμή  $31.5 \pm 7.83$  γ), μέσου βάρους  $75.35 \pm 10.25$  kg. Στην έρευνα πραγματοποιήθηκε μίας δόσης, τυχαιοποιημένη, δύο περιόδων, διασταυρωτή μελέτη. Κάθε εθελοντής έλαβε από το στόμα ένα δισκίο 2 mg ροπινιρόλης πρωτοτύπου ή εν δυνάμει γενοσήμου διαχωρισμένα με μία περίοδο έκπλυσης. Η ακολουθία χορήγησης πραγματοποιήθηκε με τυχαίο τρόπο. Από τους 30 εθελοντές, οι 15 έλαβαν πρώτα το πρωτότυπο και ακολούθως το εν δυνάμει γενόσημο και οι υπόλοιποι 15 το αντίστροφο. Λήφθηκε αίμα αμέσως μετά τη χορήγηση  $t=0$  h αλλά και σε χρόνους 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48 και 60 ωρών.

Τα επίπεδα συγκέντρωσης της ροπινιρόλης στο πλάσμα μετά τη χορήγησης των δισκίων T και R συνοψίζονται στα διαγράμματα 4.22. Ως TREAT=1 ορίζεται το test και ως TREAT=2 το reference, ώστε να διαχωρίζεται το προϊόν χορήγησης στον εθελοντή.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.22: Προφίλ C – t μετά τη χορήγηση των T (Treat=1) και R (Treat=2) στους εθελοντές.

Χρησιμοποιώντας το Phoenix WinNonlin, εισήχθησαν τα δεδομένα των δύο σκευασμάτων και πραγματοποιήθηκε μη διαμερισματική ανάλυση, υπολογίζοντας τα  $AUC_{inf}$ ,  $C_{max}$  και οι χρόνοι εμφάνισης της μέγιστης συγκέντρωσης (Πίνακας 4.18).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.18: Δείκτες βιοϊσοδυναμίας για τα T και R υπολογισμένοι με NCA.

ID	Test			Reference		
	$C_{max} (\frac{ng}{L})$	$T_{max} (h)$	$AUC_{inf} (h \frac{ng}{L})$	$C_{max} (\frac{ng}{L})$	$T_{max} (h)$	$AUC_{inf} (h \frac{ng}{L})$
1	1722.2	9	29061.8342	1286.3	14	29394.1886
2	1831.3	10	36732.5828	1420.3	5	31168.8645
3	600.9	8	7455.9	835.1	16	16919.4218
4	1092.5	7	27722.6034	1130.8	5	27791.8866
5	1351.6	24	36704.3551	1607	9	40405.9597
6	1417.8	18	24931.8958	1415.5	5	16336.5212
7	722.1	5	16074.0344	1290.6	14	23074.0521
8	1868.2	18	49331.1403	1949.8	5	53009.9451
9	1243.5	8	40833.0536	1523.4	16	33497.2589
10	2137.9	16	44789.7275	1866.4	9	50224.01
11	1468.3	9	37273.4726	1178.3	10	25549.513
12	1558.20545	6	22107.0717	1065.2	6	8330.65671

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΪΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ ΥΓΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

13	1583.72	3	8437.48565	1823.8	12	27744.7718
14	1609.23455	18	46051.9781	2087.1	14	49142.0659
15	1634.74909	18	22959.6114	1617.2	12	25764.0483
16	1660.26364	10	34620.0919	1887.2	16	39489.3228
17	1685.77818	6	25821.4834	1230.5	5	28091.6969
18	1711.29273	5	25890.3197	1253.6	3	25562.3805
19	1736.80727	4	13265.8368	474.8	18	12091.2236
20	1762.32182	14	29423.9582	1563.4	16	39234.4976
21	1787.83636	10	31569.9784	1677.1	16	34725.323
22	1813.35091	16	36932.748	1536.8	16	33308.8561
23	1838.86545	9	31010.1925	1304.2	5	30242.6479
24	1864.38	14	29716.9425	1106.9	16	35990.0799
25	1401.6	16	31694.6585	1066.6	5	23137.0999
26	1209.9	24	33599.9087	1456.3	14	27966.9347
27	918	5	27857.2913	1104.7	14	31639.5207
28	1349.6	18	29198.8241	1421.2	14	27193.7245
29	1370	5	24413.4802	1140.7	5	24112.7224
30	1081.5	24	24347.5759	1176.4	16	27551.164
<b>N</b>	30	30	30	30	30	30
<b>min</b>	589.5	3	7455.9	474.8	3	8330.65671
<b>max</b>	2137.9	24	49331.1403	2087.1	18	53009.9451
<b>average</b>	1337.527	11.9	29327.66788	1383.24	11.03333	29956.34527

Οι τιμές του  $C_{max}$  κυμαίνονται μεταξύ  $589.5 - 2137.9 \frac{ng}{L}$  για το υπό μελέτη προϊόν και μεταξύ  $474.8 - 2087.1 \frac{ng}{L}$  για το πρωτότυπο και εμφανίζονται σε ένα μεγάλο εύρος ωρών με μέση τιμή τις 11 – 12 ώρες και για τα δύο προϊόντα. Ενώ για το  $AUC_{inf}$  οι τιμές των T και R βρίσκονται στο εύρος  $7455.9 - 49331.14 h \frac{ng}{L}$  και  $8330.67 - 53009.95 h \frac{ng}{L}$  αντίστοιχα.

Για την απλή χορήγηση, οι δείκτες απόδειξης βιοϊσοδυναμίας τόσο από τον EMA όσο και από τον FDA είναι το  $AUC_{inf}$  το οποίο είναι ενδεικτικό της έκτασης της απορρόφησης και ο δείκτης  $C_{max}$ , ενδεικτικός του ρυθμού απορρόφησης. Με τα δεδομένα του πίνακα 4.18 πραγματοποιήθηκε ανάλυση βιοϊσοδυναμίας στο Phoenix WinNonlin, τα αποτελέσματα της οποίας παρουσιάζονται στον πίνακα 4.19. Όπως φαίνεται για το 90% διάστημα εμπιστοσύνης (CI 90%) οι τιμές των δεικτών είναι εντός του ορίου βιοϊσοδυναμίας 80 – 125%. Παρατηρείται η αποδοχή της βιοϊσοδυναμίας ακόμα και για υψηλότερες τιμές διαστήματος εμπιστοσύνης (95%). Επομένως, τα δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα χρησιμοποιώντας την κλασική NCA για την εύρεση των δεικτών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.19: Απόδειξη βιοϊσοδυναμίας των T και R χρησιμοποιώντας την NCA.

Dependent	Ln( $C_{max}$ )	Ln( $AUC_{inf}$ )
Units	ng/L	h*ng/L
RefGeoLSM	1334.186	28049.7
TestGeoLSM	1265.371	27188.93
Difference	-0.05296	-0.03117
Diff_SE	0.055327	0.067042
Diff_DF	28	28
Ratio_%Ref_	94.84219	96.93127
CI_80_Lower	88.19903	88.76639

CI_80_Upper	101.9857	105.8472
CI_90_Lower	<b>86.32296</b>	<b>86.48365</b>
CI_90_Upper	<b>104.2022</b>	<b>108.641</b>
CI_95_Lower	84.6802	84.49339
CI_95_Upper	106.2237	111.2001

Στην παραπάνω ανάλυση βιοϊσοδυναμίας δε χρησιμοποιήθηκαν τα πληθυσμιακά φαρμακοκινητικά μοντέλα που αναπτύχθηκαν στην ενότητα 4.2, αλλά έγινε μη διαμερισματική ανάλυση για των υπολογισμό των δεικτών βιοϊσοδυναμίας. Ο υπολογισμός των ίδιων δεικτών πραγματοποιήθηκε και χρησιμοποιώντας το Simulx, μια συνάρτηση R του πακέτου mlxR μέσω της οποίας γίνονται προβλέψεις και δημιουργούνται δεδομένα για τα μοντέλα Mlxtran. Συγκεκριμένα, μέσω της exposure.R υπολογίζεται η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη C – t, οι μέγιστες και οι ελάχιστες τιμές της συγκέντρωσης και τους αντίστοιχους χρόνους που εμφανίζονται. Προέκυψαν τα αποτελέσματα του πίνακα 4.20 στα οποία χρησιμοποιήθηκαν τα τελικά ΦΚ μοντέλα των test και reference που αναπτύχθηκαν παραπάνω. Με αυτόν τον τρόπο, υπολογίζονται οι δείκτες βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου, χωρίς να γίνεται γραμμική παρεμβολή από την τελευταία μετρούμενη τιμή της συγκέντρωσης μέχρι το άπειρο. Επιλέχθηκε βήμα 0.01, ώστε ο υπολογισμός να είναι αξιόπιστος και μετρήθηκε το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για t=300 h, ώστε να προσεγγίζει το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη C – t σε άπειρο χρόνο.

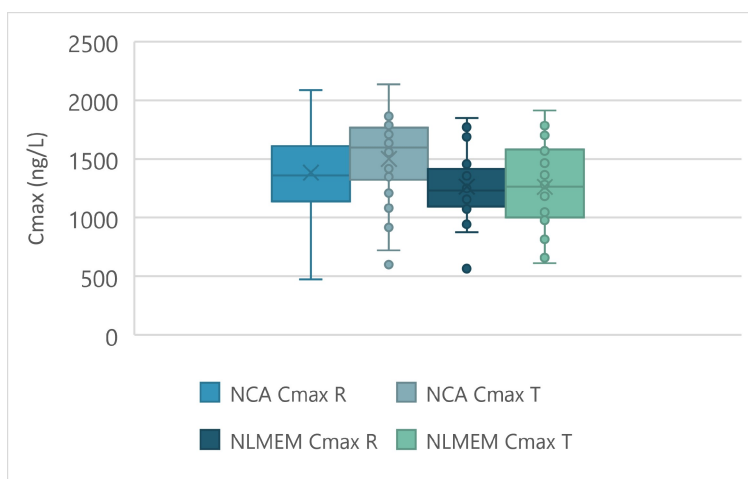
ΠΙΝΑΚΑΣ 4.20: Δείκτες βιοϊσοδυναμίας για τα T και R υπολογισμένοι με βάση το ΦΚ μοντέλο.

ID	T <sub>1</sub> (h)	T <sub>2</sub> (h)	Step (h)	Reference			Test		
				AUC (h*ng/L)	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ng/L)	AUC (h*ng/L)	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ng/L)
1	0	300	0.01	26999.516	14.02	1289.7205	26401.84	10.74	1621.4715
2	0	300	0.01	28267.514	6.49	1280.0569	35458.23	10.7	1784.2122
3	0	300	0.01	15764.168	14.57	877.1719	12071.82	20.34	690.1171
4	0	300	0.01	25478.872	16.51	1102.1943	27654.83	26.31	987.7909
5	0	300	0.01	37877.355	15.39	1456.4468	33913.25	20.83	1299.8367
6	0	300	0.01	15733.655	4.25	1175.9975	22540.26	16.77	1189.5852
7	0	300	0.01	20821.036	14.18	1203.0853	15250.18	14.43	814.9155
8	0	300	0.01	49544.686	15.38	1849.5169	47604.65	18.8	1733.6515
9	0	300	0.01	30370.947	14.42	1356.9993	39232.53	20.54	1283.0549
10	0	300	0.01	46921.593	15.05	1771.6691	40409.26	14.94	1758.7286
11	0	300	0.01	24687.274	15.61	974.7486	36639.09	21.1	1337.8051
12	0	300	0.01	8837.236	3.71	952.1892	21357.39	14.22	999.296
13	0	300	0.01	25777.383	12.44	1399.2524	12239.22	3.6	659.0098
14	0	300	0.01	45427.29	14.07	1827.9842	41872.45	17.74	1623.5102
15	0	300	0.01	24036.297	11.5	1417.3581	21057.56	16.49	1114.6548
16	0	300	0.01	35425.127	14.81	1688.5715	30942.84	9.85	1914.2098
17	0	300	0.01	25818.942	6.65	1134.449	24595.56	6.69	979.6657
18	0	300	0.01	23865.692	6.23	1074.4741	25195.36	13.61	1225.9705
19	0	300	0.01	11539.749	16.73	564.7058	13158.16	20.06	611.8068
20	0	300	0.01	35162.549	16.23	1414.6696	28352.47	12.15	1464.5495
21	0	300	0.01	31568.696	14.66	1484.4782	29490.83	18.82	1290.4422

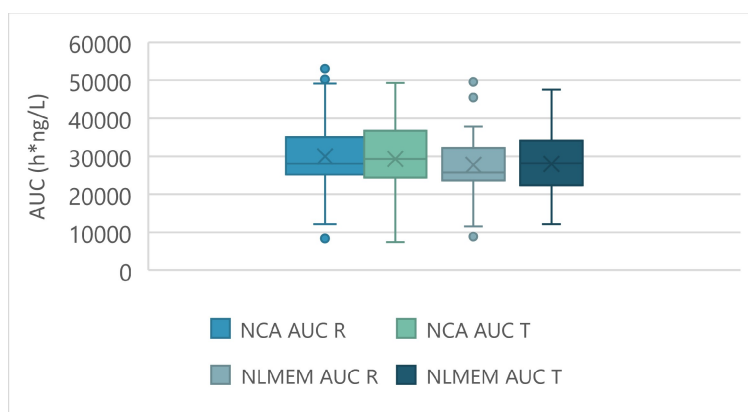
ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΙΣΟΔΥΝΑΜΙΑΣ ΓΕΝΟΣΗΜΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΡΟΠΙΝΙΡΟΛΗΣ ΣΕ ΥΓΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΜΕΣΩ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

22	0	300	0.01	30705.414	15.49	1407.7741	34420.45	15.2	1701.69
23	0	300	0.01	27568.068	6.99	1160.7668	29739.03	7.05	1182.6657
24	0	300	0.01	33952.398	18.53	1214.7419	28218.62	11.3	1568.6411
25	0	300	0.01	21833.802	6.1	944.5439	29833.96	16.02	1365.2532
26	0	300	0.01	25211.428	13.83	1312.8665	30999.97	20.71	1247.7444
27	0	300	0.01	30386.592	16.72	1165.5976	28065.96	21.21	1048.686
28	0	300	0.01	24862.233	13.95	1251.0901	25912.04	14.38	1305.3427
29	0	300	0.01	22904.81	6.96	991.533	24551.42	6.38	1000.0344
30	0	300	0.01	24758.388	16.35	1157.0356	22066.9	21.56	1056.5672
<b>min</b>				8837.236	3.71	564.7058	12071.82	3.6	611.8068
<b>max</b>				49544.686	18.53	1849.5169	47604.65	26.31	1914.2098
<b>average</b>				27736.957	12.594	1263.38962	27974.871	15.418	1262.030307

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 4.20 φαίνεται το T να παρουσιάζει εύρος στις τιμές του  $C_{max}$   $611.8 - 1914.2 \frac{ng}{L}$  και το R  $564.7 - 1849.5 \frac{ng}{L}$  αντίστοιχα, οι τιμές αυτές εμφανίζονται κατά μέσο όρο στις 15.4 h για το R και στις 12.6 h για το R. Οι τιμές εμφάνισης της μέγιστης συγκέντρωσης εμφανίζονται σχετικά αυξημένες με αυτές που υπολογίστηκαν με NCA. Οι τιμές του AUC υπολογίστηκαν για το T μεταξύ  $12071.8 - 47604.6 h \frac{ng}{L}$  και για το R μεταξύ  $8837.2 - 49544.7 h \frac{ng}{L}$ . Στα παρακάτω ραβδογράμματα παρουσιάζεται το εύρος τιμών των δύο παραμέτρων συγκριτικά για τις δύο μεθόδους ανάλυσης για τα δύο προϊόντα.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.23: Τιμές  $C_{max}$  (ng/L) για τα T και R υπολογισμένες με NCA και popPK. Τα error bars συμβολίζουν την τυπική απόκλιση για την NCA και τα τυπικά σφάλματα για την popPK.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.24: Τιμές AUC ( $h \cdot \text{ng/L}$ ) για τα T και R υπολογισμένες με NCA και popPK. Τα error bars συμβολίζουν την τυπική απόκλιση για την NCA και τα τυπικά σφάλματα για την popPK.

Τα νέα δεδομένα AUC,  $C_{\max}$  του πίνακα 4.20 εισάγονται εκ νέου στο Phoenix WinNonlin και διεξάγεται νέα βιοϊσοδυναμία η οποία θα χρησιμοποιεί τους δείκτες του μοντέλου. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 4.21, με τον οποίο προκύπτει ότι τα δύο σκευάσματα είναι βιοϊσοδύναμα για διάστημα εμπιστοσύνης 90%, αλλά και με αύξηση του διαστήματος εμπιστοσύνης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.21: Απόδειξη βιοϊσοδυναμίας T και R με βάση το ΦΚ μοντέλο.

Dependent	$\text{Ln}(C_{\max})$	$\text{Ln}(AUC_{\text{inf}})$
Units	ng/L	$H \cdot \text{ng/L}$
RefGeoLSM	1229.73	26091.35
TestGeoLSM	1212.068	26530.41
Difference	-0.01447	0.016688
Diff_SE	0.041791	0.051802
Diff_DF	28	28
Ratio_%Ref_	98.56374	101.6828
CI_80_Lower	93.303	94.99902
CI_80_Upper	104.1211	108.8368
<b>CI_90_Lower</b>	<b>91.8</b>	<b>93.10576</b>
<b>CI_90_Upper</b>	<b>105.8258</b>	<b>111.05</b>
CI_95_Lower	90.47734	91.4458
CI_95_Upper	107.3729	113.0658

Επομένως, η model – based βιοϊσοδυναμία αποδεικνύεται να φέρει παρόμοια αποτελέσματα και περισσότερη πληροφορία αναφορικά με το σύστημα συγκριτικά με την κλασική NCA, καθώς έχουν εκτιμηθεί οι πληθυσμιακές ΦΚ παράμετροι. Ωστόσο, το υπάρχον σύνολο δεδομένα διαθέτει πλήθος πειραματικών μετρήσεων για κάθε ασθενή (19 δείγματα για κάθε χορηγούμενο προϊόν), επομένως και η NCA λειτουργεί σωστά, χάνοντας ωστόσο πλήθος πληροφορίας. Η εργασία των Pentikis et al. επιβεβαιώνει την παρόμοια λειτουργία των δύο μεθόδων για απλά ΦΚ μοντέλα και προτείνει τη δοκιμή τους για πιο πολύπλοκα σετ δεδομένων, όπως αυτά των διπλών κορυφών απορρόφησης που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε πληθυσμιακή φαρμακοκινητική ανάλυση της ροπινιρόλης, η οποία αποτελεί έναν ανταγωνιστή ντοπαμίνης και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των συμπτωμάτων της νόσου του Πάρκινσον (Sadashivaiah et al., 2020; Sweetman, 2014). Τα πειραματικά δεδομένα, συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα ως προς τον χρόνο, που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της μελέτης προήλθαν από τυχαιοποιημένη, διασταυρωτή, 2x2 μελέτη βιοϊσοδυναμίας σε 30 υγιείς εθελοντές μετά από απλή χορήγηση ενός δισκίου ροπινιρόλης παρατεταμένης αποδέσμευσης 2 mg από το στόμα, σε κατάσταση νηστείας. Οι εθελοντές ήταν 22 άνδρες και 8 γυναίκες ηλικίας 19 – 44 γ, με δείκτη μάζας σώματος 19.4 – 29.8 kg/m<sup>2</sup>.

Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το υπολογιστικό πρόγραμμα Monolix με τη μέθοδο των μη γραμμικών μοντέλων μικτών επιδράσεων. Το Monolix χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο στοχαστικής προσέγγισης της μέγιστης προσδοκίας (SAEM) για τον υπολογισμό της μέγιστης πιθανοφάνειας για περίπλοκα μοντέλα (Chan et al., 2011). Διερευνήθηκε η επίδραση δημογραφικών χαρακτηριστικών (ύψος, βάρος, ηλικία, BMI, φύλο, καταγωγή) ως συμμεταβλητές των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, με σκοπό τον προσδιορισμό της μεταβλητότητας.

Αναπτύχθηκε το πληθυσμιακό ΦΚ μοντέλο τόσο του πρωτοτύπου όσο και του υπό μελέτη προϊόντος ξεχωριστά, ώστε στη συνέχεια να εξεταστεί η βιοϊσοδυναμία τους χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου. Τελικά, το πληθυσμιακό ΦΚ μοντέλο που προέκυψε για το πρωτότυπο προϊόν είναι ένα μονοδιαμερισματικό μοντέλο διπλής κορυφής απορρόφησης, η πρώτη κορυφή απορρόφησης είναι πρώτης τάξης με χρόνο καθυστέρησης lag time, ομοίως και η δεύτερη, η απομάκρυνση από τον οργανισμό είναι γραμμική. Η ύπαρξη διπλής κορυφής απορρόφησης υποδηλώνει τη μεταβλητότητα στην απορρόφηση και την αποδέσμευση. Ακολούθησε η εύρεση του μοντέλου σφάλματος το οποίο περιγράφει καλύτερα την υπόλοιπη μεταβλητότητα. Το αναλογικό μοντέλο σφάλματος εμφάνισε τα καλύτερα αποτελέσματα, καθώς ο προσθετικός όρος του συνδυαστικού μοντέλου είναι πρακτικά μηδέν και δεν επιτρέπει τη σωστή λειτουργία του αλγορίθμου. Ακολούθησε η αξιολόγηση της επίδρασης των δημογραφικών χαρακτηριστικών στο μοντέλο πρωτοτύπου, στο οποίο βρέθηκε η ηλικία να επηρεάζει αρνητικά το κλάσμα του φαρμάκου που απορροφάται από την πρώτη κορυφή απορρόφησης και προστέθηκε ως συμμεταβλητή σε αυτό.

Ο χρόνος εμφάνισης της μέγιστης συγκέντρωσης διαφέρει ανά εθελοντή και παρουσιάζεται σε ένα εύρος 4 – 19 h μετά τη χορήγηση. Αυτό έρχεται σε μερική συμφωνία με τη βιβλιογραφική μελέτη του πρωτοτύπου, η οποία αναφέρει μέγιστη συγκέντρωση στις 6 h (Tompson & Vearer, 2007). Όσον αφορά τις πληθυσμιακές ΦΚ τιμές, οι σταθερές απορρόφησης των δύο κορυφών ( $ka_1$ ,  $ka_2$ ) υπολογίστηκαν 0.0976 και 0.212 h<sup>-1</sup> αντίστοιχα. Ο χρόνος καθυστέρησης της πρώτης κορυφής απορρόφησης βρέθηκε να είναι ιδιαίτερα μικρός 0.429 h, ενώ η διαφορά της πρώτης κορυφής απορρόφησης με τη δεύτερη είναι 11.5 h. Ο όγκος κατανομής βρέθηκε 325 L και η κάθαρση 75.4 L/h. Φαίνεται το φάρμακο να απορροφάται κυρίως στην πρώτη απορρόφηση, καθώς το κλάσμα απορρόφησης της βρέθηκε ίσο με 0.787, επομένως περίπου το 80% του φαρμάκου φτάνει στον οργανισμό από την πρώτη απορρόφηση.

Ακολούθησε η ίδια μελέτη για το υπό εξέταση προϊόν (T), το οποίο περιεγράφηκε από ένα μονοδιαμερισματικό ΦΚ μοντέλο διπλής κορυφής απορρόφησης με πρώτη και δεύτερη κορυφή απορρόφησης πρώτης τάξης με καθυστέρηση lag time και γραμμική απομάκρυνση. Το αναλογικό μοντέλο σφάλματος εμφάνισε τα καλύτερα αποτελέσματα καθώς και σε αυτή την περίπτωση ο προσθετικός όρος είναι πρακτικά μηδέν και δεν επιτρέπει τη σωστή λειτουργία του αλγορίθμου. Διαπιστώνεται η κοινή συμπεριφορά των δύο σκευασμάτων όσον αφορά το δομικό μοντέλο και το μοντέλο σφάλματος. Στη συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση των ατομικών χαρακτηριστικών κάθε εθελοντή στη μεταβλητότητα. Η ηλικία εμφάνισε στατιστικά σημαντική επίδραση τόσο στο κλάσμα του φαρμάκου

που απορροφάται από την πρώτη απορρόφηση όσο και στην κάθαρση και προστέθηκε ως συμμεταβλητή στις πληθυσμιακές παραμέτρους.

Οι σταθερές απορρόφησης των δύο κορυφών υπολογίστηκαν 0.09 και 0.28 h<sup>-1</sup> αντίστοιχα. Ο χρόνος καθυστέρησης της πρώτης απορρόφησης είναι 0.34 h και η διαφορά στο χρόνο εμφάνισης μεταξύ πρώτης και δεύτερης κορυφής απορρόφησης είναι 13.27 h. Ο όγκος κατανομής του φαρμάκου υπολογίστηκε στα 306 L και η κάθαρση 75.37 L/h. Περίπου το 80% του φαρμάκου και σε αυτή την περίπτωση απορροφάται από την πρώτη απορρόφηση. Παρατηρείται κοινή συμπεριφορά των δύο φαρμάκων όσον αφορά τις ΦΚ παραμέτρους που υπολογίστηκαν.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μη διαμερισματική ΦΚ ανάλυση των δεδομένων των δύο προϊόντων με σκοπό την απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας τους με τον κλασικό τρόπο. Έγινε χρήση του προγράμματος Phoenix WinNonlin μέσω του οποίου υπολογίστηκαν οι δείκτες AUC<sub>inf</sub>, C<sub>max</sub> για καθένα από τα T και R. Οι τιμές του C<sub>max</sub> κυμαίνονται 589.5 – 2137.9  $\frac{ng}{L}$  για το T και 474.8 – 2087.1  $\frac{ng}{L}$  για το R. Οι τιμές του AUC<sub>inf</sub> των T και R βρίσκονται στο εύρος 7455.9 – 49331.14 h  $\frac{ng}{L}$  και 8330.67 – 53009.95 h  $\frac{ng}{L}$  αντίστοιχα. Χρησιμοποιώντας το ίδιο υπολογιστικό πρόγραμμα πραγματοποιήθηκε ανάλυση βιοϊσοδυναμίας των δεικτών και αποδείχθηκε η βιοϊσοδυναμία των δύο προϊόντων για διάστημα εμπιστοσύνης ίσο με 90%.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του πληθυσμιακού ΦΚ μοντέλου που υπολογίστηκαν μέσω του Monolix. Για αυτό το λόγο, τα τελικά μοντέλα των T και R εισήχθησαν στο Rstudio και μέσω του Simulx το οποίο συνδέει το Monolix με το Rstudio υπολογίστηκαν οι δείκτες AUC<sub>inf</sub> και C<sub>max</sub> με βάση το πληθυσμιακό ΦΚ μοντέλο που έχει βρεθεί να περιγράφει καλύτερα τα δεδομένα. Οι τιμές του C<sub>max</sub> των T και R κυμαίνονται στο εύρος 611.8 – 1914.2  $\frac{ng}{L}$  και 564.7 – 1849.5  $\frac{ng}{L}$  αντίστοιχα. Οι τιμές του AUC υπολογίστηκαν για το T 12071.8 – 47604.6 h  $\frac{ng}{L}$  και για το R 8837.2 – 49544.7 h  $\frac{ng}{L}$ . Για 90% διάστημα εμπιστοσύνης αποδείχθηκαν βιοϊσοδύναμα τα δύο προϊόντα χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα του μοντέλου.

Συμπεραίνεται ότι η πληθυσμιακή ΦΚ ανάλυση μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πλήθος εφαρμογών στην ανάπτυξη των φαρμάκων τόσο για τη βαθύτερη γνώση της φαρμακοκινητικής του, η οποία δεν είναι εφικτή με μη διαμερισματική ανάλυση, όσο και για την απόδειξη της βιοϊσοδυναμίας σε περιπτώσεις που η NCA είναι δύσκολο να εφαρμοστεί. Η ανάλυση αυτή μπορεί να βρει εφαρμογή σε μελέτες ειδικών πληθυσμών στις οποίες προκύπτουν ηθικοί προβληματισμοί για τη συχνή δειγματοληψία και τη χορήγηση.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aarons, L. (1991). Population pharmacokinetics: theory and practice. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 32(6), 669–670. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1991.tb03971.x>
- Aoki, Y., Röshammar, D., Hamrén, B., & Hooker, A. C. (2017). Model selection and averaging of nonlinear mixed-effect models for robust phase III dose selection. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 44(6), 581–597. <https://doi.org/10.1007/s10928-017-9550-0>
- Balakrishnan, N. (2014). Methods and Applications of Statistics in Clinical Trials. In *Methods and Applications of Statistics in Clinical Trials* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1002/9781118596005>
- Bhattaram, V. A., Booth, B. P., Ramchandani, R. P., Beasley, B. N., Wang, Y., Tandon, V., Duan, J. Z., Baweja, R. K., Marroum, P. J., Uppoor, R. S., Rahman, N. A., Sahajwalla, C. G., Powell, J. R., Mehta, M. U., & Gobburu, J. V. S. (2005). Impact of pharmacometrics on drug approval and labeling decisions: A survey of 42 new drug applications. *AAPS Journal*, 7(3), 503–512. <https://doi.org/10.1208/aapsj070351>
- Bonate, P. L. (2011). Pharmacokinetic- Pharmacodynamic Modeling and Simulation. In *Springer US*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9485-1>
- Bonnet, A. ., & Houeto, J. . (1999). Pathophysiology of Parkinson’s Disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53(3), 117–121. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(99\)80076-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0753-3322(99)80076-6)
- Bulitta, J. B., & Holford, N. H. G. (2014). Noncompartmental Analysis. In *Methods and Applications of Statistics in Clinical Trials* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1002/9781118596333.ch27>
- Carrasco-Portugal, M. del C., & Flores-Murrieta, F. J. (2011). Gender Differences in the Pharmacokinetics of Oral Drugs. *Pharmacology & Pharmacy*, 02(01), 31–41. <https://doi.org/10.4236/pp.2011.21004>
- Chan, P. L. S., Jacqmin, P., Lavielle, M., McFadyen, L., & Weatherley, B. (2011). The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 38(1), 41–61. <https://doi.org/10.1007/s10928-010-9175-z>
- Combrink M, McFadyen ML, Miller R (1997) A comparison of the standard approach and the NONMEM approach in the estimation of bioavailability in man. *J Pharm Pharmacol* 49: 731-733.
- Contin, M., Lopane, G., Mohamed, S., Calandra-Buonaura, G., Capellari, S., De Massis, P., Nasseti, S., Perrone, A., Riva, R., Sambati, L., Scaglione, C., & Cortelli, P. (2019). Clinical pharmacokinetics of pramipexole, ropinirole and rotigotine in patients with Parkinson’s disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 61(November 2018), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2018.11.007>
- Dhillon, S., & Gill, K. (2006). Clinical\_Pharmacokinetics\_Samplechapter. *Journal of Pharmacy*, 6(3), 1–44. <papers://d8e9569c-3053-4f4e-bfb0-c8b1b3194e73/Paper/p6640>
- Dosne, A. G., Bergstrand, M., & Karlsson, M. O. (2016). A strategy for residual error modeling incorporating scedasticity of variance and distribution shape. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 43(2), 137–151. <https://doi.org/10.1007/s10928-015-9460-y>
- Dubois, A., Gsteiger, S., Pigeolet, E., & Mentré, F. (2010). Bioequivalence tests based on individual estimates using non-compartmental or model-based analyses: Evaluation of estimates of sample means and type i error for different designs. *Pharmaceutical Research*, 27(1), 92–104. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9980-5>
- EMA. (2010). Guideline on the Investigation of Bioequivalence. *European Medicines Agency, Committee for Medical Products for Human Use (CHPM)*, Vol. 1(January), 76–80.



- FDA. (2001). Guidance for Industry Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence. *Center for Drug Evaluation and Research (CDER)*, 4(January), 48. <http://www.lexjansen.com/pharmasug/2008/sp/sp04.pdf>
- FDA. (2002). Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence. *FDA Guidance, July*, 1–24.
- FDA. (2014). Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs—General Considerations. *Center for Drug Evaluation and Research (CDER)*, March, 24.
- FDA. (2019). Guidance for Industry Population Pharmacokinetics. *FDA Guidance, July*, 31.
- Flessner, M. F. (2003). Pharmacokinetics. In *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)* (pp. 805–820).
- Fradette C, Lavigne J, Waters D, Ducharme MP (2005) The utility of the population approach applied to bioequivalence in patients: comparison of 2 formulations of cyclosporine. *Ther Drug Monit* 27: 592-600.
- Gabrielsson J., Weiner D. (2012) Non-compartmental Analysis. In: Reisfeld B., Mayeno A. (eds) *Computational Toxicology. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 929. Humana Press, Totowa, NJ. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-050-2\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-050-2_16)
- Gerlie, G. (2007). Phase 1 Studies and Early Drug Development. *Office of Clinical Pharmacology, DIV. IV. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration*. <https://www.fda.gov/downloads/training/clinicalinvestigatortrainingcourse/ucm340007.pdf>
- Godfrey, K. R., Arundel, P. A., Dong, Z., & Bryant, R. (2009). Modelling the Double Peak Phenomenon in pharmacokinetics. In *IFAC Symposium on Modeling and Control in Biomedical Systems*. IFAC. <https://doi.org/10.3182/20090812-3-DK-2006.0001>
- Hooker, A. C. (2017). Model-based Approaches as Guidance to Bioequivalence Decision Making : Design and Analysis Considerations. *Leveraging Quantitative Methods and Modeling to Modernize Generic Drug Development and Review. Dept. of Pharmaceutical Biosciences Uppsala University Uppsala, Sweden*.
- Hu C, Moore KH, Kim YH, Sale ME (2004) Statistical issues in a modeling approach to assessing bioequivalence or PK similarity with presence of sparsely sampled subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 31: 321-339.
- Hubble, J., Koller, W. C., Atchison, P., Taylor, A. C., Citerone, D. R., Zussman, B. D., Friedman, C. J., & Hawker, N. (2000). Linear pharmacokinetic behavior of ropinirole during multiple dosing in patients with Parkinson’s disease. *Journal of Clinical Pharmacology*, 40(6), 641–646. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.2000.tb05990.x>
- Jankovic, J. (2008). Parkinson’s disease: Clinical features and diagnosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 79(4), 368–376. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.131045>
- Johnson, J. A. (1997). Influence of race or ethnicity on pharmacokinetics of drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86(12), 1328–1333. <https://doi.org/10.1021/js9702168>
- Kaniwa N, Aoyagi N, Ogata H, Ishii M (1990) Application of the NONMEM method to evaluation of the bioavailability of drug products. *J Pharm Sci* 79: 1116-1120.
- Karatza, E., & Karalis, V. (2020). Delay differential equations for the description of Irbesartan pharmacokinetics: A population approach to model absorption complexities leading to dual peaks. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 153(July), 105498. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105498>
- Kvernmo, T., Härtter, S., & Burger, E. (2006). A review of the receptor-binding and pharmacokinetic properties of dopamine agonists. *Clinical Therapeutics*, 28(8), 1065–1078. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2006.08.004>
- Maier GA, Lockwood GF, Oppermann JA, Wei G, Bauer P, et al. (1999) Characterization of the highly

- variable bioavailability of tiludronate in normal volunteers using population pharmacokinetic methodologies. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 24: 249-254.
- McLeod, H. L., & He, Y. (2020). Pharmacokinetics for the prescriber. *Medicine (United Kingdom)*, 48(7), 433–438. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2020.04.012>
- Metsugi, Y., Miyaji, Y., Ogawara, K. I., Higaki, K., & Kimura, T. (2008). Appearance of double peaks in plasma concentration-time profile after oral administration depends on gastric emptying profile and weight function. *Pharmaceutical Research*, 25(4), 886–895. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9469-z>
- Mirfazaelian, A., & Mahmoudian, M. (2006). A simple pharmacokinetics subroutine for modeling double peak phenomenon. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 27(3), 119–124. <https://doi.org/10.1002/bdd.492>
- Missale, C., Russel Nash, S., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*, 78(1), 189–225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>
- Mould, D. R., & Upton, R. N. (2012). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 1(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/psp.2012.4>
- Mould, D. R., & Upton, R. N. (2013). Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development - Part 2: Introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 2(4). <https://doi.org/10.1038/psp.2013.14>
- Nashatizadeh, M., Lyons, K. E., & Pahwa, R. (2009). A review of ropinirole prolonged release in Parkinson's disease. *Clinical Interventions in Aging*, 4(1), 179–186. <https://doi.org/10.2147/cia.s3358>
- Nerella, N. G., Block, L. H., & Noonan, P. K. (1993). The Impact of Lag Time on the Estimation of Pharmacokinetic Parameters. I. One-Compartment Open Model. In *Pharmaceutical Research: An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists* (Vol. 10, Issue 7, pp. 1031–1036). <https://doi.org/10.1023/A:1018970924508>
- Nguyen, T. H. T., Mouksassi, M. S., Holford, N., Al-Huniti, N., Freedman, I., Hooker, A. C., John, J., Karlsson, M. O., Mould, D. R., Perez Ruixo, J. J., Plan, E. L., Savic, R., Van Hasselt, J. G. C., Weber, B., Zhou, C., Comets, E., & Mentre, F. (2017). Model evaluation of continuous data pharmacometric models: Metrics and graphics. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 6(2), 87–109. <https://doi.org/10.1002/psp4.12161>
- Panhard X, MentrÃ© F (2005) Evaluation by simulation of tests based on non-linear mixed-effects models in pharmacokinetic interaction and bioequivalence cross-over trials. *Stat Med* 24: 1509-1524.
- Park, S. M., Lee, J., Seong, S. J., Park, J. G., Gwon, M., Lim, M., Lee, H. W., Yoon, Y., Yang, D. H., Kwon, K., & Han, S. (2014). *Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of transformed binary effect data of triflusal in healthy Korean male volunteers : a randomized , open-label , multiple dose , crossover study.* 1–10.
- Pentikis, H. S., Henderson, J. D., Tran, N. L., & Ludden, T. M. (1996). Bioequivalence: Individual and Population Compartmental Modeling Compared to the Noncompartmental Approach. *Pharmaceutical Research*, 13(7), 6.
- Rescigno A. (1988) Stochastic Models and Linear Tracer Kinetics. In: Rescigno A., Boicelli A. (eds) *Cerebral Blood Flow*. NATO ASI Series (Series A: Life Sciences), vol 153. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5565-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5565-6_1)
- Sadashivaiah, R., Satheesha Babu, B. K., & Rohith, G. (2020). A COMPARATIVE EVALUATION OF PERMEATION ENHANCERS FOR ROPINIROLE HYDROCHLORIDE A BCS CLASS III DRUG TO BE FORMULATED AS TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM. *International Journal of*

- Pharmaceutical Science and Research*, 11(12), 6149–6156.  
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(12\).6149-56](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(12).6149-56)
- Sassen, S. D. T., Zwaan, C. M., van der Sluis, I. M., & Mathôt, R. A. A. (2020). Pharmacokinetics and population pharmacokinetics in pediatric oncology. *Pediatric Blood and Cancer*, 67(4), 1–11.  
<https://doi.org/10.1002/pbc.28132>
- Savic, R. M., Jonker, D. M., Kerbusch, T., & Karlsson, M. O. (2007). Implementation of a transit compartment model for describing drug absorption in pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 34(5), 711–726. <https://doi.org/10.1007/s10928-007-9066-0>
- Savitt, J. M., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2006). Diagnosis and treatment of Parkinson disease: Molecules to medicine. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1744–1754.  
<https://doi.org/10.1172/JCI29178>
- Schwab, D. M., Schaeffeler, E., Brinkmann, U., Zanger, U., & Eichelbaum, M. (2002). Pharmacokinetic differences between ethnic groups. *The Lancet*, 359(9300), 78–79.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07297-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07297-5)
- Sheiner, L. B., & Beal, S. L. (1980). Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. I. Michaelis-menten model: Routine clinical pharmacokinetic data. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 8(6), 553–571. <https://doi.org/10.1007/BF01060053>
- Sheiner, L. B., & Beal, S. L. (1981). Some suggestions for measuring predictive performance. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 9(4), 503–512.  
<https://doi.org/10.1007/BF01060893>
- Sheiner, L. B., & Beal, S. L. (1983). Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. III. Monoexponential model: Routine clinical pharmacokinetic data. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 11(3), 303–319. <https://doi.org/10.1007/BF01061870>
- Sheiner, L. B., & Beal, S. L. (1985). Pharmacokinetic parameter estimates from several least squares procedures: Superiority of extended least squares. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 13(2), 185–201. <https://doi.org/10.1007/BF01059398>
- Sheiner, L. B., Rosenberg, B., & Marathe, V. V. (1977). Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 5(5), 445–479. <https://doi.org/10.1007/BF01061728>
- Shen, D., Lu, Z., & Pharmaceuticals, A. (2007). Population Pharmacokinetics Studies With Nonlinear Mixed Effects Modeling. *SAS Global Forum*, 1–11.  
<http://www2.sas.com/proceedings/forum2007/148-2007.pdf>
- Sweetman, S. C. (2014). Martindale: The Complete Drug Reference. *Pharmaceutical Press*.
- Tompson, D. J., & Vearer, D. (2007). Steady-state pharmacokinetic properties of a 24-hour prolonged-release formulation of ropinirole: Results of two randomized studies in patients with Parkinson's disease. *Clinical Therapeutics*, 29(12), 2654–2666.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2007.12.010>
- Traynard, P., Ayrat, G., Twarogowska, M., & Chauvin, J. (2020). Efficient Pharmacokinetic Modeling Workflow With the MonolixSuite : A Case Study of Remifentanyl. *CTP Pharmacometrics Syst. Pharmacol.*, 198–210. <https://doi.org/10.1002/psp4.12500>
- Wagner, J. G. (1967). Use of computers in pharmacokinetics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 8(1 PART 2), 201–218. <https://doi.org/10.1002/cpt196781part2201>
- WHO. (2017). Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. *WHO Technical Report Series, No. 1003*, 181–236.  
<http://www.regulations.gov>.
- Yano, Y., Beal, S. L., & Sheiner, L. B. (2001). Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*,

28(2), 171–192. <https://doi.org/10.1023/A:1011555016423>

Zhou H, Mayer PR, Wajdula J, Fatenejad S (2004) Unaltered etanercept pharmacokinetics with concurrent methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Pharmacol* 44: 1235-1243.

### Ελληνική βιβλιογραφία

Δοκουμετζίδης Α. (2020) Πληθυσμιακή φαρμακοκινητική. Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Βιομηχανική Φαρμακευτική, Αθήνα

Κεχαγιά Ειρήνη-Αριάδνη. (2012) «ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΗΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ VALACICLOVIR ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗΣ», Μ.Δ.Ε. «Βιομηχανική Φαρμακευτική»

Συμλλίδου, (2019 – 2020) «Παλινδρόμηση και Συσχέτιση» e – class, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Βιομηχανική Φαρμακευτική, Αθήνα

Snell R. (2008) Κλινική Νευροανατομική. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας

### Ιστοσελίδες

[www.certara.com/software/phoenix-winnonlin](http://www.certara.com/software/phoenix-winnonlin)

[www.dataset.lixoft.com/data-set-user-guide](http://www.dataset.lixoft.com/data-set-user-guide)

[www.fda.gov/drugs/generic-drugs/what-are-generic-drugs](http://www.fda.gov/drugs/generic-drugs/what-are-generic-drugs)

[www.galinos.gr](http://www.galinos.gr)

[www.monolix.lixoft.com/graphics/random-effects-joint-dist](http://www.monolix.lixoft.com/graphics/random-effects-joint-dist)

[www.monolix.lixoft.com/tasks/population-parameter-estimation-using-saem](http://www.monolix.lixoft.com/tasks/population-parameter-estimation-using-saem)

[www.parkinsonassociation.org](http://www.parkinsonassociation.org)

[www.rsmlx.webpopix.org](http://www.rsmlx.webpopix.org)

[www.simulx.webpopix.org](http://www.simulx.webpopix.org)