



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Διπλωματική Εργασία

Ανάπτυξη Φαρμακοκινητικών Μοντέλων για
την Περιγραφή της Βιοκατανομής
Νανοσωματιδίων Διοξειδίου του Τιτανίου

Μηναδάκης Βασίλειος

Επιβλέπων Καθηγητής:
Χαράλαμπος Σαρίμβεης

Αθήνα, 2021

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία υλοποιεί την ανάπτυξη ενός φαρμακοκινητικού μοντέλου PBPK για την περιγραφή της βιοκατανομής νανοσωματιδίων TiO_2 σε αρουραίους. Η βασική μεθοδολογία που αναπτύχθηκε σχετίζεται με την εφαρμογή ενός μοντέλου διαφορικών εξισώσεων σε διαθέσιμα πειραματικά δεδομένων με χρήση Μπεϋζιανής στατιστικής, ενώ ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στην ανάλυση ευαισθησίας και στην επικουρική της δράση κατά την κατασκευή ενός μοντέλου PBPK.

Το μοντέλο που αναπτύχθηκε για τους σκοπούς αυτής της εργασίας εστιάζει αποκλειστικά στην προσομοίωση των μηχανισμών κατανομής νανοσωματιδίων και συνδυάζει στοιχεία από τα μοντέλα των Li *et al.*(2014) και Aborig *et al.*(2019). Τα πειραματικά δεδομένα που αξιοποιήθηκαν προέρχονται από τη μελέτη των Kreyling *et al.*(2017) και αφορούν τη χορήγηση νανοσωματιδίων TiO_2 σε αρουραίους με ενδοφλέβια ένεση.

Αρχικά, γίνεται αναφορά στις θεωρητικές έννοιες, οι οποίες απαιτούνται για την κατανόηση του σκοπού, του τρόπου ανάπτυξης και της λειτουργίας ενός PBPK μοντέλου για νανοσωματίδια. Επιπλέον, παρουσιάζονται αναλυτικά τα μαθηματικά θεμέλια στα οποία στηρίχτηκε η δόμηση του μοντέλου της εργασίας.

Η ανάπτυξη του PBPK μοντέλου διακρίνεται σε πολλαπλά στάδια. Το πρώτο στάδιο ανάπτυξης του μοντέλου εστιάζει στη συλλογή των απαραίτητων φυσιολογικών παραμέτρων που αφορούν τον οργανισμό των αρουραίων, όπως η μάζα, ο όγκος και η ροή αίματος κάθε οργάνου. Στη συνέχεια, αναπτύσσονται οι διαφορικές εξισώσεις που περιγράφουν τα ισοζύγια μάζας μεταξύ των δέκα διαφορετικών διαμερισμάτων του φαρμακοκινητικού μοντέλου. Ακολουθεί χειροκίνητη προσαρμογή του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα προκειμένου να προσεγγιστεί αδρομερώς ο χώρος των παραμέτρων για τις οποίες δεν υπήρχε διαθέσιμη πληροφορία.

Το επόμενο στάδιο αφορά την εφαρμογή δύο μεθόδων ολικής ανάλυσης ευαισθησίας αλλά και την ανάπτυξη του στατιστικού μοντέλου για τον προσδιορισμό των σημαντικότερων παραμέτρων. Η ολική ανάλυση ευαισθησίας εφαρμόστηκε με σκοπό τη διάκριση εκείνων των παραμέτρων που επηρεάζουν περισσότερο την απόκριση του μοντέλου. Προκειμένου να αναλυθεί σε βάθος η επίδραση της κάθε παραμέτρου δοκιμάζονται διαφορετικά σχήματα ανάλυσης ευαισθησίας. Αρχικά, εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι Morris και Sobol, δύο δομικά διαφορετικές προσεγγίσεις στην ολική ανάλυση ευαισθησίας. Εκτός από την ανάλυση ευαισθησίας των παραμέτρων του μοντέλου, μελετάται η επίδραση που έχει ο τύπος της κατανομής που ακολουθεί κάθε παράμετρος, καθώς και η πληροφορία την οποία ενσωματώνει, στα αποτελέσματα της ανάλυσης των δύο μεθόδων. Στο τέλος της ολικής ανάλυσης ευαισθησίας και μετά την εξαγωγή συμπερασμάτων για τις σημαντικότερες παραμέτρους, ακολουθεί η ανάπτυξη του στατιστικού μοντέλου για την εκτίμηση των παραμέτρων μέσω των πειραματικών δεδομένων. Το στατιστικό μοντέλο αναπτύχθηκε στην πιθανοτική γλώσσα STAN η οποία καλείται μέσω της γλώσσας προγραμματισμού R.

Τέλος, γίνεται παρουσίαση και σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων ολικής ανάλυσης ευαισθησίας μέσω διαγραμμάτων και εξάγονται συμπεράσματα σχετικά με το ποιο σχήμα ανάλυσης ευαισθησίας δίνει πιο σαφή αποτελέσματα. Ακολουθεί η αξιολόγηση της προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου. Στο πρώτο στάδιο της αξιολόγησης, εξετάζεται η ικανότητα του μοντέλου να προβλέψει τα πειραματικά δεδομένα που αξιοποιήθηκαν στο στατιστικό μοντέλο. Η αξιολόγηση πραγματοποιείται μέσω διαγραμμάτων μάζας-χρόνου και διαγραμμάτων οπτικού προβλεπτικού ελέγχου. Στο δεύτερο στάδιο, αναλύεται η ικανότητα του μοντέλου να προβλέπει τα αποτελέσματα εξωτερικών μελετών, εξετάζοντας πως ανταποκρίνεται το μοντέλο σε νανοσωματίδια διαφορετικών διαμέτρων και διαφορετικής δόσης σε σχέση με την αρχική έρευνα που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των παραμέτρων. Τέλος, γίνεται αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και εξάγονται συμπεράσματα για την επίδραση που έχει το μέγεθος των νανοσωματιδίων και το ύψος της δόσης στην προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου.

Abstract

The purpose of this diploma thesis is the development of a Physiologically Based Pharmacokinetic Model (PBPK) for predicting the biodistribution of TiO₂ nanomaterials after intravenous injection in rats. The methodology developed focuses on both the implementation of a Bayesian statistical model for fitting a set of ordinary differential equations to available experimental data, and on how parametric sensitivity analysis can facilitate the construction of a PBPK model.

The target of the PBPK model is to simulate the biodistribution of titanium dioxide nanomaterials in rats. For this reason, the model incorporates some structural elements from the studies of Li *et al.*(2014) and Aborig *et al.*(2019). The experimental data used to estimate the values of the parameters of the model, were obtained from the study of Kreyling *et al.*(2017) and concern the administration of TiO₂ nanomaterials in rats after intravenous injection.

On the first stage of this thesis, the necessary theoretical background around pharmacokinetic modeling of nanomaterials is presented. Following that, a detailed review of the mathematical theory upon which the model is based is presented.

The development of the PBPK model consists of multiple levels. The primary goal of the first level is to collect information about the values of the physiological parameters of rats, such as the organ mass, volume and blood flow. Subsequently, the system of differential equations which simulate the mass equilibriums between the compartments of the model, is developed. At the end of this stage, plausible values were assigned to those parameters for which no literature information was available, via a trial and error process, which included visual comparison of the experimental data and the simulated curves.

The second stage is related to the implementation of two global sensitivity analysis methods and the development of the statistical model that is used to estimate the most influential parameters. For maximizing the utility of sensitivity analysis, different sensitivity schemes were tested. The Morris and Sobol sensitivity methods are used with two different approaches. In the first approach the sampling distributions of the parameters are strongly informative, while in the second approach they are uninformative. The results of the sensitivity analysis aids the development of the statistical model, through which parameter estimates are obtained from fitting the ordinary differential equations system on the experimental data. The development of the statistical model was accomplished using the statistical language STAN in collaboration with the programming language R.

In the last part of this thesis, the results of the sensitivity analysis and the model fitting are presented. More specifically, a detailed comparison between the Morris and Sobol results is provided to the reader through plots and conclusions regarding the efficiency the different implementetations. The evaluatuon of the PBPK model is realised through mass-time profiles, which present the predicted mass of nanoparticles against the experimental data for each organ. Finally, the ability of the model to accurately predict the biodistribution of different sizes of TiO₂ nanoparticles, as well as different injection doses, is validated using external experimental data.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία είναι το αποτέλεσμα εντατικής δουλειάς και προσήλωσης για ένα διάστημα πολλών μηνών. Παρόλα αυτά, είχα την τύχη να με υποστηρίζουν ορισμένοι άνθρωποι καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της προσπάθειας και η συνεισφορά τους ήταν καθοριστική.

Αρχικά, οφείλω να ευχαριστήσω τον κύριο Χαράλαμπο Σαρίμβεη, καθηγητή Ε.Μ.Π., ο οποίος ήταν επιβλέπων της διπλωματικής εργασίας και μου εμπιστεύτηκε την ανάθεση ενός θέματος εργασίας, το οποίο αποδείχτηκε εξαιρετικά ενδιαφέρον και αποτέλεσε ερέθισμα για μένα, φέρνοντας με σε επαφή με ένα νέο, μέχρι τότε, αντικείμενο μελέτης. Στη συνέχεια, θέλω να ευχαριστήσω τον Περικλή Τσίρο, υποψήφιο διδάκτωρ στο εργαστήριο Αυτόματης Ρύθμισης και Πληροφορικής, καθώς η συμβολή του ήταν κομβικής σημασίας στην εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας. Η γνώση του, η εμπειρία του αλλά και το πάθος του για το παρόν αντικείμενο μελέτης αποτέλεσαν οδηγό για μένα σε όλες τις δυσκολίες που παρουσιάστηκαν και χρειάστηκε να ξεπεράσω, ώστε να ολοκληρώσω την εργασία.

Τέλος, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τους γονείς μου Γιώργο και Ελένη, τον αδερφό μου Ορέστη και τη σύντροφο μου Αναστασία, οι οποίοι αποτελούν σημείο αναφοράς και με υποστηρίζουν κάθε στιγμή, σε κάθε βήμα μου, εδώ και πολλά χρόνια.

Περιεχόμενα

Περίληψη	i
Abstract	iii
Ευχαριστίες	v
Συνομογραφίες	1
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
2 ΦΑΡΜΑΚΟΜΕΤΡΙΑ	6
2.1 Φαρμακοκινητικά μοντέλα βασισμένα στη φυσιολογία (PBPK)	8
2.1.1 Ιστορική αναδρομή	8
2.1.2 Ορισμός και περιγραφή PBPK μοντέλων	9
2.1.3 Μέθοδοι χορήγησης ουσιών	13
2.2 Νανοϋλικά και PBPK μοντελοποίηση	14
2.2.1 Εφαρμογή Νανοσωματιδίων στη Φαρμακευτική	14
2.2.2 Οργανικά και Ανόργανα νανοσωματίδια	15

2.2.3	Μεταλλικά Νανοσωματίδια	16
2.2.4	PBPK μοντελοποίηση Νανοσωματιδίων	18
3	ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ	22
3.1	Μπεϋζιανή στατιστική	22
3.2	Ολοκλήρωση Monte Carlo	24
3.3	Μαρκοβιανές αλυσίδες	25
3.4	Αλγόριθμοι MCMC	27
3.4.1	Monte Carlo Μέθοδος	28
3.4.2	Αλγόριθμος Metropolis	29
3.4.3	Αλγόριθμος Metropolis-Hastings	30
3.4.4	Δειγματολήπτης Gibbs	31
3.4.5	Σύγκλιση και Συσχέτιση αλγορίθμων MCMC	32
3.5	Εκ των προτέρων κατανομές	33
3.5.1	Εκ των προτέρων κατανομές με πληροφορία	33
3.5.2	Εκ των προτέρων κατανομές χωρίς πληροφορία	36
3.5.3	Εκ των προτέρων κατανομές με ασθενή πληροφορία	36
3.6	Ανάλυση Ευαισθησίας	37
3.6.1	Τοπική Ανάλυση Ευαισθησίας	38
3.6.2	Ολική Ανάλυση Ευαισθησίας	39
3.6.2.1	Μέθοδος Morris	39
3.6.2.2	Μέθοδος Sobol	43

4	ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ: ΔΙΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΤΙΤΑΝΙΟΥ	46
4.1	Διοξείδιο του Τιτανίου	46
4.2	Πειραματικά Δεδομένα	47
4.3	Δομικό μοντέλο	49
4.4	Ανάλυση ευαισθησίας	58
4.5	Στατιστικό Μοντέλο	64
4.6	Εφαρμογή Στατιστικού Μοντέλου στη STAN	66
4.7	PBPK Index	69
4.8	Οπτικός Έλεγχος Προβλεπτικής Ικανότητας VPC	70
5	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	72
5.1	Προσέγγιση των Substance-Specific Παραμέτρων	72
5.2	Αποτελέσματα Ανάλυσης Ευαισθησίας	74
5.2.1	Αποτελέσματα Morris και Sobol για κατανομές δειγματοληψίας με πληροφoρία	74
5.2.2	Αποτελέσματα Morris και Sobol για κατανομές δειγματοληψίας χωρίς πλη- ροφoρία	79
5.3	Επιλογή Παραμέτρων προς Προσδιορισμό	82
5.4	Σύγκριση εκ των προτέρων και εκ των υστέρων κατανομών	87
5.5	Προσαρμογή μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα	91
5.6	Διαγράμματα VPC	101
5.7	Πρόβλεψη Εξωτερικών Πειραματικών Δεδομένων	108
6	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	120

Βιβλιογραφία	125
A' Διαγράμματα πρόβλεψης εξωτερικών δεδομένων	135
A'.1 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Elgrabli <i>et al.</i> [65]	135
A'.2 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Xie <i>et al.</i> [79]	139
A'.3 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Garaets <i>et al.</i> [81]	143
A'.3.1 Νανοσωματίδια NM100	143
A'.3.2 Νανοσωματίδια NM102	148
A'.3.3 Νανοσωματίδια NM103	152
A'.3.4 Νανοσωματίδια NM104	155
A'.4 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Disdier <i>et al.</i> [83]	158
A'.5 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Fabian <i>et al.</i> [80]	162
A'.6 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Kamal <i>et al.</i> [84]	165
A'.6.1 Nanoribbons	165
A'.6.2 Nanorods	167
A'.6.3 Nanotubes	169
A'.7 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Shinohara <i>et al.</i> [85]	171

Κατάλογος Πινάκων

4.1	Πειραματικά δεδομένα από την έρευνα των Kreyling <i>et al.</i> [63]. Οι τιμές που αναφέρονται είναι το ποσοστό % της δόσης που μετρήθηκε σε κάθε όργανο ή ιστό την αντίστοιχη χρονική στιγμή συνοδευόμενη από την τυπική απόκλιση της μέτρησης. Η ένδειξη DL (Detection Limit) σημαίνει ότι η ποσότητα ήταν κάτω του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου.	48
4.2	Ποσοστό της δόσης των νανοσωματιδίων TiO ₂ που απεκκρίθηκε μέσω της χολής. .	48
4.3	Ποσοστό της δόσης των νανοσωματιδίων TiO ₂ που εκκρίθηκε μέσω των ούρων . .	49
4.4	Τιμές φυσιολογικών παραμέτρων για αρουραίους Sprague Dawley μάζας 263 g [69].	56
4.5	Τιμές φυσιολογικών παραμέτρων για το φλεβικό και αρτηριακό διαμέρισμα [69],[33].	56
4.6	Τιμές πυκνότητας για τα κάθε διαμέρισμα.	57
4.7	Συντελεστές διαμόρφωσης φυσιολογικών παραμέτρων.	58
4.8	Substance-specific παράμετροι του μοντέλου. Ο δείκτης <i>i</i> αναφέρεται στα διαμερίσματα του μοντέλου.	59
5.1	Τιμές των substance-specific παραμέτρων ανά διαμέρισμα.	73
5.2	Τιμές των subastance-specific παραμέτρων που είναι κοινές για όλα τα διαμερίσματα.	74
5.3	Ομαδοποίηση και σύνοψη παραμέτρων του μοντέλου	82

5.4	PBPK Index για τα 6 μοντέλα.	84
5.5	Συγκριτικά αποτελέσματα μεταξύ των τιμών των PBPK Indexes όπως υπολογίζονται από τους Krishnan <i>et al.</i> (1995)[77] και όπως υπολογίζονται έπειτα από την τροποποίηση.	109
5.6	Συγκεντρωτικός πίνακας εξωτερικών πειραματικών δεδομένων.	111
5.7	Πίνακας τιμών PBPK Index για όλες τις διαθέσιμες μελέτες.	112

Κατάλογος Σχημάτων

2.1	Perfusion vs Permeability rate limited θεωρήση . Στο σχήμα (a) παρουσιάζεται η βασική δομή των διαμερισμάτων μοντέλου που καθορίζεται από τον ρυθμό αιμάτωσης, ενώ στο σχήμα (b) παρουσιάζεται η βασική δομή των διαμερισμάτων μοντέλου που καθορίζεται από την ικανότητα διαπερατότητας της ουσίας [10].	11
2.2	Σχηματικό παράδειγμα PBPK μοντέλου [8].	12
3.1	Παράδειγμα Μαρκοβιανής αλυσίδας. Τα A, B, C είναι οι τρεις πιθανές καταστάσεις και πάνω στα βέλη εμφανίζονται οι πιθανότητες μετάβασης από τη μία κατάσταση στην άλλη.	26
4.1	Σχηματική απεικόνιση του PBPK μοντέλου για νανοσωματίδια TiO_2	51
4.2	Σχηματική απεικόνιση του εσωτερικού κάθε διαμερίσματος του μοντέλου.	52
5.1	Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Morris για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.	75
5.2	Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.	76

- 5.3 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα του Ήπατος. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2. 77
- 5.4 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα της Σπλήνας. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2. 77
- 5.5 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα της Σπλήνας. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2. Οι δείκτες Sobol κάθε παραμέτρου είναι υπολογισμένες ως ο μέσος όρος των δεικτών της παραμέτρου για κάθε διαμέρισμα. 78
- 5.6 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Morris για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή. 80
- 5.7 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή. 81
- 5.8 Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή. Οι δείκτες Sobol κάθε παραμέτρου είναι υπολογισμένες ως ο μέσος όρος των δεικτών της παραμέτρου για κάθε διαμέρισμα. 81

- 5.9 Αποτελέσματα εκτίμησης των 5 παραμέτρων και των τριών στατιστικών σφαλμάτων. Ο αριθμός των μαρκοβιανών αλυσίδων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 4, ενώ ο αριθμός των επαναλήψεων κάθε αλυσίδας ήταν 1000, εκ των οποίων οι 500 ήταν warm-up. Οι παράμετροι θ με τη σειρά που παρουσιάζονται αντιστοιχούν στις παραμέτρους $uptake$, $uptake_{spl}$, $uptake_{li}$, P_{rest} και CLE_f 84
- 5.10 Αποτελέσματα σύγκλισης των 4 Μαρκοβιανών αλυσίδων για τις στοχαστικές παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι θ με τη σειρά που παρουσιάζονται αντιστοιχούν στις παραμέτρους $uptake$, $uptake_{spl}$, $uptake_{li}$, P_{rest} και CLE_f 85
- 5.11 Αποτελέσματα σύγκλισης των 4 Μαρκοβιανών αλυσίδων για τα τρία στατιστικά σφάλματα. Η παράμετρος $sigma[1]$ αντιστοιχεί στο στατιστικό σφάλμα της πρώτης ομάδας διαμερισμάτων (ήπαρ, σπλήνα, σκελετός, αίμα), η παράμετρος $sigma[2]$ αντιστοιχεί στο στατιστικό σφάλμα της δεύτερης ομάδας διαμερισμάτων (νεφροί, πνεύμονες, μαλακοί ιστοί, κόπρανα, ούρα) και η παράμετρος $sigma[3]$ αντιστοιχεί στα υπόλοιπα διαμερίσματα (καρδιά, εγκέφαλος, μήτρα). 86
- 5.12 Σύγκριση εκ των προτέρων και εκ των υστέρων κατανομής για τη γενική παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων ($uptake$). Ο άξονας x που παρουσιάζεται σε αυτό το διάγραμμα είναι περικομμένος για καλύτερη παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Ο πραγματικός άξονας δίνει πολύ μικρή πυκνότητα για την prior μέχρι την τιμή 15. 88
- 5.13 Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για τη παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων στη Σπλήνα ($uptake_{spl}$). 88
- 5.14 Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για τη παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων στο Ήπαρ ($uptake_{li}$). 89
- 5.15 Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για το γενικό συντελεστή κατανομής αίματος-ιστού (P_{rest}). 89

5.16 Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για το ρυθμό ηπατοχολικής απέκκρισης (CLE_f). Ο άξονας x που παρουσιάζεται σε αυτό το διάγραμμα είναι περικομμένος για καλύτερη παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Ο πραγματικός άξονας δίνει πολύ μικρή πυκνότητα για την r_{10} μέχρι την τιμή 0.15.	90
5.17 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Ήπατος.	91
5.18 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Σπλήνας.	92
5.19 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Σκελετού.	92
5.20 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Νεφρών.	93
5.21 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Αίματος.	93
5.22 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.	94
5.23 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Καρδιάς.	94
5.24 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.	95
5.25 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Μήτρας.	95
5.26 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Μαλακών Ιστών.	96
5.27 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της ηπατοχολικής απέκκρισης. . .	96
5.28 Πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της νεφρικής απέκκρισης.	97
5.29 Κοινό διάγραμμα πρόβλεψης της μάζας στα τριχοειδή αγγεία, στον ιστό και στα φαγοκύτταρα του Ήπατος.	99
5.30 Κοινό διάγραμμα πρόβλεψης της μάζας στα τριχοειδή αγγεία, στον ιστό και στα φαγοκύτταρα των Μαλακών Ιστών.	100
5.31 Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Ήπατος. . .	101
5.32 Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Σπλήνας. . .	102

5.33	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Σκελετού. . .	102
5.34	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Νεφρών. . .	103
5.35	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Αίματος. . .	103
5.36	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. . .	104
5.37	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Καρδιάς. . .	104
5.38	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου. . .	105
5.39	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Μήτρας. . .	105
5.40	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Μαλακών Ιστών.	106
5.41	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της ηπα- τοχολικής απέκκρισης.	106
5.42	Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της νε- φρικής απέκκρισης.	107
5.43	Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Σπλήνας. Τα πειραματικά δεδομένα είναι από τη μελέτη των Xie <i>et al.</i> [79].	110
5.44	Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου. Τα πειραματικά δεδομένα είναι από τη μελέτη των Xie <i>et al.</i> [79].	110
5.45	Αποτελέσματα του μοντέλου για το διαμέρισμα του Ήπατος για ίδια δόση και τρεις διαφορετικές τιμές μάζας αρουραίων.	114
5.46	Απεικόνιση απόκλισης των πειραματικών δεδομένων για τα όργανα του ήπατος και των πνευμόνων ανάμεσα στις μελέτες των Shinohara <i>et al.</i> [85] και Disdier <i>et al.</i> [83]. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα.	115

- 5.47 Απεικόνιση των αποτελεσμάτων του δείκτη ομοιότητας για όλα τα όργανα αναφορικά με τις εξωτερικές μελέτες. Σε κάθε ορθογώνιο η άνω πλευρά αντιπροσωπεύει το 75ο και η κάτω πλευρά το 25ο εκατοστημόριο των τιμών του δείκτη ομοιότητας για κάθε όργανο, ενώ η οριζόντια γραμμή κάθε ορθογωνίου αναπαριστά το μέσο όρο του δείκτη. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα. 116
- 5.48 Απεικόνιση της πυκνότητας της κατανομής του δείκτη ομοιότητας για κάθε διαμέρισμα του μοντέλου. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα. 117
- 5.49 Αποτελέσματα γραμμικής παλινδρόμησης. 118
- 5.50 Συσχέτιση του δείκτη ομοιότητας S_d με τη διαφορά των δόσεων ανάμεσα στις εξωτερικές μελέτες και τη μελέτη αναφοράς. 119
- A'.1 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα του Ήπατος. 135
- A'.2 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα του Αίματος. 136
- A'.3 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου. 136
- A'.4 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα των Νεφρών. 137
- A'.5 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 137
- A'.6 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 138
- A'.7 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie *et al.*[79]για το διαμέρισμα του Ήπατος. 139

A'.8 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα του Αίματος.	140
A'.9 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου.	140
A'.10 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα της Καρδιάς.	141
A'.11 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα των Νεφρών.	141
A'.12 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.	142
A'.13 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie <i>et al.</i> [79]για το διαμέρισμα του Σκελετού.	142
A'.14 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα του Αίματος. .	143
A'.15 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου.	144
A'.16 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. .	144
A'.17 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα των Νεφρών.	145
A'.18 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα του Ήπατος. .	145
A'.19 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets <i>et al.</i> [81] (NM100) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.	146

- A'.20 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 146
- A'.21 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα της Μήτρας. . 147
- A'.22 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Αίματος. . 148
- A'.23 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου. 149
- A'.24 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα των Νεφρών. 149
- A'.25 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Ήπατος. . 150
- A'.26 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 150
- A'.27 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 151
- A'.28 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα της Μήτρας. . 151
- A'.29 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου. 152
- A'.30 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. . 153
- A'.31 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα του Ήπατος. . 153

- A'.32 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 154
- A'.33 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 154
- A'.34 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου. 155
- A'.35 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. . 156
- A'.36 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα του Ήπατος. . 156
- A'.37 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 157
- A'.38 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 157
- A'.39 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα του Αίματος. 158
- A'.40 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου. 159
- A'.41 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα των Νεφρών. 159
- A'.42 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα του Ήπατος. 160
- A'.43 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 160

- A'.44 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 161
- A'.45 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα των Νεφρών. 162
- A'.46 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα του Ήπατος. 163
- A'.47 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. 163
- A'.48 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 164
- A'.49 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. 165
- A'.50 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα του Ήπατος. 166
- A'.51 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 166
- A'.52 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. 167
- A'.53 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα του Ήπατος. 168
- A'.54 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 168
- A'.55 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα της Καρδιάς. 169

- A'.56 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα του Ήπατος. 170
- A'.57 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 170
- A'.58 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου. . . . 171
- A'.59 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα της Καρδιάς. 172
- A'.60 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα των Νεφρών. 172
- A'.61 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα του Ήπατος. 173
- A'.62 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων. . . . 173
- A'.63 Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα της Σπλήνας. 174

Συντομογραφίες

Συντομογραφία	Αγγλική επεξήγηση	Ελληνική επεξήγηση
ADME	Absorption Distribution Metabolism Excretion	Απορρόφηση Κατανομή Μεταβολισμός Απέκκριση
ANOVA	Analysis Of Variance	Ανάλυση διακύμανσης
art	arterial blood	αρτηριακό αίμα
AUC	Area Under the Curve	Περιοχή κάτω της καμπύλης
br	brain	εγκέφαλος
BV	Blood Volume	Όγκος Αίματος
BW	Body Weight	Μάζα σώματος
CDF	Cummulative Distribution Function	Αθροιστική συνάρτηση κατανομής
CLT	Central Limit Theory	Κεντρικό οριακό θεώρημα
CV	Coefficient of Variation	Συντελεστής μεταβλητότητας
DL	Detection Limit	Όριο ανίχνευσης
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
ed.	edition	έκδοση
EE	Elementary Effects	Στοιχειώδεις επιδράσεις
eFAST	extended Fourier Amplitude Sensitivity Test	εκτεταμένα εύρη Fourier για ανάλυση ευαισθησίας
EFSA	European Food Safety Authority	Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων
Et al.	Et alia	και άλλοι
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων
GI	Global Index	Ολικός δείκτης

GNP	Gold Nano Particles	Νανοσωματίδια χρυσού
GS	Global Sensitivity	Ολική ευαισθησία
heart	heart	καρδιά
HMC	Hamiltonian Monte Carlo	-
ki	kidneys	νεφροί
li	liver	ήπαρ
lu	lungs	πνεύμονες
LS	Local Sensitivity	Τοπική ευαισθησία
MCMC	Markov Chain Monte Carlo	Μέθοδοι Monte Carlo με τη χρήση Μαρκοβιανών αλυσίδων
NP	Nanoparticles	Νανοσωματίδια
NUTS	no-U-turn sampler	-
OAT	One at A Time	Μία παράμετρος τη φορά
PBPK	Physiologically Based Pharmacokinetic (model)	Φαρμακοκινητικό μοντέλο βασισμένο στη φυσιολογία
PD	Pharmakodynamic	Φαρμακοδυναμική
PK	Pharmakokinetic	Φαρμακοκινητική
RNG	Random Number Generator	Γενήτρια τυχαίων αριθμών
SA	Sensitivity Analysis	Ανάλυση ευαισθησίας
SI	Sensitivity Index	Δείκτης ευαισθησίας
skel	skeleton	σκελετός
st	soft tissue	μαλακοί ιστοί
spl	spleen	σπλήνα
ut	uterus	μήτρα
ven	venous blood	φλεβικό αίμα
VPC	Visual Predictive Check	Οπτικός προβλεπτικός έλεγχος

Κεφάλαιο 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένας επιστημονικός κλάδος που τις τελευταίες δεκαετίες έχει γνωρίσει σημαντική άνθιση λόγω της προόδου της πληροφορικής είναι η Φαρμακομετρία (Pharmacometrics). Σκοπός της είναι η σωστή αξιοποίηση των διαθέσιμων δεδομένων και πειραματικών αποτελεσμάτων από φάρμακα, ασθένειες και κλινικές δοκιμές στη διαδικασία ανάπτυξης μίας νέας φαρμακευτικής ουσίας. Τα φαρμακομετρικά μοντέλα αναπτύσσονται, ώστε να περιγραφεί είτε ο τρόπος που μεταβολίζεται η φαρμακευτική ουσία (φαρμακοκινητικά μοντέλα), είτε ο τρόπος που η ουσία επηρεάζει τον οργανισμό (φαρμακοδυναμικά μοντέλα).

Αναλυτικότερα, η φαρμακοκινητική (ΦΚ) μοντελοποίηση στοχεύει στην περιγραφή των κινητικών που διέπουν την απορρόφηση, την κατανομή, το μεταβολισμό και την απέκκριση μίας ουσίας από τη στιγμή εισόδου της στον οργανισμό έως τη στιγμή της κάθαρσης της. Επηρεάζεται σημαντικά τόσο από παράγοντες που αφορούν την ουσία που μελετάται όσο και από παράγοντες οι οποίοι έχουν να κάνουν με τον οργανισμό στον οποίο χορηγείται. Ένας επιπλέον παράγοντας υψηλής σημασίας είναι η μέθοδος χορήγησης της ουσίας, καθώς επηρεάζονται άμεσα οι κινητικές του χημικού μεταβολισμού της ουσίας.

Τα φαρμακοκινητικά μοντέλα χρησιμοποιούν τη διαμερισματοποίηση (compartmental analysis) του μελετώμενου οργανισμού προκειμένου να προσεγγίσουν, όσο αποτελεσματικότερα γίνεται την καμπύλη συσχέτισης της ουσίας προς το χρόνο. Συνήθως, κάθε διαμέρισμα (compartment) αντιπροσωπεύει ένα συγκεκριμένο όργανο ενδιαφέροντος και καθένα από αυτά χαρακτηρίζεται

από ένα σύνολο εισόδων και εξόδων της ουσίας και τις αντίστοιχες διαφορικές εξισώσεις που περιγράφουν τα ισοζύγια μάζας και τους μηχανισμούς μετακίνησης της ουσίας από το αίμα στους ιστούς και την αντίθετη πορεία.

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη φαρμακοκινητικών μοντέλων τα οποία προσδιορίζουν ικανοποιητικά το μεταβολισμό των ναουϊλικών, εξαιτίας του μεγάλου φάσματος εφαρμογών που έχουν (π.χ. φαρμακευτικές ουσίες, καλλυντικά κ.α.). Αυτό που διαφοροποιεί τα ναοσωματίδια σε σχέση με τα απλά μόρια είναι το κατά πολύ μικρότερο μέγεθός τους, το οποίο επηρεάζει άμεσα τους μηχανισμούς μεταβολισμού του. Συγκεκριμένα, πέραν της κλασικής μετακίνησης ναοσωματιδίων από το αίμα στους ιστούς, τα ναοσωματίδια συμμετέχουν και στη διαδικασία της ενδοκύττωσης από τα μακροφάγα κύτταρα που έχουν τα περισσότερα όργανα. Είναι αναμενόμενο τα κλασικά φαρμακοκινητικά μοντέλα να αδυνατούν να περιγράψουν την μεταβολή της συγκέντρωσης των ναοσωματιδίων ως προς το χρόνο μέσα σε ένα οργανισμό και αυτό καθιστά απαραίτητη τη διαμόρφωση νέων διαφορικών εξισώσεων οι οποίες θα ενσωματώνουν επιπλέον όρους για την περιγραφή της ενδοκύττωσης των ναοσωματιδίων όσο το δυνατόν καλύτερα. Ο προσδιορισμός των απαραίτητων παραμέτρων για ένα τέτοιο μοντέλο, που είναι άμεσα εξαρτώμενες τόσο από το είδος του ναοσωματιδίου όσο και από τον μελετώμενο οργανισμό, απαιτεί τη χρήση αποτελεσμάτων ερευνών κατά τις οποίες έχει μετρηθεί η συγκέντρωση της εξεταζόμενης ουσίας στα υγρά (αίμα, εκκρίσεις) και τους ιστούς των οργανισμών (ζώα ή άνθρωποι που συμμετείχαν) σε διάφορες χρονικές στιγμές ύστερα από τη χορήγηση συγκεκριμένης ποσότητας. Ωστόσο, επειδή οι μετρήσεις αυτές απαιτούν την ανατομή των υπό εξέταση οργανισμών, είναι προφανές ότι κάτι τέτοιο είναι θεμιτό και επιτρεπτό μόνο στην περίπτωση πειραματόζων, όπως αρουραίοι και όχι στην περίπτωση των ανθρώπων.

Λαμβάνοντας υπόψιν το μεγάλο αριθμό διαμερισμάτων σε συνδυασμό με το πλήθος των κινητικών παραμέτρων που περιγράφουν το μεταβολισμό των ναοσωματιδίων και που πρέπει να προσδιοριστούν, οδηγούμαστε σε φαρμακοκινητικά μοντέλα αποτελούμενα από ένα μεγάλο πλήθος διαφορικών εξισώσεων. Η επίλυση αυτών των εξισώσεων απαιτεί την εφαρμογή κατάλληλης υπολογιστικής μεθόδου, η οποία θα αξιοποιεί τις πληροφορίες που προκύπτουν από τις διαθέσιμες πειραματικές μελέτες, ώστε να προσδιοριστούν οι απαραίτητες παράμετροι του μοντέλου. Μία αρκετά συχνή μέθοδος είναι η χρήση Μπεϋζιανών στατιστικών μοντέλων.

Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η δημιουργία ενός στοχαστικού φαρμακοκινητικού μοντέλου, βασισμένο στη φυσιολογία, μοντέλου το οποίο περιγράφει τη βιοκατανομή νανοσωματιδίων Διοξειδίου του Τιτανίου (Titanium Dioxide) σε αρουραίους, έπειτα από χορήγηση με ενδοφλέβια ένεση. Η δημιουργία του φαρμακοκινητικού μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε διακρίνεται σε τέσσερα στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει τη διαδικασία αναζήτησης πειραματικών δεδομένων που αφορούν τη χορήγηση διοξειδίου του τιτανίου με ενδοφλέβια ένεση σε αρουραίους. Ακόμα, αναζητήθηκαν δεδομένα φυσιολογίας που αφορούν το είδος του αρουραίου που χρησιμοποιήθηκε (π.χ. βάρος οργάνων, ροές αίματος), ενώ μελετήθηκαν μοντέλα διαφορικών εξισώσεων που έχουν χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της βιοκατανομής νανοσωματιδίων στην παγκόσμια βιβλιογραφία. Στο δεύτερο στάδιο, πραγματοποιήθηκε ολική ανάλυση ευαισθησίας για την εξαγωγή συμπερασμάτων ως προς το ποιων παραμέτρων είναι υψηλής σημασίας ο προσδιορισμός και ποια ομάδα εξ αυτών είναι εφικτό να προσδιοριστεί. Στο τρίτο στάδιο έγινε χρήση ενός αλγορίθμου MCMC με σκοπό τον προσδιορισμό των παραμέτρων του μοντέλου. Τέλος, το τέταρτο στάδιο περιλαμβάνει τη διαδικασία ανάλυσης των προβλέψεων με τη χρήση διαγραμμάτων συγκέντρωσης χρόνου αλλά και με την κατασκευή διαγραμμάτων VPC που ενσωματώνουν τον παράγοντα της αβεβαιότητας. Τέλος, ελέγχθηκε η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου πάνω σε επιπλέον έρευνες χορήγησης νανοσωματιδίων του διοξειδίου του τιτανίου σε αρουραίους.

Ως υπολογιστικό εργαλείο χρησιμοποιήθηκε η πιθανοτική γλώσσα STAN μέσω της γλώσσας προγραμματισμού R και συγκεκριμένα με τη χρήση του πακέτου RStan.

Κεφάλαιο 2

ΦΑΡΜΑΚΟΜΕΤΡΙΑ

Ως Φαρμακομετρία μπορεί να οριστεί ο κλάδος της επιστήμης που συνδυάζει τη μαθηματική μοντελοποίηση βιολογικών συστημάτων, τη φαρμακολογία και τη μελέτη ασθενειών με απώτερο σκοπό την περιγραφή και ποσοτικοποίηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ μίας ουσίας και ενός οργανισμού δέκτη, συμπεριλαμβανομένων των θεραπευτικών ιδιοτήτων και των παρενεργειών που προκύπτουν [1]. Ως βασικό στόχο έχει να συνεισφέρει στην ανάπτυξη φαρμακευτικών ουσιών ή και στην διαμόρφωση της νομοθεσίας γύρω από αυτές. Αναλυτικότερα, σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων της Αμερικής (Food and Drug Administration(FDA)), οι κύριοι στόχοι της φαρμακομετρίας συνοψίζονται στους εξής τρεις [2]:

- πρώτος και κυριότερος, η έγκριση χρήσης φαρμακευτικών ουσιών αλλά και η ασφαλής χορήγησή τους,
- η παροχή συμβουλευτικής υποστήριξης κατά το σχεδιασμό δοκιμαστικών ελέγχων μίας φαρμακευτικής ουσίας αλλά και η πρόταση ενός αποτελεσματικού πλάνου δοσολογίας σε ασθενείς,
- η αξιοποίηση διαθέσιμων δεδομένων για την ορθή διαμόρφωση της νομοθεσίας και την αποτελεσματικότερη ανάπτυξη φαρμάκων. Παράλληλα συνεισφέρει στη δημιουργία νέων ή στην επικύρωση ήδη υπαρχόντων μοντέλων ασθένειας (disease change models), στη μελέτη επίδρασης ψευδοφαρμάκων (placebo effects) σε ασθενείς κ.α.

Οι δύο κατηγορίες φαρμακομετρικών μοντέλων είναι τα φαρμακοκινητικά (pharmacokinetic (PK)) και τα φαρμακοδυναμικά (pharmacodynamic (PD)). Η διαφορά τους έγκειται στο ότι τα φαρμακοκινητικά μοντέλα μελετούν τη διαδρομή της ουσίας εντός του οργανισμού και την επίδραση αυτού πάνω στη συγκέντρωση της ουσίας συναρτήσει του χρόνου, ενώ τα φαρμακοδυναμικά μοντέλα μελετούν το τρόπο με τον οποίο η ίδια ουσία επιδρά στον οργανισμό. Για τον αποτελεσματικότερο χαρακτηρισμό μιας φαρμακευτικής ουσίας συνήθως χρησιμοποιούνται συνδυαστικά PK/PD μοντέλα.

Οι μέθοδοι ανάπτυξης ενός φαρμακοκινητικού μοντέλου ποικίλουν. Ο απλούστερος είναι χωρίς τη χρήση διαμερισματοποίησης (non-compartmental methods). Αυτή η κατηγορία PK μοντέλων χρησιμοποιείται συχνά εξαιτίας της απλότητας της και του μικρού αριθμού υποθέσεων που γίνονται. Σκοπός των NCA φαρμακοκινητικών μοντέλων είναι συνήθως να προσεγγίσουν τη συνολική έκθεση ενός οργανισμού σε μία φαρμακευτική ουσία που του χορηγείται, δηλαδή την συνολική επιφάνεια που δημιουργείται κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης του φαρμάκου ως προς το χρόνο (Area Under the Curve (AUC)). Τα μοντέλα αυτά είναι ικανά να περιγράψουν σε ικανοποιητικό βαθμό τον φαρμακοκινητικά μεγέθη, όπως για παράδειγμα την ποσότητα AUC του φαρμάκου στον πλάσμα του αίματος ή τη μέγιστη συγκέντρωση που μπορεί να λάβει, όταν οι κινητική μεταβολισμού του φαρμάκου αυτού είναι πρώτης τάξης. Ως μέθοδοι ολοκλήρωσης για τον υπολογισμό των ποσοτήτων AUC χρησιμοποιούνται συχνά απλές υπολογιστικές μέθοδοι, όπως η μέθοδος του τραπεζίου, κάτι που δίνει τη δυνατότητα για εύκολους και γρήγορους υπολογισμούς [3]. Επομένως, η χρήση αυτών των μοντέλων προτείνεται σε αρχικά στάδια υπολογισμών, κυρίως για μόρια που παρουσιάζουν γραμμική (dose-proportional) κινητική.

Η δεύτερη κατηγορία φαρμακοκινητικών μοντέλων είναι τα μοντέλα τα οποία αποτελούνται από ένα διαμέρισμα. Το διαμέρισμα αυτό χρησιμοποιείται για να προσομοιώσει το μεταβολισμό της ουσίας που πραγματοποιείται σε όλο τον οργανισμό. Ουσιαστικά πρόκειται για μοντέλα τα οποία αποτελούνται από ένα διαμέρισμα, το οποίο δέχεται μία ροή αίματος από τις αρτηρίες, εξάγει την ίδια ροή αίματος προς τις φλέβες αλλά με διαφορετική συγκέντρωση στη φαρμακευτική ουσία και έχει επιπλέον μία έξοδο η οποία προσομοιώνει την απομάκρυνση της ουσίας μέσω όλων των οδών κάθαρσης. Όπως στην περίπτωση των NCA μοντέλων, έτσι και τα μοντέλα ενός διαμερίσματος είναι μοντέλα αρκετά απλοποιημένα, των οποίων οι εξισώσεις περιγράφονται από απλές κινητικές.

Είναι αρκετά χρήσιμα σε προκαταρκτικά στάδια μελετών, όταν υπάρχει ανάγκη για περιγραφή της συγκέντρωσης μίας ουσίας συνολικά στον οργανισμό. Παρόλα αυτά αδυνατούν να περιγράψουν σε μεγαλύτερο βάθος τις κινητικές που υφίστανται εντός των οργάνων του οργανισμού. Τέλος, όταν υπάρχει ανάγκη για αναλυτικότερη μελέτη του μεταβολισμού της ουσίας σε συγκεκριμένα όργανα του οργανισμού, είναι αναγκαία η εφαρμογή μοντέλων με περισσότερα διαμερίσματα και πολυπλοκότερες εξισώσεις [4, 5].

2.1 Φαρμακοκινητικά μοντέλα βασισμένα στη φυσιολογία (PBPK)

2.1.1 Ιστορική αναδρομή

Το πρώτο χρονικά φαρμακοκινητικό μοντέλο που συναντάται στη παγκόσμια βιβλιογραφία είναι ένα μοντέλο που βασίζεται στη φυσιολογία. Συγκεκριμένα, το 1937 ο Teorell [11] επιχειρεί για πρώτη φορά να δομήσει ένα μοντέλο εξισώσεων, συμπεριλαμβανομένων πολλαπλών διαμερισμάτων με βάση τη φυσιολογία, με απώτερο σκοπό την προσομοίωση φαρμακοκινητικών δεδομένων. Ωστόσο, λόγω πολυπλοκότητας του μοντέλου και της περιορισμένης υπολογιστικής δύναμης που ήταν διαθέσιμη εκείνη την εποχή, η λύση των εξισώσεων ήταν πρακτικά αδύνατη. Τα μοναδικά αποτελέσματα που ήταν εφικτό να εξαχθούν ήταν για υπεραπλουστευμένα μοντέλα, με μικρό αριθμό διαμερισμάτων, τα οποία αδυνατούσαν να αναπαραστήσουν ικανοποιητικά τη φυσιολογία του οργανισμού [12]. Η αδυναμία πραγματοποίησης πολύπλοκων υπολογισμών κράτησε σταθερή αυτή την κατάσταση κι έτσι έως τις αρχές της δεκαετίας του 1970 αναπτύσσονταν μοντέλα λίγων παραμέτρων και διαμερισμάτων, των οποίων οι κινητικές ήταν πρώτης τάξης. Η άνοδος της πληροφορικής και των υπολογιστικών μεθόδων συνέβαλε την εξέλιξη των φαρμακοκινητικών μοντέλων. Αφετηρία αποτελεί το PBPK μοντέλο για ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σε θεραπείες του καρκίνου και αναπτύχθηκε το 1971 από τους Bischoff *et al.* [12, 13]. Η αύξηση της διαθέσιμης υπολογιστικής δύναμης στα χέρια των ερευνητών έστρωσε το δρόμο για τη μελέτη και την ανάπτυξη PBPK πολυπλοκότερων μοντέλων, τα οποία προσομοιώνουν περισσότερες βιολογικές διεργασίες

των οργανισμών.

2.1.2 Ορισμός και περιγραφή PBPK μοντέλων

Τα PBPK μοντέλα αποτελούνται από ένα σύνολο διαμερισμάτων. Καθένα διαμέρισμα αναπαριστά ένα συγκεκριμένο όργανο ή ένα σύνολο οργάνων και χαρακτηρίζεται από τον όγκο του, τη ροή αίματος που το διαπερνά και τις φυσικοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε αυτό. [6].

Η αποτελεσματικότητα ενός PBPK μοντέλου μεταφράζεται στην ικανότητα του να περιγράφει τις τέσσερις βασικές φυσικοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε ένα δεδομένο συνδυασμό οργανισμού, συνθηκών και φαρμακευτικής ουσίας που χορηγείται. Πρόκειται για την απορρόφηση (absorption), κατανομή (distribution), μεταβολισμό (metabolism) και απέκκριση (excretion), ή αλλιώς ADME. Οι βιολογικές διεργασίες ADME περιγράφονται από κινητικές των οποίων οι παράμετροι εξαρτώνται τόσο από την ουσία, όσο και από τον οργανισμό-δέκτη. Ωστόσο, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η γνώση αυτών των παραμέτρων είναι ελλιπής ή απαιτεί την πραγματοποίηση πληθώρας πειραμάτων. Η χρήση των PBPK μοντέλων επιτρέπει τον προσδιορισμό των παραμέτρων των διεργασιών ADME με τη χρήση υπολογιστικών μεθόδων και σχετικά μικρού όγκου πειραματικών δεδομένων [7].

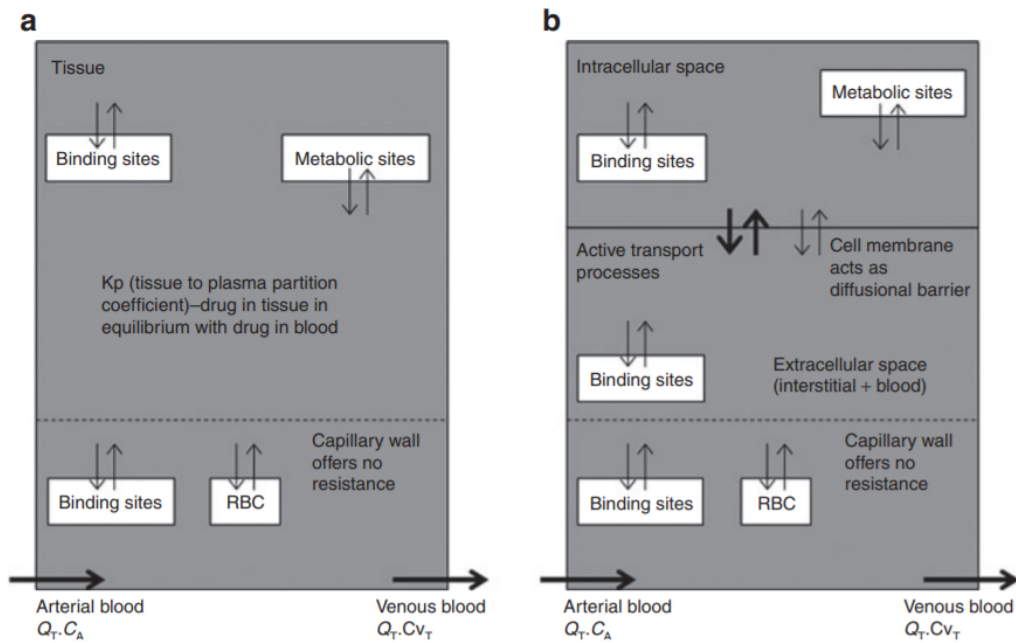
Αξίζει να σημειωθεί πως ανάλογα με την εξεταζόμενη φαρμακευτική ουσία, χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικές προσεγγίσεις στη μοντελοποίηση της απορρόφησης της ουσίας από το αίμα στα όργανα. Αν το μοντέλο μελετά μικρά λιπόφιλα μόρια, τότε το περιοριστικό στάδιο της απορρόφησης είναι η μεταφορά των μορίων από το αίμα στον ιστό. Η θεώρηση αυτή είναι γνωστή ως κινητική περιορισμένη από το ρυθμό αιμάτωσης (perfusion-rate-limited kinetics). Σε αυτή την περίπτωση μοντέλων, όταν το σύστημα καταλήγει σε μόνιμη κατάσταση, η συνολική ποσότητα της ουσίας που είναι δεσμευμένη από τους ιστούς συν η αδέσμευτη ποσότητα της ουσίας είναι ίσες με τη συνολική ποσότητα που περιέχεται στον οργανισμό [10]. Ο ρυθμός απορρόφησης της ουσίας από το αίμα στους ιστούς καθορίζεται από την τιμή μίας κινητικής σταθεράς, έστω K_p . Άρα, η ταχύτητα με την οποία επέρχεται η μόνιμη κατάσταση σε κάθε ιστό εξαρτάται άμεσα από τον όγκο του ιστού, την αντίστοιχη ροή αίματος και την τιμή της παραμέτρου K_p , η οποία συνήθως συναντάται

στη βιβλιογραφία ως «συντελεστής κατανομής της ουσίας από τον ιστό στο αίμα» (tissue:blood partition coefficient).

Αντιθέτως, αν η εξεταζόμενη ουσία είναι μεγαλύτερα και υδρόφιλα μόρια, τότε ο περιοριστικός παράγοντας είναι η κίνηση των μορίων δια μέσω της κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του οργάνου. Αυτή η προσέγγιση ονομάζεται ως κινητική περιορισμένης διαπερατότητας (permeability-rate-limited kinetics) [8]. Αναλυτικότερα, σε αυτή τη κατηγορία μοντέλων, κάθε διαμέρισμα χωρίζεται σε δύο υποχώρους: ο πρώτος αναπαριστά τον εσωκυττάριο (intracellular) χώρο των ιστών και ο δεύτερος των εξωκυττάριο (extracellular) χώρο. Αυτά τα δύο υποδιαμερίσματα χωρίζονται μεταξύ τους μέσω της κυτταρική μεμβράνης των κυττάρων, η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στο ρυθμό διάχυσης της ουσίας μεταξύ των κυττάρων. Όπως ακριβώς και στην περίπτωση των perfusion limited μοντέλων, έτσι κι εδώ τηρούνται αυστηρά τα ισοζύγια μάζας ανάμεσα στην ποσότητα που περιέχεται σε κάθε ιστό και στην αδέσμευτη ποσότητα. Παρόλα αυτά, η ταχύτητα αποκατάστασης της ισορροπίας είναι στενά συνδεδεμένη με την ικανότητα διαπερατότητας της ουσίας από τον εξωκυττάριο στον εσωκυττάριο χώρο και αντίστροφα και όχι με τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του οργανισμού. Η ικανότητα αυτή ποσοτικοποιείται μέσω μίας παραμέτρου, η οποία συνήθως ονομάζεται συντελεστής διαπερατότητας (permeability coefficient), της οποίας η τιμή προσδιορίζεται κατά τη διαδικασία της μοντελοποίησης [10]. Στο Σχήμα 2.1 παρουσιάζεται μία σχηματική απεικόνιση των δύο θεωρήσεων.

Ένα τυπικό παράδειγμα PBPK μοντέλου, που είναι βασισμένο στην θεώρηση περιορισμένης αιμάτωσης παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.2. Κάθε διαμέρισμα αναπαριστά ένα συγκεκριμένο όργανο και τα περισσότερα έχουν μία είσοδο που προέρχεται από το διαμέρισμα του αρτηριακού αίματος (Arterial Blood) και μία έξοδο που κατευθύνεται στο φλεβικό αίμα (Venous Blood). Εξαιρέση αποτελούν οι πνεύμονες (Lung), οι οποίοι δέχονται ροή αίματος με αντίθετη κατεύθυνση, κάτι το οποίο εξυπηρετεί στο να κλείνουν τα ισοζύγια ροής αίματος. Ακόμα μία διαφοροποίηση παρατηρείται στο διαμέρισμα του ήπατος (Liver). Στο διαμέρισμα αυτό καταλήγουν οι έξοδοι του εντέρου (Gut) και της σπλήνας (Spleen), καθώς και η ροή του αίματος μέσω της ηπατικής αρτηρίας (Hepatic blood flow).

Οι διαφορικές εξισώσεις που προκύπτουν από τα ισοζύγια μάζας του PBPK που παρουσιάζεται



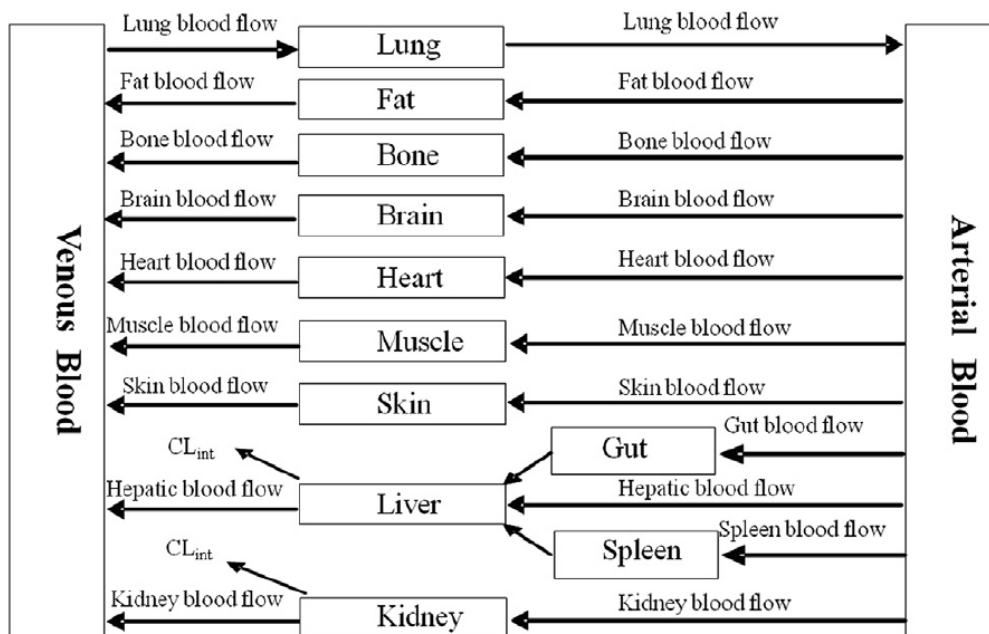
Σχήμα 2.1: Perfusion vs Permeability rate limited θεωρήση . Στο σχήμα (a) παρουσιάζεται η βασική δομή των διαμερισμάτων μοντέλου που καθορίζεται από τον ρυθμό αιμάτωσης, ενώ στο σχήμα (b) παρουσιάζεται η βασική δομή των διαμερισμάτων μοντέλου που καθορίζεται από την ικανότητα διαπερατότητας της ουσίας [10].

στο Σχήμα 2.2 είναι οι ακόλουθες (2.1):

$$\begin{aligned}
 \text{Όργανα χωρίς κάθαρση: } V_t \cdot \frac{dC_t}{dt} &= Q_t \cdot C_A - Q_t \cdot C_V \\
 \text{Όργανα με κάθαρση: } V_t \cdot \frac{dC_t}{dt} &= Q_t \cdot C_A - Q_t \cdot C_V - CL_{int} \cdot C_V \\
 C_V &= \frac{C_t}{K_p/B : P}
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

όπου Q είναι η ροή αίματος (L/h), C η συγκέντρωση της ουσίας (mg/L), V ο όγκος (L), T είναι δείκτης που αναφέρεται στους ιστούς και το A αναφέρεται στο αρτηριακό αίμα. Επίσης, όπου K_p ο συντελεστής κατανομής της ουσίας ανάμεσα σε στον ιστό και στο πλάσμα του αίματος, ενώ $B : P$ είναι ο λόγος αίματος προς πλάσμα (ratio of blood to plasma). Τέλος, ο όρος CL_{int} αναφέρεται στο ρυθμό κάθαρσης της ουσίας (L/h) και u ο χώρος στο οποίο δεν δεσμεύεται (unbound) η ουσία και από τον οποίο πραγματοποιείται η κάθαρση.

Οι σχέσεις 2.1 που αποτελούν τυπικό παράδειγμα ενός PBPK μοντέλου, υποδηλώνουν ότι χρει-



Σχήμα 2.2: Σχηματικό παράδειγμα PBPK μοντέλου [8].

άζονται δύο τύποι δεδομένων κατά την μοντελοποίηση. Αρχικά, απαιτούνται δεδομένα σχετικά με τη φυσιολογία και την ανατομία του οργανισμού που μελετάται. Συγκεκριμένα, είναι απαραίτητη η χρήση των όγκων ή των μαζών των ιστών που χρησιμοποιούνται στο μοντέλο καθώς και οι αντίστοιχες ροές αίματος για κάθε ιστό. Αυτά τα φυσιολογικά δεδομένα είναι πλήρως ανεξάρτητα από τη μελετούμενη ουσία και εξαρτώνται αποκλειστικά από το είδος του οργανισμού. Η δεύτερη κατηγορία δεδομένων που είναι απαραίτητη είναι άμεσα εξαρτώμενη από το είδος της υπό εξέταση ουσίας και με τις κινητικές ADME. Συνεπώς, η αποτελεσματικότητα ενός PBPK μοντέλου δεν βασίζεται μόνο στην ακριβή γνώση των ανατομικών παραμέτρων αλλά και στη γνώση των φυσικοχημικών της ουσίας που εξετάζεται.

Ένα ακόμα σημαντικό ερώτημα που καλείται να απαντήσει ο δημιουργός του μοντέλου, και μάλιστα στα αρχικά στάδια ανάπτυξης, είναι το πλήθος των διαμερισμάτων που θα χρησιμοποιήσει και η λεπτομέρεια με την οποία θα αναπαραστήσει τη φυσιολογία των αντίστοιχων οργάνων. Η αύξηση αυτών των δύο υπερπαραμέτρων μπορεί να προσδίδει μεγαλύτερη ακρίβεια στα αποτελέσματα του μοντέλου, ωστόσο αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό το υπολογιστικό κόστος. Τα περισσότερα διαθέσιμα μοντέλα PBPK περιέχουν από τέσσερα έως και πάνω από δέκα διαμερίσματα [9]. Ένα τέχνασμα το οποίο συναντάται αρκετά συχνά είναι η ομαδοποίηση ορισμένων οργάνων (lump tissues) με

παραπλήσιες ροές αίματος και ιδιότητες σε ένα κοινό διαμέρισμα. Με τον τρόπο αυτό μειώνεται ο συνολικός αριθμός των διαμερισμάτων, άρα και η πολυπλοκότητα του μοντέλου [10].

2.1.3 Μέθοδοι χορήγησης ουσιών

Ένας ακόμα καθοριστικός παράγοντας στην ανάπτυξη των φαρμακοκινητικών μοντέλων είναι ο τρόπος χορήγησης της ουσίας στον υποκείμενο οργανισμό. Ανάλογα με την οδό χορήγησης ενσωματώνονται στο μοντέλο τα αντίστοιχα όργανα ως διαμερίσματα και οι αντίστοιχες παράμετροι περιγραφής των κινητικών εξισώσεων που περιγράφουν τις διεργασίες ADME της ουσίας στον οργανισμό. Ο τρόπος χορήγησης της ουσίας μπορεί να είναι διά του στόματος (oral administration), με ενδομυϊκή ένεση (intramuscular injection), ενδοφλέβια ένεση (intravenous injection), υποδόρια ένεση (subcutaneous injection), μέσω του όρθου (rectal administration), με τη χρήση διαδερμικού έμπλαστρου (transdermal administration), με εισπνοές (inhalation) ή με υπογλώσσιο σκεύασμα (sublingual administration) [14, 15].

Η διαδικασία επιλογής μίας εκ των παραπάνω μεθόδων για τη χορήγηση της ουσίας εξαρτάται από πολλές παραμέτρους. Για παράδειγμα, παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο είναι το χρονικό σχήμα χορήγησης της φαρμακευτικής ουσίας (επαναλαμβανόμενες ή μη δόσεις), η ποσότητα και το είδος της ουσίας που πρέπει να χορηγηθεί, η ανάγκη για άμεση ή έμμεση επίδραση της δραστικής ουσίας του φαρμάκου κ.ά.

Η χρήση της ενδοφλέβιας ένεσης ως μέθοδος χορήγησης ενδείκνυται όταν απαιτείται άμεση δράση της ουσίας, καθώς η απορρόφηση γίνεται ταχύτατα ή όταν η ποσότητα που πρέπει να χορηγηθεί είναι σχετικά μεγάλη, ενώ δεν προσφέρεται για την χορήγηση ουσιών χαμηλής υδροφιλικότητας ή διαλυμάτων ελαίων. Στην περίπτωση της ενδομυϊκής ένεσης, η διάρκεια της απορρόφησης μπορεί να ελεγχθεί ανάλογα με το είδος της ουσίας που χορηγείται. Επίσης, παρατηρείται γρήγορη απορρόφηση για υδατικά διαλύματα και προσφέρεται για χορήγηση μέτριου όγκου φαρμακευτικής ουσίας. Ωστόσο, η χρήση τους απαγορεύεται ρητά κατά τη διάρκεια θεραπειών στις οποίες γίνεται χρήση αντιπηκτικών φαρμάκων, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι σαν μέθοδος χορήγησης είναι ιδιαίτερα επίπονη. Όπως στην περίπτωση της ενδομυϊκής, έτσι και στην υποδόρια ένεση δίνεται η δυνατότητα ελέγχου της ταχύτητας απορρόφησης του φαρμάκου. Ομοίως, έχει άμεση απορρόφηση σε υδατικά διαλύματα,

ενώ προτείνεται για τη χορήγηση εναιωρημάτων χαμηλής διαλυτότητας και για την τοποθέτηση εμφυτευμάτων αργής απελευθέρωσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι στα θετικά της υποδόριας ένεσης συγκαταλέγεται και το ότι είναι εύκολη η αυτοχορήγηση από τον ασθενή. Παρόλα αυτά, αυτό το είδος ένεσης είναι ακατάλληλο για τη χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων φαρμακευτικής ουσίας ή ουσιών που προκαλούν ερεθισμό, καθώς επίσης είναι πιθανό να προκαλέσει πόνο ή ακόμα και προσωρινή τοπική νέκρωση [15].

Μία ακόμα μέθοδος χορήγησης η οποία συναντά ευρύτατη χρήση είναι η χορήγηση φαρμάκων μέσω του στόματος, καθώς πρόκειται για τον πιο εύκολο τρόπο χορήγησης φαρμάκων για τον ασθενή. Ωστόσο, το βασικό μειονέκτημα της χορήγησης φαρμάκων μέσω του στόματος είναι η απρόβλεπτη επίδραση των γαστρεντερικών διεργασιών στην απορρόφηση του φαρμάκου, καθώς το pH του στομάχου επηρεάζεται άμεσα από την παρουσία ή την απουσία φαγητού.

2.2 Νανοϋλικά και PBPK μοντελοποίηση

Νανοεπιστήμη (Nanoscience) ονομάζεται ο κλάδος της επιστήμης που είναι αφοσιωμένη στη μελέτη και εφαρμογή σωματιδίων εξαιρετικά μικρών διαστάσεων, της κλίμακας από 1-100 νανόμετρα. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των νανოსωματιδίων μεταβάλλονται αλλάζοντας τον λόγο επιφάνειας-όγκου του σωματιδίου, με αποτέλεσμα να βρίσκουν εφαρμογή σε ένα πολύ ευρύ φάσμα κλάδων, όπως τη μηχανική, τη βιολογία, τη φυσική καθώς και την επιστήμη των υλικών. Τα τελευταία χρόνια, η νανοεπιστήμη έχει εισχωρήσει στον κλάδο της ιατρικής και της φαρμακευτικής, δημιουργώντας νέες, ελπιδοφόρες προοπτικές για ποικίλες θεραπείες [16, 21].

2.2.1 Εφαρμογή Νανოსωματιδίων στη Φαρμακευτική

Τις τελευταίες δεκαετίες ένα μέρος της επιστημονικής κοινότητας ασχολείται συστηματικά με το πως θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν τα νανοςωματίδια (nanoparticles (NP)) ως φορείς μιας φαρμακευτικής ουσίας (drug delivery) στον ανθρώπινο οργανισμό, ώστε να είναι πρωτίστως ασφαλής και να επιτυγχάνει τον θεραπευτικό της σκοπό στο μέγιστο δυνατό επίπεδο [17]. Τα πολυμερή

νανοσωματιδίων έχουν αποκτήσει τόσες εφαρμογές στην φαρμακευτική λόγω μίας πολύ συγκεκριμένης και ξεχωριστής ιδιότητας που φέρουν. Τα πολυμερή είναι δυνατό να αποτελούνται από τμήματα διαφορετικών δομικών στοιχείων, δηλαδή νανοσωματίδια τα οποία είναι διατεταγμένα σε μία σειρά η οποία είναι πολύ αυστηρά δομημένη. Ο τρόπος με τον οποίο δομούνται τα συγκεκριμένα τμήματα προσδίδει και συγκεκριμένες ιδιότητες στην τελική ουσία. Με τον τρόπο αυτό, είναι εφικτός ο σχεδιασμός ουσιών που φέρουν επιθυμητές ιδιότητες [18].

2.2.2 Οργανικά και Ανόργανα νανοσωματίδια

Τα νανοσωματίδια κατασκευάζονται από οργανικά πολυμερή (οργανικά νανοσωματίδια) ή/και από ανόργανα στοιχεία (ανόργανα νανοσωματίδια) [19]. Μερικά από τα πιο συνήθη οργανικά νανοσωματίδια είναι τα λιποσώματα (liposomes), τα δενδριμερή (dendrimers) και οι νανοσωλήνες άνθρακα (carbon nanotubes).

Τα λιποσώματα είναι φωσφολιπιδικά κυστίδια μεγέθους 50-100 nm, τα οποία περιβάλλονται από διπλή μεμβράνη παρόμοιας δομής με τις βιολογικές μεμβράνες των κυττάρων, ενώ το εσωτερικό τους αποτελείται από μία υδατική φάση. Λόγω της αμφιφιλίας που παρουσιάζουν ως προς το νερό, καθίστανται ιδανικοί φορείς υδρόφιλων ουσιών οι οποίες είναι εγκλωβισμένες εντός του εσωτερικού υδατικού τους μέρους. Άλλες ιδιότητες που κάνουν τα λιποσώματα ιδιαίτερα νανοσωματίδια είναι η δυνατότητα τροποποίησης της επιφάνειάς τους, καθώς και η υψηλή ικανότητα διείσδυσης και διάχυσης [19, 20]. Τα δενδριμερή είναι διακλαδισμένα πολυμερή τριών διαστάσεων με μέγεθος έως 15 nm. Παρουσιάζουν εγγενείς ιδιότητες κλασικών φαρμακευτικών ουσιών, χρησιμοποιούνται στην κατασκευή ικτριωμάτων για την επιδιόρθωση ιστών, ενώ αποτελούν καλή επιλογή φορέα φαρμάκων και διαγνωστικούς φορείς ορισμένων ασθενειών λόγω της χημικής τροποποίησης που μπορούν να υποστούν στις απολήξεις τους [19]. Τέλος, οι νανοσωλήνες άνθρακα ανήκουν στην κατηγορία των φουλερένιων και κατασκευάζονται από ομοαξονικά φύλλα γραφίτη, μεγέθους μέχρι 100 nm, τα οποία αποκτούν μορφή κυλίνδρου. Πρόκειται για νανοϋλικό υψηλής αντοχής, με ηλεκτρικές ιδιότητες και υψηλή θερμική αγωγιμότητα. Ομοίως με τα δενδριμερή, έτσι και οι νανοσωλήνες άνθρακα χρησιμοποιούνται ως φορείς φαρμάκων και σε ικτριώματα επιδιόρθωσης ιστών, όμως η συνηθέστερη εφαρμογή τους είναι βιοαισθητήρες [19].

Ανάμεσα στα ανόργανα νανοϋλικά, εκείνα που εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω των εφαρμογών τους είναι οι κβαντικές κουκίδες (quantum dots), τα μαγνητικά νανοσωματίδια (magnetic nanoparticles) και διάφορα μεταλλικά νανοσωματίδια (metallic nanoparticles). Από τα παραπάνω, αξίζει να γίνει εκτενέστερη αναφορά στα μεταλλικά νανοσωματίδια, καθώς αποτελούν βασικό στοιχείο της μελέτης περίπτωσης που ακολουθεί στην παρούσα διπλωματική εργασία.

2.2.3 Μεταλλικά Νανοσωματίδια

Τα μεταλλικά νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται σε βιοτεχνολογικές εφαρμογές έχουν μέγεθος που κυμαίνεται σε ένα ευρύτερο φάσμα διαστάσεων σε σχέση με αυτό του ορισμού των νανοϋλικών, δηλαδή βρίσκεται ανάμεσα σε 10 και 500 nm και σπανιότερα έως τα 700 nm. Ανάλογα με το μέγεθος τους, τα νανοσωματίδια δημιουργούν διαφορετικές συνάψεις τόσο με την επιφάνεια των κυττάρων, όσο και στο εσωτερικό τους, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα να αποκωδικοποιούν διαφορετικές βιοχημικές και φυσικοχημικές ιδιότητες αυτών των κυττάρων. Αυτή την ιδιότητα των νανοσωματιδίων εκμεταλλεύονται διάφορες εφαρμογές στη φαρμακολογία, που χρησιμοποιούν τα νανοσωματίδια ως φορείς φαρμάκων στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, αυτό δημιουργεί την ανάγκη για κατασκευή νανοσωματιδίων υψηλής σταθερότητας, βιοσυμβατότητας και υψηλής εκλεκτικότητας (selectivity), δηλαδή να έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν τα κύτταρα στόχους. Η εκλεκτικότητα των σωματιδίων βασίζεται στη σύζευξή τους με κατάλληλα σύμπλοκα (ligands), όπου το καθένα από αυτά μπορεί να συνδεθεί με ένα διαφορετικό είδος κυττάρων. Τα νέα σωματίδια φέρουν πάνω τους πολλαπλές θέσεις πρόσδεσης πολλαπλών μορίων από την φαρμακευτική ουσία, αυξάνοντας έτσι τη θεραπευτική ικανότητα του σωματιδίου στα κύτταρα-στόχους. Η συγκέντρωση και η δυναμική του δραστικού μέρους του νανοσωματιδίου μπορεί να μεταβληθεί τροποποιώντας το συνολικό μέγεθός του. Αυτή η ρύθμιση του μεγέθους σε συνδυασμό με τη δυνατότητα επιφανειακής επένδυσης του νανοσωματιδίου επιτρέπουν στο νανοσωματίδιο να μην αντιμετωπίζεται από το ανοσοποιητικό σύστημα ως ουσία ξένη προς αυτό κι έτσι να διατηρείται για περισσότερη ώρα στην κυκλοφορία του αίματος. Έτσι, τα νανοσωματίδια εκτός από φορείς μιας ουσίας, χρησιμοποιούνται σε διαγνωστικές μεθόδους όπως ο υπέρηχος, η ακτινογραφίες ακτίνων X, η αξονική τομογραφία (computed tomography), η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission tomography)

(PET)) και άλλες [21].

Προηγουμένως αναφέρθηκε ότι τα νανοσωματίδια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και ανοίγουν νέες προοπτικές στον τομέα των φαρμάκων, καθώς φέρουν πληθώρα θετικών χαρακτηριστικών για να λειτουργήσουν ως φορείς φαρμάκων στους οργανισμούς. Η χρήση μεταλλικών νανοσωματιδίων έχει προσφέρει πολλά στην θεραπεία του καρκίνου, καθώς χρησιμοποιούνται ως φορείς οι οποίοι ενσωματώνουν χημειοθεραπευτικές ουσίες και τις οδηγούν στα καρκινικά κύτταρα με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Συγκεκριμένα, με τη χρήση μεταλλικών νανοσωματιδίων ως φορείς αντικαρκινικών φαρμάκων, επιτυγχάνεται σημαντικά υψηλότερη εκλεκτικότητα, δηλαδή οι αντικαρκινικές ουσίες οδηγούνται κατευθείαν στον όγκο των καρκινικών κυττάρων χωρίς να προσβάλλουν τα υγιή, όπως συνηθίζεται με τις κλασικές αντικαρκινικές θεραπείες [22]. Ενδεικτικό παράδειγμα αποτελεί η αξιοποίηση των ιδιοτήτων νανοσωματιδίων χρυσού (gold nanoparticles (GNP)) σε συνδυασμό με φωτοθερμική θεραπεία για την καταστροφή καρκινικών κυττάρων και ιστών [23, 24].

Μία επιπλέον εφαρμογή των μεταλλικών νανοσωματιδίων ως φορείς αφορά τη χρήση νανοσωματιδίων χρυσού (gold nanoparticles (GNP)) στη θεραπεία της υποξικής αναπνευστικής ανεπάρκειας που σχετίζεται με την πνευμονική υπέρταση. Η θεραπεία βασίζεται στη χορήγηση μονοξειδίου του αζώτου (NO) και τα νανοσωματίδια χρυσού αποτελούν μία καλή επιλογή ως φορέας του (NO), καθώς με τον τρόπο αυτό επιβάλλεται καλύτερος έλεγχος στην απελευθέρωση του (NO), το οποίο ελέγχει πολλαπλές κυτταρικές διεργασίες όπως τη δημιουργία αγγείων, την αγγειοδιαστολή και την ανοσοαπόκριση [25].

Σημαντική περίπτωση μεταλλικού νανοσωματιδίου αποτελεί και το οξείδιο του σιδήρου Fe_2O_3 (iron oxide nanoparticles SPION). Οι ιδιότητες του το καθιστούν ως μία από τις καλύτερες επιλογές νανοσωματιδίου σε διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές είναι το πολύ μικρό του μέγεθος, η βιοσυμβατότητά του και η υψηλή μαγνητικότητα που το χαρακτηρίζει. Αναλυτικότερα, τα νανοσωματίδια SPION αξιοποιούνται σε εξετάσεις απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού (Magnetic Resonance Imaging (MRI)), ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών στον ανθρώπινο οργανισμό, σε γονιδιακές θεραπείες, σε μεθόδους μοριακής ή/και κυτταρικής ιχνηλάτησης καθώς και σε μερικές ακόμα [21].

Μερικά ακόμα μέταλλα που χρησιμοποιούνται σε παρόμοιες βιοφαρμακευτικές εφαρμογές είναι το νικέλιο (Ni), η πλατίνα (Pt) και το διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2), για το οποίο θα γίνει εκτενέστερη

αναφορά σε επόμενο κεφάλαιο αυτής της εργασίας [19].

2.2.4 PBPΚ μοντελοποίηση Νανοσωματιδίων

Η ευρεία χρήση των νανοσωματιδίων έχει γεννήσει την ανάγκη για τη μελέτη του προφίλ της βιοκατανομής τους ως προς το χρόνο σε διάφορους οργανισμούς, ώστε να μπορεί να προβλεφθεί πιθανή τοξικότητα, αλλά και να βρεθεί ένα ασφαλές εύρος χορηγούμενης δόσης της ουσίας. Παρόλα αυτά, τα περισσότερα PBPΚ μοντέλα που περιγράφουν τη βιοκατανομή μικρών μορίων αδυνατούν να περιγράψουν και αυτή των νανοσωματιδίων, καθώς οι βιολογικές διεργασίες ADME που τα συνοδεύουν είναι συνήθως πιο πολύπλοκες.

Αναφορικά με τις μεθόδους απορρόφησης, δηλαδή τους τρόπους με τους οποίους η ουσία μεταβιβάζεται εντός του οργανισμού που μελετάται, ισχύει ό,τι έχει περιγραφεί στην υποενότητα 2.1.3. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι συνηθέστερες μέθοδοι χορήγησης νανοσωματιδίων πραγματοποιείται χορήγηση δια του στόματος, δια της αναπνευστικής οδού, με τη χορήγηση οποιασδήποτε μορφής ένεσης και τέλος, μέσω οποιασδήποτε μεθόδου απορρόφησης από το δέρμα (dermal exposures) [26]. Έπειτα από την είσοδο της ουσίας εντός του οργανισμού υπάρχουν δυο ενδεχόμενα, καθώς τα νανοσωματίδια μπορεί να απορροφηθούν και να κυκλοφορήσουν στον οργανισμό ή να υποστούν πρόωρη κάθαρση πριν την απορρόφηση. Ως πρόωρη κάθαρση περιγράφεται η άμεση απομάκρυνση των νανοσωματιδίων από το σημείο εισόδου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η περίπτωση που η ουσία χορηγείται μέσω της αναπνευστικής οδού, κατά την οποία είναι πιθανό ένα κλάσμα της χορηγούμενης ποσότητας νανοσωματιδίων να μην απορροφηθεί και να απομακρυνθεί την ίδια στιγμή με την εκπνοή ή με τον βλεννογόνο. Η υπόλοιπη ποσότητα νανοσωματιδίων που ξεπερνάει το στάδιο της πρόωρης κάθαρσης μπορεί να απορροφηθεί μέσω του αίματος στο κυκλοφορικό σύστημα [26, 27]. Ομοίως, στην περίπτωση που τα νανοσωματίδια χορηγούνται με τη χρήση ένεσης, εκτός της ενδοφλέβιας, αρχικά τα νανοσωματίδια πρέπει να απορροφηθούν στο κυκλοφορικό σύστημα κι έπειτα να απορροφηθούν από τα υπόλοιπα όργανα.

Η κατανόηση της διαδικασίας πρόσληψης νανοσωματιδίων από τα όργανα και τους ιστούς αποτελεί κομβικής σημασίας ζήτημα για την ανάπτυξη ενός PBPΚ μοντέλου. Διαφέρει σημαντικά

από εκείνη των συμβατικών χημικών ουσιών, των οποίων η πρόσληψη βασίζεται στην παθητική διάχυση (passive diffusion) τους εντός των ιστών. Αντιθέτως, η διαδικασία απορρόφησης των νανοσωματιδίων ονομάζεται ενδοκύττωση (endocytosis) και η δυναμική της εξαρτάται από το μέγεθος και το σχήμα του νανοσωματιδίου, καθώς και από τις χημικές ιδιότητες της επιφάνειάς του. Ο όρος της ενδοκύττωσης περιλαμβάνει όλους τους μηχανισμούς απορρόφησης νανοσωματιδίων από κύτταρα. Συγκεκριμένα, περιλαμβάνει το μηχανισμό της φαγοκυττάρωσης (phagocytosis), της (μάκρο-)πινοκυττάρωσης ((macro-)pinocytosis), η οποία είναι διεργασία ανεξάρτητη του υποδοχέα (receptor-independent), και της ενδοκύττωσης που είναι εξαρτώμενη από τον υποδοχέα (receptor-mediated endocytosis) [28, 29]. Τα φαρμακοκινητικά μοντέλα κλασικών μορίων δεν ενσωματώνουν τη διαδικασία της ενδοκύττωσης, καθώς είναι μία βιολογική διεργασία που δεν συμβαίνει στις κλασικές φαρμακευτικές ουσίες, συνεπώς αστοχούν πλήρως στην πρόβλεψη του προφίλ συγκέντρωσης νανοσωματιδίων [27].

Η διαδικασία της ενδοκύττωσης μέσω υποδοχέων συναντάται αρκετά συχνά στην παγκόσμια βιβλιογραφία και ως ενδοκύττωση μέσω κλαθρίνης και εγκολπώσεων (clathrin and caveolae mediated endocytosis) [28, 29]. Αυτές οι δύο διαδικασίες ενδοκύττωσης αποτελούν την κύρια μέθοδο εσωτερίκευσης νανοσωματιδίων σε διάφορους τύπους κυττάρων του οργανισμού, καθώς μόλις τα νανοσωματίδια εκτεθούν σε κάποιο από τα φυσιολογικά διαλύματα (π.χ. αίμα), επικαλύπτονται άμεσα από πρωτεΐνες του πλάσματος. Η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης πραγματοποιείται από εξειδικευμένα κύτταρα, τα μακροφάγα (macrophages), και εφαρμόζεται για την εσωτερίκευση ξένων προς τον οργανισμό ουσιών με μέγεθος μεγαλύτερο των 500 nm. Τελευταία περίπτωση ενδοκύττωσης είναι η (μάκρο-)πινοκυττάρωση, η οποία αναφέρεται στην εσωτερίκευση βιολογικών υγρών και σωματιδίων μεγέθους μικρότερου των 10 nm στο εσωτερικό του κυττάρου.

Η ένταση του φαινομένου της ενδοκύττωσης σωματιδίων εξαρτάται από ένα σύνολο παραγόντων. Ενδεικτικά, εξαιρετικά σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν το μέγεθος, το σχήμα και η χημική σύσταση στην επιφάνεια του νανοσωματιδίου (surface charge), τόσο στο είδος της ενδοκύττωσης που θα υποστούν, όσο και στον ρυθμό με τον οποίο θα εσωτερικευθούν στα κύτταρα [28].

Όπως γίνεται αντιληπτό, η μοντελοποίηση της ενδοκύττωσης συνολικά ως διαδικασία στα πλαίσια ενός PBPΚ μοντέλου είναι μία διαδικασία, η οποία αν αναπαριστανόταν πλήρως και αναλυτικά, θα

απαιτούνταν ο προσδιορισμός ενός δυσθεώρητου όγκου παραμέτρων, για τις οποίες τα πειραματικά δεδομένα είναι ανεπαρκή. Για τον λόγο αυτό, στα περισσότερα PBPK μοντέλα για νανοϋλικά (Nano-PBPK) συναντάμε μία απλουστευμένη διαδικασία απορρόφησης νανοσωματιδίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των ιστών και των οργάνων, στην οποία συμπεριλαμβάνονται όλες οι επιμέρους διαδικασίες ενδοκύττωσης. Η ενδοκύττωση μπορεί να προσομοιωθεί με διάφορους τρόπους. Πρώτη περίπτωση προσομοίωσης είναι η περιγραφή της ενδοκύττωσης με μία γραμμική εξίσωση, όπου ο συντελεστής της περιγράφει τον ρυθμό με τον οποίο τα φαγοκύτταρα κάθε ιστού απορροφούν νανοσωματίδια στη μονάδα του χρόνου απευθείας από τον ίδιο τον ιστό [30]. Διαφορετική περίπτωση αποτελεί η προσομοίωση κατά την οποία η πρόσληψη των νανοσωματιδίων από τα μακροφάγα πραγματοποιείται απευθείας μέσω του αίματος [31]. Επιπλέον, μία ακόμα προσέγγιση είναι αυτή που χρησιμοποιεί μία κινητική η οποία περιγράφει τον ρυθμό ενδοκύττωσης με βάση τον κορεσμό που υπάρχει. Συγκεκριμένα, ο ρυθμός απορρόφησης νανοσωματιδίων από τα μακροφάγα μειώνεται όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων σε αυτά ή με την πάροδο του χρόνου. Η προσομοίωση αυτή πραγματοποιείται με τη χρήση μη γραμμικών συναρτήσεων, συγκεκριμένα της συνάρτησης Michaelis-Menten (εξ. 2.2) ή της συνάρτησης Hill (εξ. 2.3).

$$\text{Συνάρτηση Michaelis-Menten: } v = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]} \quad (2.2)$$

$$\text{Συνάρτηση Hill: } k_{up} = \frac{K_{max} \cdot T^n}{K_{50}^n + T^n} \quad (2.3)$$

Η εξίσωση (2.2) έχει αναπτυχθεί αρχικά για την περιγραφή του ρυθμού ενζυμικών αντιδράσεων, όπου v ο ρυθμός της αντίδρασης, $[S]$ η συγκέντρωση της περιοριστικής ουσίας, V_{max} ο μέγιστος δυνατός ρυθμός και K_M η σταθερά Michaelis-Menten που είναι αριθμητικά ίση με την συγκέντρωση του S για την οποία ο ρυθμός της αντίδρασης είναι ακριβώς ίσος με το μισό του μέγιστου δυνατού ρυθμού ($V_{max}/2$). Αντίστοιχα, για να περιγραφεί ο κορεσμός στη διαδικασία της ενδοκύττωσης, η αντιστοιχία των μεταβλητών έχει ως εξής: v είναι ο ρυθμός απορρόφησης νανοσωματιδίων από τα μακροφάγα, $[S]$ η ποσότητα νανοσωματιδίων που έχει απορροφηθεί από τα μακροφάγα, V_{max} ο μέγιστος ρυθμός απορρόφησης νανοσωματιδίων από τα μακροφάγα και K_M είναι ίση με τη συγκέντρωση των νανοσωματιδίων που αντιστοιχεί σε επίπεδο κορεσμού ίσο με το 50%. Αντίστοιχα η εξίσωση (2.3) αποτελεί προσαρμογή της εξίσωσης Hill για το πρόβλημα

προσδιορισμού του ρυθμού ενδοκύττωσης με βάση το χρόνο, όπου T ο χρόνος, k_{up} ο ρυθμός απορρόφησης, K_{max} ο μέγιστος ρυθμός απορρόφησης, K_{50} η χρονική στιγμή στην οποία επιτυγχάνεται ρυθμός απορρόφησης ίσος με τον μισό του μέγιστου K_{max} και n ο συντελεστής Hill [32]. Όπως με την εξίσωση 2.3, έτσι και η εξίσωση (2.2) Michaelis-Menten μπορεί να διατυπωθεί έχοντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή το χρόνο T αντί της συγκέντρωσης $[S]$. Αξίζει ακόμα να σημειωθεί ότι η συνάρτηση Michaelis-Menten ταυτίζεται με τη συνάρτηση Hill για $n = 1$.

Ωστόσο, ορισμένα μοντέλα ενσωματώνουν και την αντίστροφη διαδικασία της εξωκύττωσης (exocytosis) [32, 33]. Στην περίπτωση της εξωκύττωσης η διαδικασία περιγράφεται από μία απλή γραμμική εξίσωση. Συχνά όμως, ο όρος αυτός παραλείπεται, καθώς στους περισσότερους ιστούς ο ρυθμός του φαινομένου είναι αρκετά χαμηλός σε σχέση με τον ρυθμό ενδοκύττωσης.

Τέλος, η κάθαρση (excretion) των νανοσωματιδίων πραγματοποιείται συνήθως μέσω των κοπράνων (feces) και των ούρων (urine). Σε οποιαδήποτε από τις δύο περιπτώσεις, ο ρυθμός απομάκρυνσης νανοσωματιδίων περιγράφεται συνήθως από μία γραμμική εξίσωση όπου ο συντελεστής πολλαπλασιασμένος με την ποσότητα των νανοσωματιδίων που υπάρχουν στο ήπαρ ή τα νεφρά εκφράζει την ποσότητα νανοσωματιδίων που απομακρύνονται στη μονάδα του χρόνου μέσω των κοπράνων ή των ούρων αντίστοιχα [27, 30, 32, 33].

Κεφάλαιο 3

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

Στο κεφάλαιο που ακολουθεί γίνεται παρουσίαση όλης της μαθηματικής θεωρίας και των εργαλείων εκείνων που αποδείχτηκαν απαραίτητα για την εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας. Αρχικά θα γίνει εισαγωγή στην Μπεϋζιανή στατιστική, την ολοκλήρωση Monte Carlo, τις Μαρκοβιανές αλυσίδες καθώς επίσης και στις μεθόδους ανάλυσης ευαισθησίας που χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή συμπερασμάτων αναφορικά με τις παραμέτρους του PBPΚ μοντέλου.

3.1 Μπεϋζιανή στατιστική

Η Μπεϋζιανή στατιστική βασίζεται στη θεωρία του Bayes, σύμφωνα με την οποία η πιθανότητα εκφράζει το βαθμό βεβαιότητας για ένα ενδεχόμενο. Ο υπολογισμός της πιθανότητας επομένως βασίζεται στην εκ των προτέρων γνώση (prior knowledge) για το συγκεκριμένο ενδεχόμενο, η οποία μπορεί να προέρχεται από την ανάλυση πειραματικών δεδομένων μίας έρευνας ή να βασίζεται στις πεποιθήσεις του ερευνητή σε σχέση με το συγκεκριμένο ενδεχόμενο. Το θεώρημα του Bayes περιγράφει την δεσμευμένη πιθανότητα ενός ενδεχομένου αξιοποιώντας την εκ των προτέρων γνώση που είναι διαθέσιμη για τον συγκεκριμένο ενδεχόμενο ή για συσχετιζόμενα ενδεχόμενα.

Σύμφωνα με το θεώρημα του Bayes, αν έχουμε δύο ενδεχόμενα A και B , η δεσμευμένη πιθανότητα (conditional probability) του A ως προς το B δίνεται από τη σχέση (3.1):

$$P(A|B) = \frac{P(B|A) \cdot P(A)}{P(B)} \quad (3.1)$$

όπου $P(A|B)$ η δεσμευμένη πιθανότητα του A ως προς το B , δηλαδή η πιθανότητα να συμβεί το ενδεχόμενο A αν έχει συμβεί το ενδεχόμενο B , $P(B|A)$ η δεσμευμένη πιθανότητα του B ως προς το A , $P(A)$ και $P(B)$ οι πιθανότητες να συμβούν τα ενδεχόμενα A και B αντίστοιχα και $P(B) \neq 0$.

Μία διαφορετική διατύπωση του νόμου του Bayes είναι εκείνη η οποία ορίζει ως θ μία παράμετρο ή ένα διάνυσμα παραμέτρων και y τα δεδομένα που σχετίζονται με το παραμετρικό διάνυσμα θ . Κατά συνέπεια, ως $P(\theta)$ και $P(y)$ ορίζονται οι κατανομές των θ και y αντίστοιχα. Η $P(\theta)$ συχνά αναφέρεται ως εκ των προτέρων κατανομή (prior distribution) ενώ η $P(y|\theta)$ ως πιθανοφάνεια (likelihood). Η από κοινού κατανομή (joint probability) των θ και y συμβολίζεται ως $P(\theta, y)$ και ισούται με:

$$P(\theta, y) = P(\theta) \cdot P(y|\theta). \quad (3.2)$$

Συνεπώς, εφαρμόζοντας τα παραπάνω στη σχέση (3.1) προκύπτει ότι η εκ των υστέρων κατανομή $P(\theta|y)$ (posterior distribution) υπολογίζεται ως εξής:

$$P(\theta|y) = \frac{P(\theta, y)}{P(y)} = \frac{P(\theta) \cdot P(y|\theta)}{P(y)}. \quad (3.3)$$

Στην εξίσωση (3.3), η $P(y)$ ισούται με $P(y) = \sum_{\theta} P(\theta)P(y|\theta)$, όπου το άθροισμα γίνεται πάνω σε όλες τις πιθανές τιμές του θ (στην περίπτωση που το θ αναφέρεται σε συνεχείς μεταβλητές τότε ισχύει $P(y) = \int P(\theta)P(y|\theta)d\theta$). Λαμβάνοντας υπόψιν ότι το y παραμένει σταθερό και ότι η $P(y)$ είναι ανεξάρτητη του θ , μπορούμε να παραλείψουμε τον όρο $P(y)$ από τη σχέση (3.3) και να καταλήξουμε στην ισοδύναμη σχέση (3.4) που δίνει την μη κανονικοποιημένη εκ των υστέρων κατανομή (unnormalized posterior distribution):

$$P(\theta|y) \propto P(\theta) \cdot P(y|\theta). \quad (3.4)$$

Η σχέση (3.4) εμπεριέχει όλη την ουσία της Μπεϋζιανής στατιστικής θεώρησης, σύμφωνα με την οποία, κυρίαρχος στόχος είναι η ανάπτυξη ενός στατιστικού μοντέλου της μορφής $P(\theta, y)$ ώστε να

πραγματοποιηθεί ο υπολογισμός της εκ των υστέρων κατανομής $P(\theta|y)$, χρησιμοποιώντας κάθε φορά τα κατάλληλα υπολογιστικά εργαλεία. Έτσι, μία σωστή προσέγγιση της $P(\theta|y)$ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μελλοντική πρόβλεψη του y με χρήση της σχέσης που το συνδέει με την τιμή της παραμέτρου θ [34].

Παραπάνω ως y ορίστηκαν τα δεδομένα του εκάστοτε προβλήματος, συνεπώς η κατανομή τους δίνεται από τον υπολογισμό του ολοκληρώματος:

$$P(y) = \int P(y, \theta) d\theta = \int P(\theta) P(y|\theta) d\theta \quad (3.5)$$

που συχνά αναφέρεται ως περιθώρια κατανομή των δεδομένων y (marginal distribution of y). Ο υπολογισμός της σχέσης (3.5) αποτελεί τον κύριο λόγο για τον οποίο αποφεύγεται η χρήση της Μπεϋζιανής στατιστικής. Αναλυτικότερα, ο υπολογισμός της περιθώριας κατανομής $P(y)$ μπορεί να αποδειχτεί αρκετά δύσκολος όταν το θ αναφέρεται, όχι σε μία παράμετρο, αλλά σε διάνυσμα παραμέτρων, δηλαδή έχει τη μορφή $\theta = (\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_v)$. Η πολλαπλότητα των διαστάσεων του διανύσματος θ οδηγεί στη μετατροπή του μονού ολοκληρώματος της σχέσης (3.5) σε ολοκλήρωμα πολλαπλότητας v . Ο υπολογισμός αυτού του ολοκληρώματος είναι πρακτικά αδύνατος με τη χρήση αναλυτικών μεθόδων. Το κενό αυτό έρχεται να καλύψει η χρήση άλλων υπολογιστικών μεθόδων για την προσέγγιση της ολοκλήρωσης και συγκεκριμένα η ολοκλήρωση Monte Carlo.

3.2 Ολοκλήρωση Monte Carlo

Οι μέθοδοι ολοκλήρωσης Monte Carlo αποτελούν μία ομάδα μεθόδων προσέγγισης των εκ των υστέρων κατανομών (posterior distributions). Έστω ότι ζητείται ο υπολογισμός του κάτωθι ολοκληρώματος:

$$I = \int_{\Omega} f(x) dx \quad (3.6)$$

όπου Ω το πεδίο ολοκλήρωσης και $f : \Omega \rightarrow \mathbb{R}$ μία πραγματική συνάρτηση. Η αριθμητική επίλυση του ολοκληρώματος I με την αξιοποίηση της Monte Carlo απαιτεί τη χρήση τυχαίας δειγματοληψίας. Πραγματοποιώντας δειγματοληψία για N ανεξάρτητα μεταξύ τους σημεία στο πεδίο ολοκλήρωσης Ω με βάση κάποια βολική κατανομή, με Συνάρτηση Πυκνότητας Πιθανότητας

(Probability Density Function (PDF)) , ο εκτιμητής F_N του ολοκληρώματος I θα είναι:

$$F_N = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{f(x_i)}{PDF}. \quad (3.7)$$

Έστω τώρα ότι το πεδίο ολοκλήρωσης της (3.6) είναι το συνεχές πεδίο $[\alpha, \beta]$ και ότι η δειγματοληψία των N σημείων έγινε από ομοιόμορφη κατανομή στο διάστημα αυτό. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι για ομοιόμορφη κατανομή στο $[\alpha, \beta]$, με $PDF = \frac{1}{(\beta-\alpha)}$, τότε ο εκτιμητής (3.7) γίνεται:

$$F_N = (\beta - \alpha) \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N f(x_i) \quad (3.8)$$

Στη συνέχεια, θεωρώντας ότι η x_i είναι τυχαία μεταβλητή με $x_i \in [\alpha, \beta]$, η μεταβλητή θα μπορούσε να εκφραστεί ως:

$$x_i = \alpha + \xi_i \cdot (\beta - \alpha) \quad (3.9)$$

όπου $\xi_i \in [0, 1]$. Συνδυάζοντας τις εξισώσεις (3.8) και (3.9), ο εκτιμητής αποκτά τη μορφή:

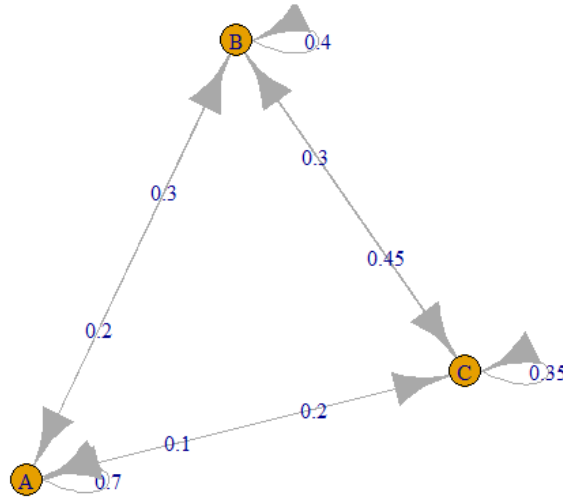
$$F_N = (\beta - \alpha) \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N f(\alpha + \xi_i \cdot (\beta - \alpha)) \quad (3.10)$$

Το συμπέρασμα που προκύπτει από τη σχέση (3.10) είναι ότι η αριθμητική προσέγγιση του ολοκληρώματος I μπορεί να πραγματοποιηθεί αρχικά με δειγματοληψία τιμών του ξ_i στο διάστημα $[0, 1]$ και στη συνέχεια να γίνει μετατροπή σε οποιαδήποτε γνωστή κατανομή στο διάστημα $[\alpha, \beta]$. Για τη διαδικασία της δειγματοληψίας έχουν αναπτυχθεί γεννήτριες τυχαίων αριθμών (Random Number Generator (RNG)). Αυτές οι γεννήτριες μπορεί να είναι είτε γεννήτριες υλισμικού, που πράγματι παράγουν αριθμούς με απόλυτη τυχειότητα, είτε ψεύδο-γεννήτριες (pseudo-random number generators), οι οποίες λειτουργούν βάση κάποιου αλγορίθμου προσομοιώνοντας πολύ καλά τον παράγοντα της τυχειότητας.

3.3 Μαρκοβιανές αλυσίδες

Πολλοί αλγόριθμοι δειγματοληψίας έχουν βασιστεί στις Μαρκοβιανές αλυσίδες (Markov Chains). Ως Μαρκοβιανή αλυσίδα ορίζεται κάθε ακολουθία τυχαίων μεταβλητών $\theta_1, \theta_2, \dots$ για την οποία η τιμή της δεσμευμένης πιθανότητας της θ_t , δεδομένων των $\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_{t-1}$, εξαρτάται αποκλειστικά από

την τελευταία μεταβλητή θ_{t-1} . Οι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούν την ιδιότητα Markov βασίζονται στην αποτελεσματικότητά τους στο γεγονός ότι σε κάθε επανάληψη η προσέγγιση των κατανομών των μεταβλητών θ βελτιώνονται, δηλαδή προσομοιώνουν όλο και καλύτερα την πραγματική κατανομή των θ [34].



Σχήμα 3.1: Παράδειγμα Μαρκοβιανής αλυσίδας. Τα A, B, C είναι οι τρεις πιθανές καταστάσεις και πάνω στα βέλη εμφανίζονται οι πιθανότητες μετάβασης από τη μία κατάσταση στην άλλη.

Στο σχήμα 3.1 απεικονίζεται ένα απλό παράδειγμα για την κατανόηση των Μαρκοβιανών αλυσίδων. Τα A, B, C αποτελούν τις τρεις πιθανές καταστάσεις ενός υποθετικού συστήματος. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η πιθανότητα το σύστημα να βρεθεί σε οποιαδήποτε από τις τρεις καταστάσεις εξαρτάται αποκλειστικά και μόνο από την τελευταία κατάσταση στην οποία βρισκόταν. Αναλυτικότερα, τα βέλη συμβολίζουν την πιθανότητα να μεταβεί το σύστημα από τη μία κατάσταση στην άλλη. Η πιθανότητα αυτή αποκαλείται στάσιμη πιθανότητα μετάβασης (stationary transition probability).

Οι Μαρκοβιανές αλυσίδες επιστρατεύονται όταν είναι δύσκολο ή αδύνατο να γίνει απευθείας δειγματοληψία του θ απευθείας από την εκ των υστέρων κατανομή $P(\theta|y)$. Σκοπός των αλγορίθμων που αξιοποιούν τις Μαρκοβιανές αλυσίδες είναι η κατανομή της δειγματοληψίας να προσεγγίζει όλο και περισσότερο την εκ των υστέρων κατανομή $P(\theta|y)$ με την πάροδο των επαναλήψεων [34]. Οι αλγόριθμοι αυτοί ονομάζονται ευρέως Markov Chain Monte Carlo (MCMC) και δύο από τους σημαντικότερους είναι ο αλγόριθμος Gibbs και ο Metropolis-Hastings, για τους οποίους θα γίνει εκτενέστερη αναφορά στην ενότητα 3.4. Στη συνέχεια αναφέρονται και αναλύονται οι όροι στασιμότητα (stationarity) και αντιστρεψιμότητα (reversibility) που αποτελούν σημαντικές ιδιότητες

των Μαρκοβιανών αλυσίδων.

Γενικότερα, μία ακολουθία X_1, X_2, \dots τυχαίων στοιχείων ενός συνόλου ονομάζεται στοχαστική διαδικασία (stochastic process). Μια στοχαστική διαδικασία ονομάζεται στάσιμη (stationary) αν για κάθε θετικό ακέραιο k η κατανομή των $(X_{n+1}, \dots, X_{n+k})$ δεν εξαρτάται από το n . Μία Μαρκοβιανή αλυσίδα είναι στάσιμη όταν είναι στάσιμη στοχαστική διαδικασία. Συνεπάγεται λοιπόν ότι μια Μαρκοβιανή αλυσίδα είναι στάσιμη αν και μόνο αν η περιθώρια κατανομή του X_n δεν εξαρτάται από το n . Επιπλέον, μία αρχική κατανομή ονομάζεται στάσιμη για κάποια κατανομή πιθανοτήτων μετάβασης αν η Μαρκοβιανή αλυσίδα που έχει αυτή την αρχική κατανομή είναι επίσης στάσιμη. Η στασιμότητα των Μαρκοβιανών αλυσίδων συνεπάγεται σταθερές πιθανότητες μετάβασης (όπως στο σχήμα 3.1), αλλά δεν ισχύει και το αντίστροφο. Για να γίνει κατανοητό αυτό, ας υποθεθεί μία αρχική κατανομή στάσιμη σε ένα σημείο. Τότε η Μαρκοβιανή αλυσίδα μπορεί να είναι στάσιμη αν και μόνο αν όλες οι επαναλήψεις είναι συγκεντρωμένες στο ίδιο σημείο, όπου δηλαδή $X_1 = X_2 = \dots$, με αποτέλεσμα η αλυσίδα να μην μετακινείται καθόλου.

Ακόμα μία σημαντική ιδιότητα των Μαρκοβιανών αλυσίδων είναι αυτή της αντιστρεψιμότητας (reversibility). Μία κατανομή πιθανοτήτων μετάβασης είναι αντιστρέψιμη αναφορικά με την αρχική κατανομή εάν, για την Μαρκοβιανή αλυσίδα X_1, X_2, \dots που προσδιορίζουν, η κατανομή των ζευγών (X_i, X_{i+1}) είναι ανταλλάξιμη. Έπεται ότι μία Μαρκοβιανή αλυσίδα είναι αντιστρέψιμη, εάν η πιθανότητα μετάβασης της είναι αντιστρέψιμη σε σχέση με την αρχική κατανομή. Επίσης, αν μία Μαρκοβιανή αλυσίδα είναι αντιστρέψιμη, είναι και στάσιμη. Το αντίστροφο όμως δεν ισχύει. Για μία αντιστρέψιμη Μαρκοβιανή αλυσίδα ισχύουν οι ίδιοι κανόνες εξέλιξης της αλυσίδας, είτε προχωρώντας, είτε πηγαίνοντας πίσω στο χρόνο, δηλαδή για κάθε ένα από τα i και k , οι κατανομές των $(X_{i+1}, \dots, X_{i+k})$ και $(X_{i+k}, \dots, X_{i+1})$ είναι οι ίδιες [35].

3.4 Αλγόριθμοι MCMC

Στο παρόν υποκεφάλαιο θα αναλυθεί το γενικότερο σκεπτικό πίσω από τους αλγόριθμους MCMC και θα παρουσιαστούν εκτενέστερα ορισμένοι από τους πιο σημαντικούς. Οι μέθοδοι δειγματοληψίας Markov Chain Monte Carlo (MCMC) βασίζονται στη λήψη τιμών από από κατανομές που προσεγγίζουν την εκ των υστέρων κατανομή και στη συνέχεια γίνονται διορθώσεις, ώστε να προσεγγιστεί μία νέα κατανομή που προσομοιώνει ακόμη καλύτερα την κατανομή που έχει τεθεί ως στόχος.

3.4.1 Monte Carlo Μέθοδος

Η Συνήθης Monte Carlo μέθοδος (Ordinary Monte Carlo (OMC)), ή αλλιώς «ανεξάρτητα και πανομοιότυπα κατανομημένα (independent and identically distributed (i.i.d.)) Monte Carlo» είναι μία ξεχωριστή περίπτωση MCMC αλγορίθμου, στην οποία τα δείγματα X_1, X_2, \dots είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους και πανομοιότυπα κατανομημένα. Στην περίπτωση αυτή, η Μαρκοβιανή αλυσίδα είναι στάσιμη και αντιστρέψιμη. Έστω ότι ζητείται ο υπολογισμός του εκτιμητή:

$$\mu = E\{g(X)\}, \quad (3.11)$$

όπου g είναι μία πραγματική συνάρτηση στο χώρο των καταστάσεων και E συμβολίζει τον εκτιμητή (estimator). Γίνεται η υπόθεση ότι η (3.11) δεν μπορεί να υπολογιστεί με κάποια αναλυτική μέθοδο. Έστω επίσης ότι οι X_1, X_2, \dots ακολουθούν ανεξάρτητη και πανομοιότυπη κατανομή, ίδια με του X . Τότε θα ισχύει,

$$\hat{\mu}_n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n g(X_i). \quad (3.12)$$

Εάν τεθεί $Y_i = g(X_i)$, τότε το Y_i αποκτά κατανομή με μέσο μ και διακύμανση:

$$\sigma^2 = \text{var}\{g(x)\}, \quad (3.13)$$

$\hat{\mu}_n$ είναι ο δειγματικός μέσος του Y_i και σύμφωνα με το κεντρικό οριακό θεώρημα (Central Limit Theory (CLT)) προκύπτει ότι:

$$\hat{\mu}_n \sim N\left(\mu, \frac{\sigma^2}{n}\right) \quad (3.14)$$

$$\hat{\sigma}_n^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (g(X_i) - \hat{\mu}_n)^2. \quad (3.15)$$

Σύμφωνα με το κεντρικό οριακό θεώρημα, αν υποθέσουμε τυχαία δείγματα $\{X_1, \dots, X_n\}$ μεγέθους n , τα οποία είναι ανεξάρτητες και πανομοιότυπα κατανομημένες μεταβλητές και ακολουθούν μία οποιαδήποτε κατανομή με μέσο μ , διακύμανση σ^2 και \bar{X} δειγματικό μέσο, τότε η κατανομή του:

$$Z = \frac{\bar{X} - \mu}{\sigma/\sqrt{n}} \quad (3.16)$$

προσεγγίζει την τυποποιημένη κανονική κατανομή όσο το n αυξάνεται ($n \rightarrow \infty$). Μία απλούστερη ανάγνωση του κεντρικού οριακού θεωρήματος είναι η εξής: έχοντας άθροιση μεγάλου πλήθους ανεξάρτητων τυχαίων μεταβλητών, το κανονικοποιημένο άθροισμά τους τείνει να ακολουθεί κανονική κατανομή, ακόμη και αν οι αρχικές μεταβλητές δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Με αυτή τη μεθοδολογία, κάνοντας τυχαία δειγματοληψία μεγάλου αριθμού δειγμάτων είναι εφικτό να προσεγγιστεί ο επιθυμητός εκτιμητής μίας παραμέτρου [36].

3.4.2 Αλγόριθμος Metropolis

Ως μηχανισμός ανανέωσης (update mechanism) χαρακτηρίζεται ένας κώδικας ο οποίος πραγματοποιεί ψευδοτυχαίες αλλαγές για να τροποποιήσει την κατάστασή του. Η κατασκευή των Μαρκοβιανών αλυσίδων με σκοπό τη δειγματοληψία από κατανομές βασίζεται στη δημιουργία τέτοιων μηχανισμών ανανέωσης, οι οποίοι διατηρούν το είδος της κατανομής πριν και μετά την επιβολή της ανανέωσης.

Ο αλγόριθμος Metropolis αποτελεί προσαρμογή της διαδικασίας τυχαίου περιπάτου (random walk) σε συνδυασμό με έναν κανόνα αποδοχής/απόρριψης για σύγκλιση στην επιθυμητή κατανομή. Τα βήματα του αλγορίθμου είναι τα ακόλουθα:

1. Στο πρώτο στάδιο του αλγορίθμου επιλέγεται ένα αρχικό σημείο θ^0 από μία αρχική κατανομή $P_0(\theta)$, για το οποίο $P(\theta^0|y) > 0$, .
2. Για $t = 1, 2, \dots$:
 - (α') Γίνεται δειγματοληψία ενός προτεινόμενου θ^* από μία προτεινόμενη κατανομή σε χρόνο t , έστω $J_t(\theta^*|\theta^{t-1})$. Πρέπει να σημειωθεί ότι η προτεινόμενη κατανομή πρέπει να είναι συμμετρική, δηλαδή να ισχύει $J_t(\theta_\alpha|\theta_b) = J_t(\theta_b|\theta_\alpha)$, για όλα τα θ_α, θ_b και t .
 - (β') Υπολογισμός του λόγου πυκνοτήτων:

$$r = \frac{P(\theta^*|y)}{P(\theta^{t-1}|y)}. \quad (3.17)$$

(γ') Τίθεται:

$$\theta^t = \begin{cases} \theta^* & \text{με πιθανότητα } \min(r, 1) \\ \theta^{t-1} & \text{σε οποιαδήποτε άλλη περίπτωση.} \end{cases} \quad (3.18)$$

Αν η νέα τιμή θ^* οδηγεί σε εκ των υστέρων κατανομή μεγαλύτερης πιθανότητας σε σχέση με την αρχική θ^{t-1} , δηλαδή ισχύει ότι $r > 1$, τότε $\theta^t = \theta^*$. Στην αντίθετη περίπτωση που η νέα εκ των υστέρων κατανομή έχει μικρότερη πιθανότητα, δηλαδή $r < 1$, η πιθανότητα να τεθεί $\theta^t = \theta^*$ είναι ίση με τον λόγο r των εκ των υστέρων κατανομών. Αν δεν λάβει τη νέα τιμή, τότε $\theta^t = \theta^{t-1}$. Δεδομένης της ισχύουσας τιμής θ^{t-1} , η κατανομή μεταφοράς $T_t(\theta^t|\theta^{t-1})$ της Μαρκοβιανής αλυσίδας είναι ένα μείγμα σημειακής μάζας στο $\theta^t = \theta^{t-1}$ και μιας ζυγισμένης εκδοχής της προτεινόμενης κατανομής, $J_t(\theta^t|\theta^{t-1})$, η οποία προσαρμόζεται για το λόγο αποδοχής r .

Ο αλγόριθμος πρέπει να έχει τη δυνατότητα να υπολογίζει τον λόγο r της σχέσης (3.17) για όλα τα (θ, θ^*) αλλά και να εκτελεί τη δειγματοληψία των θ από την προτεινόμενη κατανομή $J_t(\theta^*|\theta)$, για όλα τα θ και t . Επιπλέον, στο βήμα (γ') του αλγορίθμου, απαιτείται η χρήση γεννήτριας τυχαίων αριθμών για τον υπολογισμό της πιθανότητας $\theta_t = \theta^*$. Τέλος, οι επαναλήψεις λογίζονται ακόμα και όταν το σύστημα δεν μεταβαίνει στη νέα κατάσταση, δηλαδή $\theta^t = \theta^{t-1}$ [34].

3.4.3 Αλγόριθμος Metropolis-Hastings

Ο αλγόριθμος Metropolis, που αναφέρθηκε προηγουμένως, αποτελεί ειδική περίπτωση του Metropolis-Hastings. Μία σημαντική διαφορά έγκειται στο ότι η προτεινόμενη κατανομή J_t δεν απαιτείται να είναι συμμετρική, δηλαδή δεν ισχύει απαραίτητα $J_t(\theta_a|\theta_b) = J_t(\theta_b|\theta_a)$. Η δεύτερη διαφορά μεταξύ των δύο αλγορίθμων, η οποία αναιρεί και την ανάγκη ύπαρξης συμμετρίας, είναι ότι πλέον ο λόγος των πυκνοτήτων r ορίζεται ως εξής:

$$r = \frac{P(\theta^*|y)/J_t(\theta^*|\theta^{t-1})}{P(\theta^{t-1}|y)/J_t(\theta^{t-1}|\theta^*)} \quad (3.19)$$

Ο κανόνας αποδοχής/απόρριψης στον Metropolis-Hastings ακολουθεί την ίδια λογική με τον αλγόριθμο Metropolis, δηλαδή ισχύει η σχέση (3.18). Στον αλγόριθμο Metropolis-Hastings ο κανόνας μετάβασης βασίζεται στη δειγματοληψία του θ^* από την κατανομή στόχο, έτσι ώστε να ισχύει $J(\theta^*|\theta) \equiv P(\theta^*|y)$ για κάθε θ . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ο λόγος r της σχέσης (3.19) να είναι πάντα ίσος με 1, ενώ τα θ^t είναι μία ακολουθία ανεξάρτητων δειγματοληψιών από την εκ των υστέρων κατανομή $P(\theta|y)$. Γενικότερα, μία καλή κατανομή πρότασης θεωρείται ότι έχει τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- Για κάθε θ , να είναι εύκολη η δειγματοληψία από την $J(\theta^*|\theta)$.

- Να είναι εύκολος ο υπολογισμός του λόγου r .
- Το μέγεθος μεταβολής από την προηγούμενη στη νέα πρόταση κατανομής να είναι σε αναλογία με την τάξη μεγέθους των παραμέτρων, αλλιώς ο αλγόριθμος προχωράει με πολύ αργό ρυθμό αν οι αλλαγές είναι και αυτές πολύ μικρές.
- Το μεγαλύτερο πλήθος των μεταβολών να μην απορρίπτεται από τον κανόνα αποδοχής/απόρριψης, καθώς έτσι ο αλγόριθμος μένει στάσιμος και σπαταλάει υπολογιστικό χρόνο [34].

3.4.4 Δειγματολήπτης Gibbs

Ο αλγόριθμος Gibbs αποτελεί μία από τις μεθόδους MCMC η οποία χρησιμοποιείται ευρέως σε πολυδιάστατα προβλήματα. Ας υποθεθεί ότι το παραμετρικό διάνυσμα θ απαρτίζεται από d τμήματα ή υποδιανύσματα, $\theta = (\theta_1, \dots, \theta_d)$. Σε κάθε επανάληψη, ο δειγματολήπτης Gibbs εφαρμόζεται σε καθένα από τα υποδιανύσματα του θ διαδοχικά, λαμβάνοντας για καθένα από αυτά μία τιμή για το συγκεκριμένη υποδιάνυσμα, η οποία είναι δεσμευμένη όλων των άλλων. Συνεπώς, σε κάθε επανάληψη t του αλγορίθμου πραγματοποιούνται d βήματα, όσα και η διάσταση του θ . Σε κάθε επανάληψη t , μία διάταξη των d υποδιανυσμάτων του θ επιλέγεται και στη συνέχεια κάθε θ_j^t λαμβάνει τιμές από την δεσμευμένη πιθανότητα δεδομένων των υπολοίπων στοιχείων του διανύσματος θ , δηλαδή η δεσμευμένη κατανομή είναι της μορφής:

$$P(\theta_j | \theta_{-j}^{t-1}, y), \quad (3.20)$$

όπου θ_{-j}^{t-1} όλα τα στοιχεία του θ , εκτός από το θ_j , με τις τιμές που έχουν τη στιγμή της δειγματοληψίας του θ_j , δηλαδή:

$$\theta_{-j}^{t-1} = (\theta_1^t, \dots, \theta_{j-1}^t, \theta_{j+1}^{t-1}, \dots, \theta_d^{t-1}). \quad (3.21)$$

Η σχέση (3.21) υποδηλώνει ότι η ανανέωση κάθε υποδιανύσματος θ_j γίνεται με βάση τις πιο πρόσφατες τιμές των υπολοίπων στοιχείων του θ , δηλαδή τα υποδιανύσματα έως και το θ_j έχουν την τιμή που έλαβαν στην t επανάληψη (την τρέχουσα δηλαδή), ενώ τα υποδιανύσματα μετά το θ_j έχουν την τιμή που έλαβαν στην $t - 1$ επανάληψη, δηλαδή την αμέσως προηγούμενη, καθώς αυτά δεν έχουν ανανεωθεί ακόμη.

3.4.5 Σύγκλιση και Συσχέτιση αλγορίθμων MCMC

Οι επαναληπτικές μέθοδοι που αναπτύχθηκαν έχουν δύο σημεία στα οποία πρέπει να δοθεί αρκετή σημασία. Αρχικά, όταν εφαρμόζονται αυτοί οι αλγόριθμοι πρέπει να διασφαλίζεται ότι ο αριθμός των επαναλήψεων είναι αρκετά μεγάλος ώστε το αποτέλεσμα να είναι αντιπροσωπευτικό της κατανομής που έχει τεθεί ως στόχος. Ακόμη και στην περίπτωση που στις αρχικές επαναλήψεις παρατηρείται ότι ο αλγόριθμος έχει πετύχει φαινομενική σύγκλιση, αυτό αναπαριστά την αρχική κατανομή που έχει δοθεί και όχι την κατανομή στόχο. Αυτό το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με την απόρριψη ενός μεγάλου αριθμού επαναλήψεων από την έναρξη κάθε Μαρκοβιανής αλυσίδας. Το σύνολο των επαναλήψεων που απορρίπτονται αναφέρονται συχνά ως «προθέρμανση (warm up)». Συγκεκριμένα, μία συντηρητική και ασφαλής προσέγγιση είναι να απορρίπτεται το πρώτο μισό των επαναλήψεων και τα συμπεράσματα να βασίζονται αποκλειστικά στο δεύτερο μισό.

Το δεύτερο σημείο στο οποίο πρέπει να δοθεί σημασία είναι η ύπαρξη συσχετισμού μεταξύ των δειγματοληψιών που πραγματοποιούνται με το πέρασμα των επαναλήψεων. Πιο συγκεκριμένα, ένα συχνό φαινόμενο είναι η τιμή της κάθε δειγματοληψίας να εξαρτάται όχι μόνο αποκλειστικά από την αμέσως προηγούμενη δειγματοληψία, αλλά να επηρεάζεται και από ένα σύνολο προηγούμενων τιμών, παραβιάζοντας έτσι τη Μαρκοβιανή ιδιότητα. Η ύπαρξη συσχετισμού οδηγεί σε λιγότερο ασφαλή συμπεράσματα σε σχέση με μία όμοια διαδικασία, η οποία πραγματοποιεί ακριβώς ίδιο αριθμό επαναλήψεων και δεν εμφανίζει συσχετισμένες δειγματοληψίες.

Ένας αποτελεσματικός τρόπος παρακολούθησης και αντιμετώπισης των δυο προβλημάτων είναι να πραγματοποιείται η επαναληπτική διαδικασία σε πολλαπλές διαφορετικές Μαρκοβιανές αλυσίδες, όπου η καθεμία λαμβάνει αρχικές τιμές για τις παραμέτρους από διαφορετικά σημεία του παραμετρικού χώρου. Δεύτερον, η αξιολόγηση της σύγκλισης μπορεί να γίνει με άμεση σύγκριση της διακύμανσης εντός κάθε αλυσίδας (within variance) και της διασποράς μεταξύ των αλυσίδων (between variance) για όλα τα στοιχεία ενδιαφέροντος, ούτως ώστε η διακύμανση εντός της αλυσίδας να είναι σχεδόν ίδια με τη διακύμανση μεταξύ των αλυσίδων. Σωστή προσέγγιση της κατανομής στόχου πραγματοποιείται μόνο όταν η κατανομή κάθε Μαρκοβιανής αλυσίδας βρίσκεται κοντά με την κατανομή που σχηματίζεται από το συνδυασμό των τεσσάρων αλυσίδων. Τέλος, εάν παρατηρείται ότι ο αλγόριθμος απαιτεί μεγάλο υπολογιστικό χρόνο για τη σύγκλιση και τον προσδιορισμό των παραμέτρων που ζητούνται, είναι πιθανό να απαιτούνται αλλαγές στον αλγόριθμο, προκειμένου να είναι αποτελεσματικότερος [34].

3.5 Εκ των προτέρων κατανομές

Η επιλογή του είδους των εκ των προτέρων κατανομών είναι ένα ζήτημα υψηλής σημασίας στα Μπεϋζιανά μοντέλα, καθώς επηρεάζουν τα παραγόμενα αποτελέσματα. Η επιλογή αυτή βασίζεται στην εκτίμηση του ερευνητή σχετικά με τη κατανομή που θα μπορούσε να περιγράφει καλύτερα τις παραμέτρους του μοντέλου. Για παράδειγμα, έστω η περίπτωση που χρειαζόταν να προταθεί μία εκ των προτέρων κατανομή που περιγράφει επαρκώς τη μάζα σώματος σε έναν πληθυσμό. Επειδή η μάζα ενός πληθυσμού συνήθως ακολουθεί κανονική κατανομή, τότε και η επιλογή για την εκ των προτέρων κατανομή θα είναι ανάλογη. Επιπλέον, μία ακόμη απόφαση που πρέπει να ληφθεί κατά τη δημιουργία εκ των προτέρων κατανομών είναι ο τρόπος που θα δομηθεί σε σχέση με την υποκειμενική γνώση που υπάρχει και πως αυτή θα ενσωματωθεί στην κατανομή. Με βάση αυτό το κριτήριο υπάρχουν κατανομές με ισχυρή πληροφορία, με ασθενή πληροφορία και κατανομές που δεν φέρουν καμία πληροφορία.

3.5.1 Εκ των προτέρων κατανομές με πληροφορία

Οι εκ των υστέρων κατανομές με πληροφορία (informative prior distributions) είναι κατανομές στις οποίες ενσωματώνεται οποιαδήποτε διαθέσιμη γνώση αλλά και αβεβαιότητα για τις τιμές που θα μπορούσαν να λάβουν οι παράμετροι θ . Τυπικά, η εκ των προτέρων κατανομή οφείλει να καλύπτει όλες τις πιθανές τιμές που μπορεί να λάβουν οι παράμετροι θ , χωρίς να είναι απαραίτητο να είναι συγκεντρωμένη σε κάποια ρεαλιστική τιμή, καθώς η πληροφορία που περιέχεται στα δεδομένα για το θ μπορεί να επαναπροσδιορίσει την εκ των προτέρων κατανομή [34]. Στο στάδιο επιλογής εκ των προτέρων κατανομών συχνά χρησιμοποιούνται συζυγείς κλάσεις κατανομών, δηλαδή οικογένειες εκ των προτέρων κατανομών, οι οποίες συνδυαζόμενες με μία κατανομή δεδομένων, δίνουν εκ των υστέρων κατανομές, οι οποίες ανήκουν στην ίδια κλάση. Αναλυτικότερα, αν \mathcal{F} είναι μία κλάση κατανομών δειγματοληψίας της $P(y|\theta)$ και \mathcal{P} μία κλάση εκ των προτέρων κατανομών για το θ , τότε η κλάση \mathcal{P} είναι συζυγής (conjugate) της \mathcal{F} εάν

$$P(\theta|y) \in \mathcal{P} \quad \forall \quad P(\cdot|\theta) \in \mathcal{F} \quad \text{και} \quad P(\cdot) \in \mathcal{P}. \quad (3.22)$$

Η κανονική κατανομή (normal distribution) είναι θεμελιώδους σημασίας για τη στατιστική μοντελοποίηση. Συγκεκριμένα, με το θεώρημα κεντρικού ορίου εντατικοποιείται η χρήση της κανονικής

κατανομής για την περιγραφή της πιθανοφάνειας. Έστω ότι ζητείται ο υπολογισμός της πιθανοφάνειας μίας μόνο μέτρησης (δηλαδή ενός σημείου), δεδομένης μίας κανονικής κατανομής με μέσο θ και διακύμανση σ^2 . Τότε, η πιθανοφάνεια δίνεται από την συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας για την κανονική κατανομή [34], δηλαδή:

$$P(y|\theta) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2\sigma^2}(y-\theta)^2}. \quad (3.23)$$

Η πιθανοφάνεια (3.23), που είναι μία συνάρτηση ως προς θ , εκφράζεται ουσιαστικά μέσω μίας εκθετικής σχέσης του τετραγώνου του θ . Η γενικότερη κλάση αυτών των συζυγών εκ των προτέρων κατανομών είναι της μορφής:

$$P(\theta) = e^{A\theta^2+B\theta+C}, \quad (3.24)$$

παραμετροποίηση της οποίας μας δίνει τη σχέση:

$$P(\theta) \propto \exp\left(-\frac{1}{2\tau_0^2}(\theta - \mu_0)^2\right) \quad (3.25)$$

όπου $\theta \sim N(\mu_0, \tau_0^2)$, με υπερπαραμέτρους μ_0 και τ_0^2 . Η συζυγής εκ των προτέρων πυκνότητα υποδηλώνει ότι και η εκ των υστέρων κατανομή θα είναι εκθετικής και τετραγωνικής μορφής ως προς θ . Με συνδυασμός των σχέσεων 3.4, 3.23 και 3.25, καταλήγουμε στη σχέση:

$$P(\theta|y) \propto \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{(y-\theta)^2}{\sigma^2} + \frac{(\theta-\mu_0)^2}{\tau_0^2}\right)\right). \quad (3.26)$$

Κάνοντας αλγεβρικές πράξεις στην εξίσωση (3.26), η εκ των υστέρων κατανομή αποκτά την τελική τη μορφή:

$$P(\theta|y) \propto \exp\left(-\frac{1}{2\tau_1^2}(\theta - \mu_1)^2\right), \quad (3.27)$$

όπου $\theta|y \sim N(\mu_1, \tau_1^2)$ και τα μ_1, τ_1 δίνονται από τις σχέσεις:

$$\begin{aligned} \mu_1 &= \frac{\frac{1}{\tau_0^2}\mu_0 + \frac{1}{\sigma^2}y}{\frac{1}{\tau_0^2} + \frac{1}{\sigma^2}} \\ \frac{1}{\tau_1^2} &= \frac{1}{\tau_0^2} + \frac{1}{\sigma^2}. \end{aligned} \quad (3.28)$$

Παρόλα αυτά, τα περισσότερα στατιστικά μοντέλα βασίζονται στη χρήση δεδομένων μεγαλύτερου πλήθους και όχι ενός σημείου. Έστω, λοιπόν ότι ένα μοντέλο βασίζεται πάνω σε ανεξάρτητες και

πανομοιότυπες κατανεμημένες παρατηρήσεις $y = (y_1, \dots, y_n)$. Χρησιμοποιώντας την ίδια λογική, προκύπτει ότι η εκ των υστέρων κατανομή είναι:

$$\begin{aligned}
 P(\theta|y) &\propto P(\theta)P(y|\theta) \\
 &= P(\theta) \prod_{i=1}^n P(y_i|\theta) \\
 &\propto \exp\left(-\frac{1}{2\tau_0^2}(\theta - \mu_0)\right) \prod_{i=1}^n \exp\left(-\frac{1}{2\sigma^2}(y_i - \theta)^2\right) \\
 &\propto \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{1}{\tau_0}(\theta - \mu_0)^2 + \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=1}^n (y_i - \theta)^2\right)\right).
 \end{aligned} \tag{3.29}$$

Με απλοποίηση της σχέσης (3.29) προκύπτει ότι η εκ των υστέρων κατανομή εξαρτάται από τα δεδομένα y μέσω του μέσου όρου των δειγμάτων, $\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_i y_i$. Επομένως, δεδομένου ότι η πιθανοφάνεια ακολουθεί κανονική κατανομή, δηλαδή $\bar{y}|\theta \sim N(\theta, \sigma^2/n)$, και αντιμετωπίζοντας το μέσο όρο \bar{y} ως βαθμωτό μέγεθος, μπορεί να πραγματοποιηθεί αλγεβρική επεξεργασία όμοια με της σχέσης (3.27) και να εξαχθεί η σχέση:

$$P(\theta|y_1, \dots, y_n) = P(\theta|\bar{y}) \sim N(\theta|\mu_n, \tau_n^2), \tag{3.30}$$

όπου τα μ_n και τ_n δίνονται από τις σχέσεις [34]:

$$\begin{aligned}
 \mu_n &= \frac{\frac{1}{\tau_0^2}\mu_0 + \frac{n}{\sigma^2}\bar{y}}{\frac{1}{\tau_0^2} + \frac{n}{\sigma^2}} \\
 \frac{1}{\tau_n^2} &= \frac{1}{\tau_0^2} + \frac{n}{\sigma^2}.
 \end{aligned} \tag{3.31}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο αντίστροφος της διακύμανσης συχνά ονομάζεται ακρίβεια (precision). Μάλιστα, σύμφωνα με τη σχέση (3.31), η ακρίβεια της εκ των υστέρων κατανομής ισούται με το άθροισμα της ακρίβειας της εκ των προτέρων κατανομής με την ακρίβεια των δεδομένων πολλαπλασιασμένη με το πλήθος των δεδομένων. Έτσι, χρησιμοποιώντας την ιδιότητα της συζυγίας και με την κατάλληλη χρήση πιθανοφάνειας και εκ των προτέρων κατανομής, μπορεί να εξαχθεί η μορφή της εκ των υστέρων κατανομής.

3.5.2 Εκ των προτέρων κατανομές χωρίς πληροφορία

Ως εκ των προτέρων κατανομές χωρίς πληροφορία (noninformative prior distributions) ονομάζονται κατανομές οι οποίες δεν ενσωματώνουν καμία γνώση για τις παραμέτρους που περιγράφουν και σκοπός τους είναι να επηρεάσουν στον ελάχιστο δυνατό βαθμό τη μορφή της εκ των υστέρων κατανομής. Συνεπώς, οι εκ των υστέρων κατανομές ανανεώνονται σε κάθε επανάληψη ενός αλγορίθμου αποκλειστικά από τα δεδομένα.

Έστω το πρόβλημα υπολογισμού της εκ των υστέρων κατανομής του θ από n δεδομένα y που αναπτύχθηκε στην ενότητα 3.5.1, όπου η παράμετρος θ ακολουθεί κανονική κατανομή, $\theta \sim N(\mu_0, \tau_0^2)$. Τότε, αν η ακρίβεια της εκ των προτέρων κατανομής, $1/\tau_0^2$, είναι πολύ μικρή σε σχέση με την ακρίβεια των δεδομένων, n/σ^2 , δηλαδή ισχύει $\tau_0^2 \rightarrow \infty$, η εκ των υστέρων κατανομή θα προσεγγίζει κατανομή κανονικής μορφής:

$$P(\theta|y) \sim N(\theta|\bar{y}, \sigma^2/n). \quad (3.32)$$

Η χρήση εκ των προτέρων κατανομών οι οποίες δεν φέρουν καμία πληροφορία σε στατιστικά μοντέλα παρουσιάζουν αρκετές δυσκολίες κατά την μοντελοποίηση. Αρχικά, η αναζήτηση κατάλληλης κατανομής η οποία να είναι αόριστη, ώστε να μην ενσωματώνει πληροφορία είναι αρκετά δύσκολη. Μάλιστα, η επιλογή ενός τύπου επίπεδης κατανομής (flat distribution) με συγκεκριμένο εύρος για όλες τις παραμέτρους οδηγεί συχνά σε λανθασμένα συμπεράσματα. Ακόμα, η επιλογή ενός τύπου κατανομής μπορεί να μην είναι επαρκής σε πολλά προβλήματα. Για παράδειγμα, η χρήση επίπεδης κανονικής κατανομής χωρίς πληροφορία είναι πιθανό να μην προσεγγίζει την κατανομή όλων των μεγεθών που παραμετροποιούνται και κάποια από αυτά να χρειάζονται άλλη κατανομή (π.χ. κανονική κατανομή). Παρόλα αυτά, η χρήση εκ των προτέρων κατανομών χωρίς πληροφορία εφαρμόζεται συχνά όταν δεν υπάρχει ανάγκη ποσοτικοποίησης της εκ των προτέρων γνώσης για μία παράμετρο [34].

3.5.3 Εκ των προτέρων κατανομές με ασθενή πληροφορία

Πάνω στην ίδια λογική με τις εκ των προτέρων κατανομές χωρίς πληροφορία βασίζεται και η χρήση εκ των προτέρων κατανομών με ασθενή πληροφορία (weakly informative priors). Αυτού του είδους οι κατανομές χρησιμοποιούνται όταν επιθυμείται να δοθούν κάποια όρια στην εκ των υστέρων κατανομή, πάλι όμως χωρίς να ενσωματώνει λεπτομερή γνώση για τις προσδιοριζόμενες

παραμέτρους. Ως ασθενής εκ των υστέρων κατανομή χαρακτηρίζεται μία κατανομή της οποίας το ολοκλήρωμα ισούται με τη μονάδα αλλά η πληροφορία που ενσωματώνει είναι εσχεμμένα λιγότερη από τη διαθέσιμη που θα μπορούσε να ενσωματωθεί σε μία εκ των προτέρων κατανομή.

Οι λόγοι για τους οποίους χρησιμοποιούνται ασθενείς εκ των υστέρων κατανομές ποικίλουν. Ένας από αυτούς είναι η δυσκολία που εμφανίζει η διαδικασία αποτύπωσης όλης της διαθέσιμης γνώσης για τη μελετώμενη παράμετρο εντός ενός στατιστικού μοντέλου, δηλαδή με τη μορφή κατανομής. Επιπλέον, η χρήση ασθενών κατανομών πολύ συχνά στοχεύει στην απλοποίηση των μαθηματικών υπολογισμών. Ακόμη, αυτού του είδους οι κατανομές είναι αρκετά χρήσιμες όταν η γνώση που υπάρχει για τις παραμέτρους δεν προέρχεται από επιβεβαιωμένες πηγές ή υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιούνται ασθενείς εκ των προτέρων κατανομές, γιατί μία εκ των προτέρων κατανομή με ισχυρή πληροφορία (υψηλή ακρίβεια) θα οδηγούσε σε λάθος σημείο την εκ των υστέρων κατανομή.

3.6 Ανάλυση Ευαισθησίας

Σε μεγάλα και πολύπλοκα μοντέλα συχνά δεν είναι ξεκάθαρο ποιές από τις παραμέτρους επηρεάζουν εντονότερα την κατάσταση του συστήματος. Τα φαρμακοκινητικά μοντέλα κατασκευάζονται με σκοπό την περιγραφή της λειτουργίας ενός οργανισμού για τον μεταβολισμό μίας ουσίας την οποία δέχεται, χρησιμοποιώντας πολλαπλές διαφορικές εξισώσεις, όπου κάθε μία από αυτές δύναται να ενσωματώνει πληθώρα παραμέτρων που περιγράφουν τη φυσιολογία του οργανισμού και τις βιολογικές διεργασίες ADME. Ωστόσο, πολλές φορές η πολυπλοκότητα των διεργασιών οδηγεί στη χρήση μεγαλύτερου όγκου παραμέτρων από αυτές που είναι εφικτό να προσδιορισθούν και δημιουργείται η ανάγκη να αποδοθούν σε ορισμένες παραμέτρους σταθερές τιμές (fixed values) και να προσδιορισθούν μέσω των διαθέσιμων πειραματικών δεδομένων μονάχα οι σημαντικότερες. Τότε, για να αποφευχθούν προβλήματα ταυτοποιησιμότητας (identifiability) [37], η κατάταξη βάση σημαντικότητας βοηθά στο να επιλεγεί ένα υποσύνολο παραμέτρων για εκτίμηση της τιμής τους. Αυτό το κενό καλύπτει η ανάλυση ευαισθησίας (Sensitivity Analysis (SA)), η οποία θα μπορούσε να οριστεί ως η μελέτη του τρόπου κατανομής της αβεβαιότητας στην έξοδο ενός μοντέλου στις διάφορες πηγές αβεβαιότητας του μοντέλου αυτού [38].

Η ανάγκη για ερμηνεία και αιτιολόγηση της αβεβαιότητας αυτής έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ποικίλων μεθόδων ανάλυσης ευαισθησίας. Οι μέθοδοι, ανάλογα με το σκοπό που εξυπηρετούν,

χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στις μεθόδους τοπικής ευαισθησίας (Local Sensitivity (LS)) και στις μεθόδους ολικής ευαισθησίας (Global Sensitivity (GS)). Η θεμελιώδης διαφορά των δύο προσεγγίσεων ανάλυσης ευαισθησίας αφορούν τον τρόπο εξερεύνησης του παραμετρικού χώρου του μοντέλου. Συγκεκριμένα, η τοπική ανάλυση ευαισθησίας βασίζεται στον υπολογισμό της επίδρασης πάνω στην έξοδο του μοντέλου που έχουν μικρές μεταβολές των τιμών των παραμέτρων όταν αυτές πραγματοποιούνται μία τη φορά, δηλαδή η κάθε παράμετρος έχει μία συγκεκριμένη τιμή και υπολογίζεται μέσω παραγώγων η επίδραση που θα επιφέρει μία ποσοστιαία μεταβολή της τιμής αυτής στην έξοδο του μοντέλου. Αντίθετα, οι μέθοδοι ολικής ανάλυσης ευαισθησίας εστιάζουν στην εξερεύνηση ολόκληρου του εύρους των παραμέτρων, δηλαδή των κατανομών που ακολουθούν. Κάθε μία από τις προσεγγίσεις εμφανίζει σημαντικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, με την τοπική ανάλυση ευαισθησίας να αποτελεί πιο προσιτή μέθοδο για την πραγματοποίηση ενός προκαταρκτικού ελέγχου σημαντικότητας των παραμέτρων λόγω του σχετικά χαμηλού υπολογιστικού της κόστους, ενώ η ολική ανάλυση, αν και αποτελεί αρκετά πολυπλοκότερη προσέγγιση με αρκετά μεγαλύτερο υπολογιστικό κόστος, προσφέρει πληρέστερη ανάλυση των παραμέτρων σχετικά με το πως επηρεάζει την έξοδο του μοντέλου κάθε παράμετρος, τόσο ξεχωριστά όσο και οι αλληλεπιδράσεις που εμφανίζουν μεταξύ τους. Επομένως, οι βασικοί στόχοι της ανάλυσης ευαισθησίας συνοψίζονται ως εξής [39]:

- ο προσδιορισμός και κατάταξη των πιο σημαντικών παραμέτρων,
- ο προσδιορισμός των λιγότερο σημαντικών παραμέτρων ώστε να τους αποδοθεί μία σταθερή τιμή,
- και η αντιστοίχιση της συμπεριφοράς της εξόδου του μοντέλου προς ανάλυση με τις παραμέτρους, εστιάζοντας σε ένα συγκεκριμένο εύρος πιθανών τιμών που μπορούν να λάβουν.

3.6.1 Τοπική Ανάλυση Ευαισθησίας

Η ανάλυση τοπικής ευαισθησίας αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την κατάταξη των παραμέτρων ενός μοντέλου, ανάλογα με τον τρόπο που επηρεάζουν το σύστημα. Εμβαθύνοντας, η τοπική ανάλυση ευαισθησίας εξετάζει πώς μία μικρή διαταραχή σε ένα παραμετρικό χώρο, έστω $x^0 = (x_1^0, \dots, x_p^0)$, επηρεάζει την τιμή του $y = \phi(x^0)$, σύμφωνα με τη σχέση:

$$A_i = \frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot (x_1^0, \dots, x_p^0), \quad (3.33)$$

όπου A_i εκφράζει το αποτέλεσμα που είχε η μεταβολή της x_i^0 στο y [40].

Η πιο τετριμμένη και απλοϊκή μέθοδος τοπικής ανάλυσης ευαισθησίας είναι η μέθοδος εξέτασης μίας παραμέτρου κάθε φορά. Η μέθοδος αυτή συχνά καλείται και ως “one-at-a-time” και κάνει χρήση του Δείκτη Ευαισθησίας (Sensitivity Index - (SI)), ο οποίος ισούται με:

$$SI = \left(\frac{\partial y_i}{\partial x_i} \right) / y_i, \quad (3.34)$$

$$\frac{\partial y_i}{\partial x_i} = \frac{y(x_i + \Delta x_i) - y(x_i)}{x_i \cdot \Delta x_i}$$

όπου Δx_i η διαταραχή που επιβάλλεται στην παράμετρο x_i . Στη συνέχεια, για να είναι πιο ξεκάθαρα τα αποτελέσματα της ανάλυσης, συνήθως εφαρμόζεται μία κανονικοποίηση των δεικτών SI ανά εξαρτημένη μεταβλητή y_i και ανά παράμετρο x_i [41].

3.6.2 Ολική Ανάλυση Ευαισθησίας

Η ολική ανάλυση ευαισθησίας επιτρέπει την αναγνώριση εκείνων των παραμέτρων που έχουν σημαντικότερη επίδραση στην έξοδο ενός μοντέλου, εξερευνώντας ολόκληρο τον παραμετρικό χώρο, δηλαδή μεταβάλλοντας ταυτόχρονα όλες τις παραμέτρους, κάτι που επιτρέπει την ποσοτικοποίηση της επίδρασης που έχει κάθε μία παράμετρος ξεχωριστά στην έξοδο του μοντέλου αλλά και της επίδρασης που έχουν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο ή περισσότερων παραμέτρων [42, 43]. Με μία απλή αναζήτηση στην παγκόσμια βιβλιογραφία μπορεί να έρθει κανείς σε επαφή με πληθώρα διαφορετικών μεθόδων προσέγγισης της ολικής ανάλυσης ευαισθησίας, με τις σημαντικότερες αυτών να είναι η κατάταξη της επιρροής των παραμέτρων του μοντέλου με τη χρήση της μεθόδου Morris, οι μέθοδοι που βασίζονται στον υπολογισμό της διακύμανσης της εξόδου των μοντέλων (variance based) όπως η μέθοδος Sobol και η eFast (extended Fourier Amplitude Sensitivity Test), η Partial Rank Correlation Coefficients (PRCC) και άλλες [44, 45, 46, 47]. Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας η μελέτη εστιάστηκε στις μεθόδους Morris και Sobol, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια.

3.6.2.1 Μέθοδος Morris

Η μέθοδος Morris αποτελεί μία από τις πιο εύκολα εφαρμόσιμες μεθόδους ολικής ανάλυσης ευαισθησίας εξαιτίας του μικρού αριθμού υπολογισμών που απαιτεί σε σχέση με τις υπόλοιπες [39]. Η

συγκεκριμένη μέθοδος στοχεύει στον υπολογισμό των Στοιχειωδών Επιδράσεων (Elementary Effects (EE)) και επιτρέπει την κατηγοριοποίηση των παραμέτρων σε τρεις ομάδες: σε παραμέτρους που έχουν αμελητέα επίδραση στην έξοδο, σε παραμέτρους οι οποίες έχουν ισχυρή γραμμική επίδραση (linear effects) στην έξοδο και σε παραμέτρους που έχουν είτε ισχυρές μη γραμμικές (non-linear) επιδράσεις, είτε επιδρούν σε συνδυασμό με άλλες παραμέτρους (interactions) στην έξοδο του μοντέλου. Για κάθε παράμετρο που εξετάζεται, υπολογίζονται δύο δείκτες ευαισθησίας: ο δείκτης μ , ο οποίος εκφράζει την συνολική επίδραση που έχει η συγκεκριμένη παράμετρος στην έξοδο του μοντέλου και ο δείκτης σ , ο οποίος εκφράζει την επίδραση που έχει η παράμετρος συνδυαστικά με τις υπόλοιπες παραμέτρους ή και τη μη γραμμική επίδραση της παραμέτρους στην έξοδο. Τα πειράματα της μεθόδου βασίζονται στη λογική των OAT (one at a time) πειραμάτων, δηλαδή σε κάθε επανάληψη λαμβάνεται τυχαία τιμή για μία μόνο παράμετρο. Αν κάθε παράμετρος συμβολιστεί ως $X_i, i = 1, \dots, k$, όπου k το πλήθος των παραμέτρων που εισάγονται στο μοντέλο, τότε ορίζονται p δυνατά επίπεδα τιμών για κάθε μεταβλητή, οπότε δημιουργείται ένα πλέγμα $k \times p$.

Μία συνήθης τακτική για δειγματοληψία τιμών για τις παραμέτρους είναι να θεωρείται ότι οι παράμετροι ακολουθούν ομοιόμορφη κατανομή στο διάστημα $[0,1]$ και στη συνέχεια με μετασχηματισμό βρίσκονται οι ισοδύναμες τιμές από την επιθυμητή κατανομή. Η παραπάνω διαδικασία συναντάται συχνά με τον όρο αντίστροφη δειγματοληψία (inverse sampling) και πρόκειται να περιγραφεί αναλυτικά σε μετέπειτα κεφάλαιο. Συνεπώς, το εύρος τιμών Ω , από το οποίο λαμβάνονται τιμές για τις παραμέτρους, έχει διάσταση k και είναι χωρισμένο σε $p - 1$ τμήματα.

Η τιμή EE για μία παράμετρο X_i που ανήκει στο παραμετρικό διάνυσμα \mathbf{X} ορίζεται ως:

$$d_i(\mathbf{X}) = \left(\frac{f(X_1, \dots, X_{i-1}, X_i + \Delta, X_{i+1}, \dots, X_k) - f(\mathbf{X})}{\Delta} \right) \quad (3.35)$$

όπου Δ λαμβάνει μία μοναδική τιμή για όλη την ανάλυση και η τιμή αυτή επιλέγεται από το διακριτό σύνολο $\{1/(p-1), 2/(p-2), \dots, 1 - 1/(p-1)\}$, p ο αριθμός των επιπέδων (levels) στα οποία θα χωριστεί η αρχική ομοιόμορφη κατανομή των παραμέτρων στο $[0,1]$, $\mathbf{X} = (X_1, X_2, \dots, X_k)$ κάθε επιλεγμένη τιμή από τον παραμετρικό χώρο Ω τέτοια, ώστε το μετασχηματισμένο παραμετρικό διάνυσμα $\mathbf{X} + \mathbf{e}_i \Delta$ να ανήκει κι αυτό στο Ω για κάθε $i = 1, \dots, k$, ενώ \mathbf{e}_i είναι ένα μηδενικό διάνυσμα εκτός από το i -στό στοιχείο του που είναι ίσο με 1. Συνεπώς, η πεπερασμένη κατανομή των EE της i -στής παραμέτρου υπολογίζεται ύστερα από τυχαίες δειγματοληψίες του \mathbf{X} από το Ω και συμβολίζεται με F_i , δηλαδή $d_i(\mathbf{X}) \sim F_i$ [45]. Η επιλογή της τιμής του Δ αποτελεί ελεύθερη

επιλογή του μελετητή. Ωστόσο, οι Campolongo, Cariboni and Saltelli, 2007 [48] προτείνουν την εξής στρατηγική προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η εξερεύνηση του παραμετρικού χώρου. Αυτό που προτείνουν (και υιοθετήθηκε και στην παρούσα εργασία) είναι ο αριθμός των επιπέδων p να είναι ένας άρτιος αριθμός, έτσι ώστε το Δ να λάβει την τιμή $\Delta = \frac{p}{2(p-1)}$. Στο σημείο αυτό πρέπει να γίνει σαφές ότι από τη στιγμή που επιλεχθεί τιμή για το Δ , αυτή παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της μεθόδου και δεν μεταβάλλεται.

Προκειμένου να γίνει περισσότερο κατανοητή η λογική της μεθόδου Morris, θα δοθεί ένα απλό παράδειγμα ενός υποθετικού μοντέλου $y = f(\mathbf{X})$, όπου $\mathbf{X} = (X_1, X_2)$, δηλαδή το μοντέλο αποτελείται από δύο παραμέτρους. Αν εφαρμοστεί η μέθοδος Morris στο μοντέλο y , επιλέγοντας ως αριθμό επιπέδων τον αριθμό $p = 4$, τότε το σύνολο τιμών που προκύπτουν από την αρχική κατανομή $uniform(0, 1)$ των παραμέτρων είναι οι εξής: $\Omega = \{0, 1/3, 2/3, 1\}$. Επίσης, εφόσον ορίστηκε ζυγός αριθμός επιπέδων, η τιμή του Δ μπορεί να $\Delta = 1/3$. Κατά το στάδιο έναρξης της μεθόδου, κάθε μία από τις παραμέτρους X_1 και X_2 λαμβάνει με τυχαίο τρόπο μία τιμή από το σύνολο Ω . Έστω λοιπόν ότι η παράμετρος X_1 λαμβάνει την τιμή $X_1 = 1/3$ και η παράμετρος X_2 λαμβάνει την τιμή $X_2 = 1$. Έτσι σχηματίζεται το πρώτο παραμετρικό σετ $\theta_0 = (X_1 = 1/3, X_2 = 1)$. Στη συνέχεια υπολογίζεται η τιμή του μοντέλου για το συγκεκριμένο παραμετρικό σετ, δηλαδή $y_0 = f(\theta_0)$. Το επόμενο βήμα είναι να επιβληθεί η μεταβολή Δ σε οποιαδήποτε από τις δύο διαθέσιμες παραμέτρους. Η επιλογή της παραμέτρου η οποία θα μεταβληθεί είναι εντελώς τυχαία. Έστω ότι μεταβάλλεται η παράμετρος X_1 κατά Δ , δηλαδή $X_1^* = X_1 + \Delta = 2/3$. Τότε, το νέο παραμετρικό σετ που σχηματίζεται είναι το $\theta_1 = (X_1^* = 2/3, X_2 = 1)$, το οποίο δίνει ένα νέο $y_1 = f(\theta_1)$. Στο επόμενο βήμα αναγκαστικά μεταβάλλεται η τιμή της παραμέτρου X_2 κατά Δ , δηλαδή σχηματίζεται το νέο παραμετρικό σετ $\theta_2 = (X_1^* = 2/3, X_2^* = 2/3)$, το οποίο δίνει ένα νέο $y_2 = f(\theta_2)$. Στο σημείο αυτό έχει ολοκληρωθεί η πρώτη τροχιά της μεθόδου (trajectory). Ωστόσο, η εφαρμογή της μεθόδου Morris βασίζεται στην επανάληψη της παραπάνω διαδικασίας πολλές φορές, προκειμένου οι παράμετροι να λάβουν όσο το δυνατόν περισσότερες τιμές από το σύνολο Ω , δηλαδή απαιτούνται πολλαπλές τροχιές. Όταν η πρώτη τροχιά ολοκληρωθεί, γίνεται εκκίνηση της δεύτερης τροχιάς, με ανάθεση τιμών από το σύνολο Ω στις παραμέτρους, πάλι με τυχαίο τρόπο, υπό την προϋπόθεση ότι δεν θα λάβουν την αρχική τιμή που είχαν στην προηγούμενη τροχιά, δηλαδή γίνεται εκκίνηση από διαφορετικό σημείο για κάθε παράμετρο. Στη συνέχεια ακολουθεί η ίδια διαδικασία μεταβάλλοντας μία παράμετρο κάθε φορά κατά Δ . Το πλήθος των τροχιών που θα πραγματοποιηθούν εξαρτάται από το υπολογιστικό κόστος του μοντέλου. Ωστόσο, περισσότερες τροχιές και σχετικά μεγάλος αριθμός p εξασφαλίζουν καλύτερη εξερεύνηση του παραμετρικού χώρου, επομένως και

ποιοτικότερα αποτελέσματα.

Από την κατανομή F_i που σχηματίζουν οι ΕΕ της παραμέτρου X_i , προκύπτουν οι δύο δείκτες ευαισθησίας, βάση των οποίων γίνεται η κατάταξη των παραμέτρων με σειρά σημαντικότητας. Αυτοί οι δείκτες είναι ο αριθμητικός μέσος μ και η τυπική απόκλιση σ της κατανομής F_i . Στο σημείο αυτό είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι ποσότητες μ και σ είναι αρκετές για να την αξιολόγηση των παραμέτρων στην περίπτωση που η συνάρτηση του μοντέλου που εξετάζεται είναι μονότονη, δηλαδή η μέθοδος Morris εφαρμόζεται για μοντέλα που είναι μονότονα. Αν η συγκεκριμένη συνθήκη δεν ισχύει, τότε είναι αναμενόμενο ορισμένες από τις τιμές των ΕΕ να έχουν αρνητικό πρόσημο με βάση την 3.35, με άμεσο αποτέλεσμα ο μέσος όρος μ των ΕΕ, ο οποίος εκφράζει την επίδραση κάθε παραμέτρου στην έξοδο του μοντέλου, να αποκτά χαμηλή τιμή διότι προκύπτει από την άθροιση θετικών και αρνητικών τιμών κι έτσι η αντίστοιχη παράμετρος θεωρείται εσφαλμένα μη σημαντική σε σχέση με άλλες.

Παρόλα αυτά, η συνθήκη της μονοτονίας δεν είναι τόσο περιοριστική. Αυτό το εμπόδιο έχει προσπελαστεί με τη χρήση ενός νέου όρου μ^* , ο οποίος είναι η εκτίμηση της μέσης τιμής των απόλυτων τιμών των ΕΕ όταν αυτές ακολουθούν μία πεπερασμένη κατανομή G_i , δηλαδή $|d_i(\mathbf{X})| \sim G_i$. Το μειονέκτημα της χρήσης του νέου όρου μ^* είναι ότι χάνεται η πληροφορία που εμπεριέχεται στο πρόσημο των τιμών του όρου μ , δηλαδή τον αν η αντίστοιχη παράμετρος έχει θετική ή αρνητική επίπτωση στην έξοδο του μοντέλου. Ωστόσο, αυτή η πληροφορία ανακτάται από την ταυτόχρονη εξέταση των όρων μ και μ^* , κάτι το οποίο είναι εφικτό χωρίς να αυξάνεται το υπολογιστικό κόστος της μεθόδου. Για παράδειγμα, αν για μία παράμετρο οι τιμές των μ και μ^* είναι και οι δύο υψηλές, τότε το πρόσημο των ΕΕ δεν μεταβάλλεται για την αντίστοιχη παράμετρο και η έξοδος του μοντέλου εμφανίζει μονοτονία ως προς αυτή την παράμετρο. Αντίθετα, αν η τιμή του μ είναι χαμηλή και η τιμή του μ^* υψηλή, τότε αυτό δηλώνει ότι οι διάφορες τιμές των ΕΕ της παραμέτρου εμφανίζουν αντίθετα πρόσημα, συνεπώς η έξοδος του μοντέλου δεν διατηρεί μονοτονία ως προς την παράμετρο αυτή [48]. Στην περίπτωση εφαρμογής της μεθόδου σε φαρμακοκινητικά μοντέλα και συγκεκριμένα σε PBPK, η χρήση του όρου μ^* αποτελεί απαραίτητα προϋπόθεσή για την αξιολόγηση των παραμέτρων [49].

Τέλος, η εφαρμογή της μεθόδου Morris εμφανίζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε μοντέλα τα οποία έχουν έναν μεγάλο αριθμό παραμέτρων (50 παραμέτρους ή και παραπάνω) σαν είσοδο ή σε μοντέλα των οποίων ο χρόνος εκτέλεσης θεωρείται μεγάλος, δηλαδή κυμαίνεται από μερικά λεπτά έως πολλές ώρες. Έτσι, με τη χρήση του Morris test είναι εφικτή η ολική ανάλυση ευαισθησίας στο

σύνολο των παραμέτρων του μοντέλου, διατηρώντας τη διάρκεια της ανάλυσης σε φυσιολογικά επίπεδα (μέχρι μερικές ώρες) συγκριτικά με άλλες μεθόδους ολικής ανάλυσης [49, 50].

3.6.2.2 Μέθοδος Sobol

Μία μεγάλη κατηγορία μεθόδων ολικής ανάλυσης ευαισθησίας αποτελούν οι μέθοδοι αποδόμησης της διακύμανσης της εξόδου του μοντέλου (variance-based methods). Ως θεμελιώδης μέθοδος αυτής της κατηγορίας θα μπορούσε να θεωρηθεί η μέθοδος Sobol, καθώς όλες οι υπόλοιπες μέθοδοι της κατηγορίας υπολογίζουν τους δείκτες ευαισθησίας με παρόμοιο τρόπο και αναφέρονται σε αυτούς ως δείκτες Sobol (Sobol Indices) [50].

Έστω ότι η έξοδος του εξεταζόμενου μοντέλου συμβολίζεται με u και σχετίζεται με την είσοδο του μοντέλου μέσω της συνάρτησης $u = f(x)$, όπου $x = (x_1, \dots, x_n)$ η είσοδος του μοντέλου, ή αλλιώς οι παράμετροι των οποίων οι δείκτες ευαισθησίας πρόκειται να υπολογισθούν (όπου n το πλήθος των παραμέτρων). Στις εξισώσεις που θα ακολουθήσουν θεωρείται ότι όλα τα στοιχεία της εισόδου x ακολουθούν ομοιόμορφη κατανομή στο διάστημα $I = [0, 1]$ και όλα τα όρια ολοκλήρωσης είναι από το 0 έως το 1. Έστω λοιπόν ότι η $f(x)$ είναι ολοκληρώσιμη στο διάστημα I^n . Τότε η $f(x)$ μπορεί να εκφραστεί με τη μορφή αθροισμάτων ως εξής [51]:

$$f(x) = f_0 + \sum_{s=1}^n \sum_{i_1 < \dots < i_s} f_{i_1 \dots i_s}(x_{i_1}, \dots, x_{i_s}), \quad (3.36)$$

όπου $1 \leq i_1 < \dots < i_s \leq n$. Η εξίσωση (3.36) αποτελεί την αναπαράσταση ANOVA (Analysis Of Variance) της $f(x)$ αν:

$$\int_0^1 f_{i_1 \dots i_s}(x_{i_1}, \dots, x_{i_s}) dx_k = 0, \quad (3.37)$$

όπου $k = i_1, \dots, i_s$. Συνδυάζοντας τις εξισώσεις (3.36) και (3.37) προκύπτει ότι:

$$\begin{aligned} \int f(x) dx &= f_0, \\ \int f(x) \prod_{i \neq i} dx_k &= f_0 + f_i(x_i), \\ \int f(x) \prod_{i \neq i, j} dx_k &= f_0 + f_i(x_i) + f_j(x_j) + f_{ij}(x_i, x_j), \end{aligned} \quad (3.38)$$

και ούτω καθεξής. Τώρα, έστω ότι και το τετράγωνο της $f(x)$ παραγωγίζεται. Αυτό σημαίνει ότι και όλοι οι όροι $f_{i_1 \dots i_s}$ της εξίσωσης (3.36) είναι και αυτοί παραγωγίσιμοι αν υψωθούν στο

τετράγωνο. Επομένως, τετραγωνίζοντας και ολοκληρώνοντας την (3.36) στο I^n λαμβάνουμε

$$\int f^2(x) dx - f_0^2 = \sum_{s=1}^n \sum_{i_1 < \dots < i_s} \int f_{i_1 \dots i_s}^2 dx_{i_1} \dots dx_{i_s}. \quad (3.39)$$

Στην περίπτωση αυτή μπορούμε να ξεχωρίσουμε τους όρους

$$\begin{aligned} D &= \int f^2 dx - f_0^2, \\ D_{i_1 \dots i_s} &= \int f_{i_1 \dots i_s}^2 dx_{i_1} \dots dx_{i_s}, \end{aligned} \quad (3.40)$$

ο οποίοι εκφράζουν τις διακυμάνσεις της εξόδου u και ισχύει

$$D = \sum_{s=1}^n \sum_{i_1 < \dots < i_s} D_{i_1 \dots i_s}. \quad (3.41)$$

Οι δείκτες ανάλυσης ευαισθησίας, ή αλλιώς δείκτες Sobol, ορίζονται ως ο λόγος:

$$S_{i_1, \dots, i_s} = \frac{D_{i_1, \dots, i_s}}{D}, \quad (3.42)$$

όπου ο δείκτης S εκφράζει την τάξη του δείκτη Sobol, ή αλλιώς των αριθμό των παραμέτρων στις οποίες οφείλεται το μέρος της διακύμανσης της εξόδου που εκφράζει ο αντίστοιχος δείκτης Sobol. Εξ ορισμού όλοι οι δείκτες $S_{i_1 \dots i_s}$ είναι μη αρνητικοί αριθμοί και το άθροισμά τους ισούται με τη μονάδα [51], δηλαδή:

$$\sum_{s=1}^n \sum_{i_1 \dots i_s} = 1. \quad (3.43)$$

Για παράδειγμα, ο δείκτης Sobol $S_i = \frac{D_i}{D}$ είναι πρώτης τάξης και εκφράζει τη συνεισφορά που έχει η παράμετρος i στη διακύμανση της εξόδου u . Ομοίως, ο δείκτης $S_{ij} = \frac{D_{ij}}{D}$ είναι δεύτερης τάξης και εκφράζει τη συνεισφορά που επιφέρει η αλληλεπίδραση των παραμέτρων i και j στη διακύμανση της εξόδου u του μοντέλου. Ολικός δείκτης ευαισθησίας μίας παραμέτρου είναι το άθροισμα των δεικτών όλων των τάξεων που αφορούν την παράμετρο αυτή, δηλαδή ισχύει ότι $S_{T_i} = S_i + S_{ij_{i \neq j}} + \dots + S_{i_1 \dots i_s}$. Επομένως, όσο μεγαλύτερος είναι ο δείκτης ευαισθησίας μίας παραμέτρου, τόσο μεγαλύτερη είναι η επίδρασή της στην έξοδο του μοντέλου. Για να θεωρηθεί μία ή περισσότερες παράμετροι ως μη σημαντικές, πρέπει ο δείκτης ευαισθησίας τους να μην ξεπερνάει μία τιμή όριο που έχει ορίσει ο πειραματιστής. Οι δύο συχνότερες τιμές που χρησιμοποιούνται ως όριο είναι το 0.05 και το 0.01 [50]. Αυτό σημαίνει ότι όποια παράμετρος έχει δείκτη ευαισθησίας

μικρότερο από 0.05 ή 0.01 ευθύνεται για λιγότερο από το 5% ή το 1% αντίστοιχα, της συνολικής διακύμανσης της εξόδου, άρα μπορεί να θεωρηθεί ως μη σημαντική [44].

Κεφάλαιο 4

ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ: ΔΙΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΤΙΤΑΝΙΟΥ

4.1 Διοξείδιο του Τιτανίου

Τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2) αποτελούν ένα αρκετά διαδεδομένο είδος νανοσωματιδίου στη βιομηχανία, καθώς βρίσκουν πληθώρα εφαρμογών σε φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα εξαιτίας των ιδιοτήτων τους. Η συνηθέστερη χρήση του διοξειδίου του τιτανίου είναι ως χρωστική ουσία η οποία αποδίδει λευκό χρώμα στα προϊόντα που το ενσωματώνουν. Η παραγωγή νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου ανέρχεται στο 70% της συνολικής παραγωγής χρωστικών ουσιών παγκοσμίως [53], ενώ η συνολική ετήσια παραγωγή διοξειδίου του τιτανίου ξεπερνάει τα 4 εκατομμύρια τόνους [54], νούμερα που υποδηλώνουν και την ευρεία χρήση του σε διάφορα προϊόντα. Χαρακτηριστικότερες περιπτώσεις προϊόντων που ενσωματώνουν νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου είναι τα χρώματα, η χαρτική ύλη, τα μελάνια, οι χρωστικές ουσίες σε τρόφιμα και οδοντόκρεμες με την ονομασία E 171, όπως είναι καταχωρημένη στη βάση δεδομένων πρόσθετων ουσιών για τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (European Food Safety Authority - EFSA) [53]. Ακόμη, νανοσωματίδια μεγέθους 10-50 nm χρησιμοποιούνται σε αντηλιακά προϊόντα αλλά και σε πλαστικά αντικείμενα με σκοπό χρήσης να εμποδίσουν την υπεριώδη ηλιακή ακτινοβολία [55].

Μία ακόμη εξαιρετικά σημαντική εφαρμογή των νανοσωματιδίων TiO_2 είναι η φωτοκατάλυση, η οποία αποτελεί μια αρκετά διαδεδομένη τεχνική στην περιβαλλοντική μηχανική. Η αξιοποίηση

νανοσωματιδίων TiO_2 στη φωτοκατάλυση είναι μία ευρέως εφαρμοσμένη μέθοδο ήδη από το 1977 [56], κάτι το οποίο οφείλεται στην ισχυρή οξειδωτική τους δράση, στο σχετικά χαμηλό τους κόστος και στην υψηλή χημική σταθερότητα που τα χαρακτηρίζει [57, 58].

Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι τα νανοσωματίδια TiO_2 χρησιμοποιούνται σε τόσο ευρεία κλίμακα σε προϊόντα που καταλήγουν στο μεγαλύτερο μέρος του καταναλωτικού κοινού παγκοσμίως, έχει εγείρει ερωτήματα γύρω από την καταλληλότητα του υλικού για χρήση σε καλλυντικά, φαρμακευτικά προϊόντα και τρόφιμα και υπό ποιες συνθήκες μπορούν να αποτελέσουν τοξικό παράγοντα για τον ανθρώπινο οργανισμό. Έρευνες έχουν δείξει ότι είναι πιθανό νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου να αποτελέσουν τοξικό παράγοντα για τους οργανισμούς ανάλογα με το μέγεθός τους, τον τρόπο με τον οποίο εισέρχονται στον οργανισμό και, φυσικά, την ποσότητα έκθεσης [59]. Ειδικότερα, έχουν παρατηρηθεί βλάβες στο DNA [60] αλλά και δημιουργία φλεγμονών στο αναπνευστικό σύστημα πειραματόζωων [61, 62], οι οποίες οφείλονται σε χορήγηση νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου. Ακόμα μία αξιοσημείωτη παρατήρηση σχετικά με την τοξικότητα των νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου είναι η ιδιότητά τους να συσσωρεύονται σε μεγάλο βαθμό στα όργανα των πειραματόζωων, όπως το ήπαρ και η σπλήνα, με μηχανισμούς που θα περιγραφούν παρακάτω, κάνοντας, έτσι, ακόμα πιο σημαντική την αναζήτηση των επιπτώσεων αυτής της συσσώρευσης [63, 65].

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η χρήση νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου ως πρόσθετο σε τρόφιμα έχει αναχθεί σε μείζον ζήτημα από τους αρμόδιους ευρωπαϊκούς φορείς, καθώς ήδη από την 1η Ιανουαρίου του 2020, η γαλλική κυβέρνηση απαγόρευσε την πώληση τροφίμων που περιέχουν το πρόσθετο E 171, ενώ ακολούθησε και ψήφιση της πρότασης της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, ώστε να τροποποιηθεί η ευρωπαϊκή νομοθεσία που αφορά τη χρήση διοξειδίου του τιτανίου ως πρόσθετη ουσία στα τρόφιμα [66, 67].

4.2 Πειραματικά Δεδομένα

Τα πειραματικά δεδομένα της παρούσας εργασίας προέρχονται από την έρευνα των Kreyling *et al.* [63]. Στη συγκεκριμένη έρευνα μελετήθηκε η κατανομή νανοσωματιδίων TiO_2 με μέση διάμετρο 70 nm, ύστερα από χορήγηση ενδοφλέβιας ένεσης σε αρουραίους. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος αρουραίου Wistar-Kyoto, ηλικίας 8-10 εβδομάδων και μάζας 263 g. Κατά τη διάρκεια της μελέτης λήφθηκαν μετρήσεις στις χρονικές στιγμές 1, 4, 24 ώρες και στις 7 και 28 ημέρες από

τη στιγμή της ενδοφλέβιας χορήγησης ύψους 18.15 μg . Επίσης, πρέπει να τονιστεί ότι οι μετρήσεις που θα παρουσιαστούν έχουν προκύψει ύστερα από αφαίμαξη των οργάνων. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της έρευνας ανά όργανο.

Πίνακας 4.1: Πειραματικά δεδομένα από την έρευνα των Kreyling *et al.* [63]. Οι τιμές που αναφέρονται είναι το ποσοστό % της δόσης που μετρήθηκε σε κάθε όργανο ή ιστό την αντίστοιχη χρονική στιγμή συνοδευόμενη από την τυπική απόκλιση της μέτρησης. Η ένδειξη DL (Detection Limit) σημαίνει ότι η ποσότητα ήταν κάτω του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου.

Όργανο	1h	4h	24h	7d	28d
Ήπαρ	95.5 \pm 0.42	94.7 \pm 0.51	94.48 \pm 0.23	92.44 \pm 0.45	88.92 \pm 0.17
Σπλήνα	2.34 \pm 0.26	2.57 \pm 0.18	2.26 \pm 0.07	2.75 \pm 0.20	2.48 \pm 0.27
Νεφροί	0.0523 \pm 0.0111	0.045 \pm 0.0107	0.032 \pm 0.007	0.112 \pm 0.021	0.172 \pm 0.011
Πνεύμονες	0.118 \pm 0.029	0.285 \pm 0.123	0.079 \pm 0.009	0.089 \pm 0.013	0.054 \pm 0.008
Καρδιά	0.008 \pm 0.005	0.007 \pm 0.003	0.002 \pm 0.002	0.004 \pm 0.0003	0.007 \pm 0.002
Εγκέφαλος	< DL	< DL	0.0005 \pm 0.0001	< DL	0.0011 \pm 0.0002
Μήτρα	0.016 \pm 0.001	0.011 \pm 0.002	0.011 \pm 0.002	0.015 \pm 0.004	0.006 \pm 0.0008
Αίμα	0.512 \pm 0.062	0.419 \pm 0.111	0.230 \pm 0.018	0.037 \pm 0.003	0.072 \pm 0.013
Σκελετός	0.68 \pm 0.16	0.88 \pm 0.32	0.92 \pm 0.16	0.49 \pm 0.06	0.96 \pm 0.15
Μαλακοί ιστοί	0.32 \pm 0.05	0.33 \pm 0.07	0.15 \pm 0.01	0.61 \pm 0.13	0.67 \pm 0.14

Ακόμη, μέσω της έρευνας αυτής έγιναν διαθέσιμες και οι μετρήσεις του διοξειδίου του τιτανίου που εντοπίστηκε στα ούρα και στο κόπρανα των αρουραίων, τα οποία αποτελούν τις βασικές διόδους απέκκρισης των νανοσωματιδίων. Παρόλα αυτά, τα δεδομένα δεν ήταν διαθέσιμα σε αναλυτική μορφή πίνακα όπως για τα υπόλοιπα όργανα, αλλά παρουσιάζονταν σε διαγράμματα. Για το λόγο αυτό αντλήθηκε η πληροφορία από τα διαγράμματα μέσω ψηφιοποίησης των διαγραμμάτων, με τη χρήση του λογισμικού Web Plot Digitizer [64]. Έτσι έγιναν διαθέσιμες οι αντίστοιχες μετρήσεις, χωρίς ωστόσο να μπορεί να αντληθεί πληροφορία για την τυπική απόκλιση της κάθε μέτρησης που απεικονίζονται στα δύο διαγράμματα.

Πίνακας 4.2: Ποσοστό της δόσης των νανοσωματιδίων TiO_2 που απεκκρίθηκε μέσω της χολής.

Χρόνος (d)	Ηπατική κάθαρση (% δόσης)
0.04	0.122
0.16	0.088
6.87	0.951
27.16	2.683

Πίνακας 4.3: Ποσοστό της δόσης των νανοσωματιδίων TiO_2 που εκκρίθηκε μέσω των ούρων

Χρόνος (d)	Μάζα στα ούρα (% δόσης).
1.41	0.341
2.37	0.562
3.29	0.737
5.14	0.900
7.00	1.051
8.27	1.160
14.78	1.253
17.99	1.301
22.00	1.358
25.65	1.407
25.94	1.456

4.3 Δομικό μοντέλο

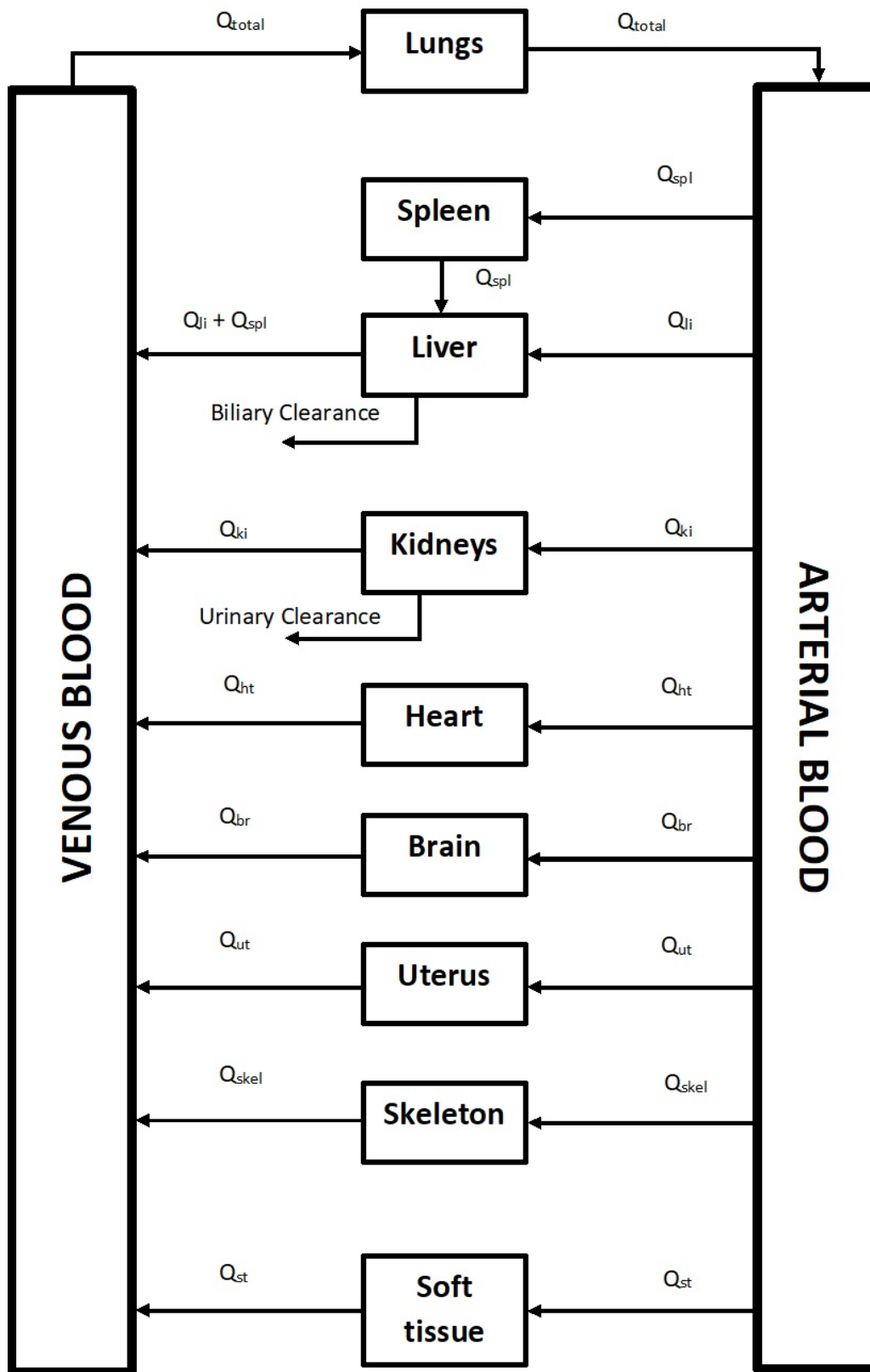
Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία είναι ένα PBPΚ μοντέλο, το οποίο δομήθηκε χρησιμοποιώντας τη δομή των διαφορικών εξισώσεων που παρουσιάζεται στους Li *et al.*[30], ώστε να περιγράψει τα πειραματικά δεδομένα που αναφέρθηκαν παραπάνω. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 2.2.4, η μεγαλύτερη ιδιαιτερότητα που φέρουν τα nano-PBPΚ μοντέλα σε σχέση με τα κλασικά είναι ότι πρέπει να προσομοιώνουν τους μηχανισμούς ενδοκύττωσης που πραγματοποιούνται στους διάφορους ιστούς στα νανοσωματίδια. Έτσι, η περιγραφή του μηχανισμού της ενδοκύττωσης στο παρόν μοντέλο προέκυψε έπειτα από μελέτη της διαθέσιμης βιβλιογραφίας και των διαθέσιμων μοντέλων αυτής της κατηγορίας και στοχεύει στην αποτελεσματική περιγραφή της ενδοκύττωσης, διατηρώντας χαμηλό τον αριθμό των παραμέτρων που θα χρειαστεί να προσδιορισθούν μέσω των διαθέσιμων πειραματικών δεδομένων [26, 27, 30, 31, 32, 33, 68]. Η τελική μορφή του μηχανισμού της ενδοκύττωσης που ακολουθήθηκε στην παρούσα εργασία αποτελεί συνδυασμό των εξισώσεων που παρουσιάζονται στους Li *et al.*[30] και Aborig *et al.*[33].

Το PBPΚ μοντέλο που αναπτύχθηκε αποτελείται από 12 διαμερίσματα. Ο αριθμός αυτός επιλέχθηκε λόγω των διαθέσιμων πειραματικών δεδομένων που αφορούν 12 όργανα και ιστούς. Αναλυτικότερα, τα διαμερίσματα αναπαριστούν τους πνεύμονες (lungs (lu)), τη σπλήνα (spleen (spl)), το ήπαρ (liver (li)), τους νεφρούς (kidneys (ki)), την καρδιά (heart (ht)), τον εγκέφαλο (brain (br)), τη μήτρα (uterus (ut)), το σκελετό (skeleton (skel)), το σύνολο του φλεβικού αίματος (venous blood (ven)), το σύνολο του αρτηριακού αίματος (arterial blood (art)) και τέλος τους μαλακούς ιστούς (soft tissue (st)), το οποίο περιέχει το σύνολο των υπόλοιπων ιστών και ορ-

γάνων του οργανισμού και χρησιμεύει στο να κλείνουν τα φυσιολογικά ισοζύγια ροής και μάζας. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα των Kreyling et al.[63], ως μαλακοί ιστοί θεωρούνται οι μύες, το λίπος, οι συνδετικοί ιστοί και τα πέλματα του αρουραίου. Στη συνέχεια της εργασίας πρόκειται να χρησιμοποιηθούν οι παραπάνω συντομογραφίες για λόγους διευκόλυνσης γραφής των διαφορικών εξισώσεων. Στο σχήμα 4.1 απεικονίζεται αναλυτικά το μοντέλο και η δομή των ισοζυγίων μάζας.

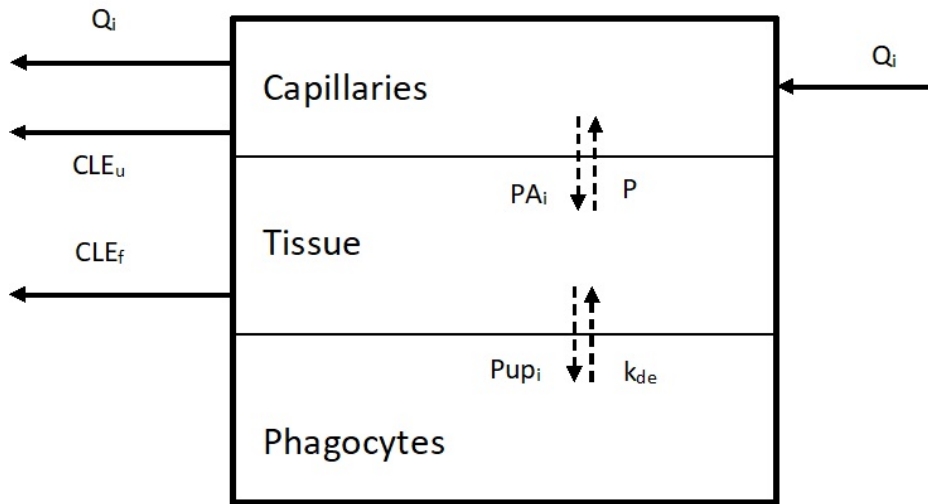
Όπως φαίνεται στο σχήμα 4.1, κάθε διαμέρισμα τροφοδοτείται με μία παροχή αίματος Q_i από το διαμέρισμα του αρτηριακού αίματος και στη συνέχεια η ίδια παροχή επιστρέφεται στο διαμέρισμα του φλεβικού αίματος. Εξάριση σε αυτό αποτελεί το διαμέρισμα των πνευμόνων και της σπλήνας. Το διαμέρισμα των πνευμόνων δέχεται ροή αίματος ίση με την συνολική ροή του οργανισμού από το διαμέρισμα του φλεβικού αίματος και την επιστρέφει στο διαμέρισμα του αρτηριακού. Η διαφορά φλεβικού και αρτηριακού αίματος είναι το οξυγόνο. Το αρτηριακό αίμα, που είναι πλούσιο σε οξυγόνο, πηγαίνει στα όργανα, αποξυγονώνεται και το φλεβικό αίμα που δεν έχει οξυγόνο, πάει στους πνεύμονες και εμπλουτίζεται εκ νέου με οξυγόνο. Αντίστοιχη περίπτωση αποτελεί και το διαμέρισμα της σπλήνας, καθώς η έξοδος του διαμερίσματος αντί να καταλήγει στο φλεβικό διαμέρισμα, καταλήγει σαν επιπλέον παροχή εισόδου στο διαμέρισμα του ήπατος. Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι στο παρόν μοντέλο προσομοιώνονται δύο τρόποι απέκκρισης νανοσωματιδίων. Η μία είναι η ηπατοχολική απέκκριση, η οποία συντελείται μέσα στο διαμέρισμα του ήπατος, και μέσω της απομάκρυνσης με τα ούρα, η οποία συντελείται στο διαμέρισμα των νεφρών.

Κάθε διαμέρισμα χωρίζεται σε τρία διαφορετικά υποδιαμερίσματα (sub-compartments), όπως απεικονίζονται στο σχήμα 4.2, προκειμένου να ενσωματωθούν μηχανισμοί οι οποίοι περιγράφουν τις διαδικασίες με τις οποίες τα νανοσωματίδια εισέρχονται στο όργανο, ένα μέρος τους απορροφάται και ένα άλλο απομακρύνεται. Στο σημείο αυτό να τονιστεί ότι δεν λαμβάνει χώρα μεταβολισμός των νανοσωματιδίων, σε αντίθεση με πολλές άλλες χημικές ουσίες. Το πρώτο υποδιαμέρισμα είναι αυτό των τριχοειδών αγγείων (Capillaries) και προσομοιώνει το χώρο του οργάνου από τον οποίο εισέρχεται και εξέρχεται το αίμα. Παράλληλα γίνεται μεταφορά νανοσωματιδίων από το χώρο των Capillaries στο δεύτερο υποδιαμέρισμα, που είναι ο ιστός του οργάνου (Tissue). Ο ρυθμός μεταφοράς από τα Capillaries στο Tissue συμβολίζεται με PA_i (ml/h), όπου i το αντίστοιχο όργανο και ονομάζεται ρυθμός διαπερατότητας (Capillaries:Tissue Permeability Rate). Ο συντελεστής κατανομής της ουσίας ανάμεσα στο Tissue και στα Capillaries ονομάζεται συντελεστής διαχωρισμού (Partition Coefficient), συμβολίζεται με P (αδιάστατο). Στη συνέχεια, παρατηρείται ότι



Σχήμα 4.1: Σχηματική απεικόνιση του PBPK μοντέλου για νανοσωματίδια TiO_2

το τρίτο υποδιαμέρισμα συμβολίζει το σύνολο των φαγοκυττάρων του εκάστοτε οργάνου (Phago-



Σχήμα 4.2: Σχηματική απεικόνιση του εσωτερικού κάθε διαμερίσματος του μοντέλου.

cytes), τα οποία ευθύνονται για την ενδοκύττωση των νανοσωματιδίων μέσω του υποδιαμερίσματος του ιστού. Γενικότερα, η διαδικασία της ενδοκύττωσης είναι υψηλής σημασίας, διότι ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τη συσσώρευση των νανοσωματιδίων σε ορισμένα όργανα, συνεπώς ως μηχανισμός απαιτεί να προσεγγιστεί με υψηλή ακρίβεια. Όπως αναφέρεται και στο σχήμα 4.2, ο ρυθμός με τον οποίο τα μακροφάγα προσλαμβάνουν νανοσωματίδια εκφράζεται ως P_{up_i} (1/h), ενώ ο ρυθμός εκρόφησης (desorption) νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα στον ιστό συμβολίζεται με k_{de} (1/h) και είναι ίδιος για όλα τα διαμερίσματα. Ακόμα, πρέπει να σημειωθεί ότι η έξοδος από το υποδιαμέρισμα Tissue με συντελεστή CLE_f (1/h) εμφανίζεται αποκλειστικά στο ήπαρ, από το οποίο συντελείται η απέκκριση των νανοσωματιδίων, ενώ ο όρος CLE_u (1/h) εμφανίζεται μόνο στο διαμέρισμα των νεφρών και εκφράζει το ρυθμό απομάχρυνσης νανοσωματιδίων μέσω των ούρων. Τέλος, διαφοροποίηση εμφανίζουν και τα διαμερίσματα του αρτηριακού και του φλεβικού αίματος, καθώς δεν συμπεριλαμβάνουν το διαμέρισμα των ιστών, αλλά μόνο των φαγοκυττάρων, συνεπώς αποτελούνται από δύο υποδιαμερίσματα.

Το ισοζύγιο μάζας για το μοντέλο, όπως αυτό απεικονίζεται στα σχήματα 4.1 και 4.2, περιγράφεται συνολικά από 33 διαφορικές εξισώσεις. Όλα τα διαμερίσματα περιγράφονται από ένα σετ 3 διαφορικών εξισώσεων, όπου η καθεμία από αυτές περιγράφει τη μεταβολή μάζας των νανοσωματιδίων σε καθένα από τα υποδιαμερίσματα. Εξαιρέση αποτελούν τα διαμερίσματα του αρτηριακού και του φλεβικού αίματος, όπου το καθένα περιγράφεται από 2 διαφορικές εξισώσεις, καθώς και η μάζα των νανοσωματιδίων που απεκκρίνεται μέσω των κοπράνων και των ούρων περιγράφεται από μία διαφορική εξίσωση στην κάθε περίπτωση.

Επομένως, για τα διαμερίσματα $i = \{spl, ht, br, ut, skel, st\}$ οι διαφορικές εξισώσεις για καθένα από τα υποδιαμερίσματά τους διαμορφώνονται ως εξής:

$$\begin{aligned}
 \text{Capillaries: } \quad & \frac{dM_{cap_i}}{dt} = Q_i C_{art} - Q_i C_{cap_i} - PA_i C_{cap_i} + \frac{PA_i C_{tis_i}}{P}, \\
 \text{Tissue: } \quad & \frac{dM_{tis_i}}{dt} = PA_i C_{cap_i} - \frac{PA_i C_{tis_i}}{P} - P_{up_i} V_{tis_i} C_{tis_i} + k_{de} M_{m_i}, \\
 \text{Phagocytes: } \quad & \frac{dM_{m_i}}{dt} = P_{up_i} V_{tis_i} C_{tis_i} - k_{de} M_{m_i}
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

όπου, M_{cap_i} , M_{tis_i} , M_{m_i} ($\mu\text{g TiO}_2$) η μάζα των νανοσωματιδίων που περιέχεται στα υποδιαμερίσματα Capillaries, Tissue και Phagocytes του οργάνου αντίστοιχα, C_{cap_i} ($\mu\text{g TiO}_2/\text{ml}$ αίματος στα τριχοειδή), C_{tis_i} ($\mu\text{g TiO}_2/\text{ml}$ ιστού), οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις, C_{art} ($\mu\text{g TiO}_2/\text{ml}$ αρτηριακού αίματος) η συγκέντρωση στο αρτηριακό αίμα, C_{ven} ($\mu\text{g TiO}_2/\text{ml}$ φλεβικού αίματος) η συγκέντρωση στο φλεβικό αίμα και V_{tis_i} (ml) ο όγκος του οργάνου i . Οι εξισώσεις για το διαμέρισμα των πνευμόνων (lu) φέρουν την ιδιομορφία ότι δέχονται ροή αίματος από το φλεβικό διαμέρισμα ίση με τη συνολική ροή αίματος Q_{total} του οργανισμού, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, επομένως οι διαφορικές εξισώσεις είναι οι εξής:

$$\begin{aligned}
 \text{Capillaries: } \quad & \frac{dM_{cap_{lu}}}{dt} = Q_{total} C_{ven} - Q_{total} C_{cap_{lu}} - PA_{lu} C_{cap_{lu}} + \frac{PA_{lu} C_{tis_{lu}}}{P}, \\
 \text{Tissue: } \quad & \frac{dM_{tis_{lu}}}{dt} = PA_{lu} C_{cap_{lu}} - \frac{PA_{lu} C_{tis_{lu}}}{P} - P_{up_{lu}} V_{tis_{lu}} C_{tis_{lu}} + k_{de} M_{m_{lu}}, \\
 \text{Phagocytes: } \quad & \frac{dM_{m_{lu}}}{dt} = P_{up_{lu}} V_{tis_{lu}} C_{tis_{lu}} - k_{de} M_{m_{lu}}.
 \end{aligned} \tag{4.2}$$

Για το διαμέρισμα του ήπατος (li) παρουσιάζεται και μία επιπλέον διαφορική για την περιγραφή της μεταβολής της μάζας των νανοσωματιδίων στις απεκκρίσεις. Το ήπαρ έχει μία επιπλέον ροή εισόδου $Q_{spl} C_{cap_{spl}}$ η οποία αντιπροσωπεύει τη ροή εξόδου από το διαμέρισμα της σπλήνας. Συνεπώς, οι διαφορικές εξισώσεις για το ήπαρ έχουν τη μορφή:

$$\begin{aligned}
\text{Capillaries: } \frac{dM_{capli}}{dt} &= Q_{li}C_{art} + Q_{spl}C_{cap_{spl}} - (Q_{li} + Q_{spl})C_{capli} - \\
&PA_{li}C_{capli} + \frac{PA_{li}C_{tisli}}{P}, \\
\text{Tissue: } \frac{dM_{tisli}}{dt} &= PA_{li}C_{capli} - \frac{PA_{li}C_{tisli}}{P} - P_{upli}V_{tisli}C_{tisli} + \\
&k_{de}M_{mli} - CLE_fM_{tisli}, \\
\text{Phagocytes: } \frac{dM_{mli}}{dt} &= P_{upli}V_{tisli}C_{tisli} - k_{de}M_{mli}, \\
\text{Feces: } \frac{dM_{feces}}{dt} &= CLE_fM_{tisli}.
\end{aligned} \tag{4.3}$$

Ομοίως, με το διαμέρισμα του ήπατος, παρουσιάζεται μία επιπλέον διαφορική εξίσωση για τους νεφρούς (ki), η οποία περιγράφει την απομάκρυνση ναοσωματιδίων μέσω των ούρων, δηλαδή:

$$\begin{aligned}
\text{Capillaries: } \frac{dM_{capki}}{dt} &= Q_{ki}C_{art} - Q_{ki}C_{capki} - PA_{ki}C_{capki} + \frac{PA_{ki}C_{tiski}}{P} - \\
&CLE_uM_{capki}, \\
\text{Tissue: } \frac{dM_{tiski}}{dt} &= PA_{ki}C_{capki} - \frac{PA_{ki}C_{tiski}}{P} - P_{upki}V_{tiski}C_{tiski} + k_{de}M_{mki}, \\
\text{Phagocytes: } \frac{dM_{mki}}{dt} &= P_{upki}V_{tiski}C_{tiski} - k_{de}M_{mki}, \\
\text{Urine: } \frac{dM_{urine}}{dt} &= CLE_uM_{capki}.
\end{aligned} \tag{4.4}$$

Τέλος, οι διαφορικές εξισώσεις για τα διαμερίσματα του αρτηριακού (art) και φλεβικού (ven) αίματος είναι οι εξής:

$$\begin{aligned}
\text{Arterial Blood: } \frac{dM_{art}}{dt} &= Q_{total}C_{cap_{lu}} - Q_{li}C_{art} - Q_{ki}C_{art} - \sum_i^{N_{organs}} Q_iC_{art} - \\
&P_{up_{art}}V_{art}C_{art} + k_{de}M_{m_{art}}, \\
\text{Arterial Phagocytes: } \frac{dM_{m_{art}}}{dt} &= P_{up_{art}}V_{art}C_{art} - k_{de}M_{m_{art}}, \\
\text{Venous Blood: } \frac{dM_{ven}}{dt} &= -Q_{total}C_{ven} + (Q_{li} + Q_{spl})C_{cap_{li}} + Q_{ki}C_{cap_{ki}} + \\
&\sum_{i, i \neq spl}^{N_{organs}} Q_iC_{cap_i} - P_{up_{ven}}V_{ven}C_{ven} + k_{de}M_{m_{ven}}, \\
\text{Venous Phagocytes: } \frac{dM_{m_{ven}}}{dt} &= P_{up_{ven}}V_{ven}C_{ven} - k_{de}M_{m_{ven}}.
\end{aligned} \tag{4.5}$$

Σε όλα τα διαμερίσματα εκτός του αρτηριακού και του φλεβικού αίματος παρατηρείται ο ρυθμός διαπερατότητας (Permeability) PA_i , ο οποίος εκφράζει το ρυθμό με τον οποίο εισέρχονται τα νανοσωματίδια από τα τριχοειδή αγγεία στον ιστό των οργάνων ανά μονάδα χρόνου. Ο συγκεκριμένος ρυθμός είναι ένας όρος ανάλογος της ροής αίματος κάθε οργάνου, δηλαδή ισχύει $PA_i = x_iQ_i$, όπου x_i είναι αδιάστατο και ονομάζεται συντελεστής διαπερατότητας (Permeability Coefficient). Επιπλέον, σε όλα τα διαμερίσματα συναντάται ο όρος P_{up_i} , ο οποίος εκφράζει το ρυθμό με τον οποίο απορροφούν τα φαγοκύτταρα τη μάζα νανοσωματιδίων από το υποδιαμέρισμα του ιστού και έχει μονάδες $1/h$. Ο συγκεκριμένος όρος μεταβάλλεται στη διάρκεια του χρόνου, καθώς εξαρτάται άμεσα από την ποσότητα νανοσωματιδίων που έχουν προσληφθεί από τα φαγοκύτταρα και το βαθμό κορεσμού τους. Αναλυτικά, ο ρυθμός πρόσληψης νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα υπολογίζεται ως εξής:

$$P_{up_i} = P_{up_{max}} \left(1 - \frac{M_{m_i}}{W_{m_i} uptake_i}\right), \tag{4.6}$$

όπου $P_{up_{max}}$ ($1/h$) ο μέγιστος ρυθμός φαγοκύττωσης, W_{m_i} (g) η συνολική μάζα φαγοκυττάρων που περιέχεται στο διαμέρισμα i και $uptake_i$ η χωρητικότητα σε νανοσωματίδια ανά g φαγοκυττάρων ($\mu g TiO_2/g$ φαγοκυττάρων). Μελετώντας τη σχέση (4.6) προκύπτει ότι ο ρυθμός της φαγοκύττωσης ελαττώνεται όσο αυξάνεται η μάζα των νανοσωματιδίων στα φαγοκύτταρα και, μάλιστα, μηδενίζεται όταν επέλθει κορεσμός.

Στη συνέχεια, ακολουθεί παρουσίαση των τιμών των φυσιολογικών παραμέτρων οι οποίες χρησιμοποιούνται στο παρόν μοντέλο. Για κάθε διαμέρισμα έχουν προσδιορισθεί η ροή αίματος (Q) την οποία λαμβάνει, η μάζα (W) και ο όγκος (V) του αντίστοιχου ιστού ή οργάνου, ο όγκος του

αίματος στα τριχοειδή αγγεία (V_{cap}) και η συνολική μάζα φαγοκυττάρων που περιέχεται σε κάθε διαμέρισμα (W_m). Οι τιμές που παρουσιάζονται στους πίνακες 4.4 και 4.5 είναι υπολογισμένες με βάση το μέσο όρο μάζας των αρουραίων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την διεξαγωγή της μελέτης των Kreyling *et al.*[63], δηλαδή $BW = 263g$ (BW: Body Weight). Οι τιμές των φυσιολογικών παραμέτρων κάθε διαμερίσματος υπολογίστηκαν βάση των ποσοστών που παρουσιάζονται στον πίνακα 4.7. Η συνολική ροή αίματος, Q_{total} , του οργανισμού υπολογίζεται με βάση τη συνολική μάζα μέσω της σχέσης [69]:

$$Q_{total}(ml/h) = (1.54 \cdot BW^{0.75}) \cdot 60, \quad (4.7)$$

όπου BW δίνεται σε g . Επίσης, ο συνολικός όγκος αίματος (Blood Volume (BV)) του οργανισμού υπολογίζεται κι αυτός με βάση τη μάζα του οργανισμού, μέσω της σχέσης [70]:

$$BV(ml) = 0.06 \cdot BW + 0.77, \quad (4.8)$$

ενώ ο όγκος του φλεβικού (V_{ven}) και του αρτηριακού (V_{art}) αίματος είναι το 64% και το 15% του συνολικού όγκου αίματος αντίστοιχα [69].

Πίνακας 4.4: Τιμές φυσιολογικών παραμέτρων για αρουραίους Sprague Dawley μάζας 263 g [69].

Διαμέρισμα	$Q(ml/h)$	$W(g)$	$V_{cap}(ml)$	$V_{tis}(ml)$	$W_m(g)$
	Ροή αίματος	Μάζα οργάνου	Όγκος τριχοειδών	Όγκος ιστών	Μάζα φαγοκυττάρων
Μαλακοί ιστοί	2840.42	220.92	9.40	235.02	4.42
Καρδιά	295.69	0.87	0.23	0.87	0.017
Νεφροί	850.86	1.92	0.31	1.92	0.038
Εγκέφαλος	120.69	1.50	0.045	1.50	0.060
Σπλήνα	73.62	0.53	0.12	0.53	0.16
Πνεύμονες	6034.47	1.32	0.47	1.32	0.053
Ήπαρ	1050.00	9.63	2.021	9.63	0.96
Μήτρα	66.98	0.029	0.0022	0.029	0.00058
Σκελετός	736.20	26.30	0.55	13.70	1.052

Πίνακας 4.5: Τιμές φυσιολογικών παραμέτρων για το φλεβικό και αρτηριακό διαμέρισμα [69],[33].

	$V(ml)$	$W_m(g)$
	Όγκος	Μάζα μακροφάγων
Φλεβικό	10.59	0.106
Αρτηριακό	2.48	0.025

Στον πίνακα 4.4, οι όγκοι των ιστών κάθε διαμερίσματος έχουν υπολογιστεί με βάση τις αντίστοιχες μάζες διαιρώντας με την κατάλληλη πυκνότητα του πίνακα 4.6. Σε όλα τα διαμερίσματα, εκτός του σκελετού και των μαλακών ιστών, έχει θεωρηθεί ότι η πυκνότητα των οργάνων είναι ίση με 1 g/ml [69]. Για το διαμέρισμα των οστών (skeleton) η πυκνότητα είναι σημαντικά υψηλότερη, ενώ για το διαμέρισμα των μαλακών ιστών θεωρήθηκε ότι η πυκνότητά τους είναι ίση με την πυκνότητα του λίπους του σώματος των αρουραίων, καθώς το διαμέρισμα soft tissue αποτελείται κατά ένα μεγάλο ποσοστό από το λίπος του οργανισμού.

Πίνακας 4.6: Τιμές πυκνότητας για τα κάθε διαμέρισμα.

Πυκνότητα	Τιμή (g/ml)
d_{skeleton}	1,92 [69]
$d_{\text{softtissue}}$	0.940 [71]
d_{rest}	1 [69]

Τέλος, το παρόν PBPK μοντέλο ολοκληρώνουν οι παράμετροι οι οποίες εξαρτώνται άμεσα από τη χημική ουσία που μελετάται (Substance-specific parameters). Αυτές οι παράμετροι συγκεκρινώνουν το ενδιαφέρον της παρούσας μελέτης, καθώς πρόκειται για παραμέτρους οι οποίες είναι άμεσα εξαρτώμενες από τα νανοσωματίδια που μελετώνται, όπως για παράδειγμα τη διάμετρο των νανοσωματιδίων και είναι εκείνες οι οποίες πρόκειται να προσδιορισθούν. Συνοψίζοντας λοιπόν, οι παράμετροι οι οποίες τίθενται προς μελέτη και προσδιορισμό είναι ο συντελεστής διαπερατότητας μεταξύ τριχοειδών αγγείων και ιστού, x_i (αδιάστατο), ο συντελεστής διαχωρισμού, P_i (αδιάστατο), η χωρητικότητα σε νανοσωματίδια ανά g φαγοκυττάρων ($\mu\text{g TiO}_2/\text{g}$ φαγοκυττάρων), uptake_i (αδιάστατο), για κάθε διαμέρισμα i , ο μέγιστος ρυθμός πρόσληψης νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα, $P_{\text{upmax}}(1/h)$, που θεωρήθηκε ότι είναι κοινός για όλα τα διαμερίσματα, όπως και ο ρυθμός εκρόφησης νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα στους ιστούς, $k_{\text{de}}(1/h)$, και τέλος οι συντελεστές των ρυθμών κάθαρσης από νανοσωματίδια μέσω της ηπατοχολικής απέκκρισης και των ούρων, $CLE_f(1/h)$ και $CLE_u(1/h)$ αντίστοιχα. Όλες οι παραπάνω παράμετροι αντιμετωπίστηκαν ως στοχαστικές, δηλαδή θεωρήθηκε ότι δεν έχουν μία συγκεκριμένη τιμή αλλά ακολουθούν μία κατανομή. Η κατανομή που επιλέχθηκε για τη περιγραφή των συγκεκριμένων παραμέτρων είναι η κανονική λογαριθμική κατανομή (Log-normal distribution), η οποία αποτελεί μία κλασική επιλογή κατανομής για παραμέτρους οι οποίες λαμβάνουν τιμές στο διάστημα $[0, +\infty)$. Στον πίνακα 4.8 παρουσιάζεται συνοπτικά το σύνολο των παραμέτρων του μοντέλου.

Πίνακας 4.7: Συντελεστές διαμόρφωσης φυσιολογικών παραμέτρων.

Διαμέρισμα	Ποσοστό μάζας (% BW)	Ποσοστό ροής (% Q_{total})	Ποσοστό τριχοειδών (V_{tis})	Ποσοστό φαγοκυττάρων (% $V_{tis}^{(6)}$)
Μαλακοί ιστοί	84	47.7	0.04	2
Καρδιά	0.33	4.9	0.26	2
Νεφροί	0.73	14.1	0.16	2
Εγκέφαλος	0.57	2	0.03	4
Σπλήνα	0.2	1.22 ⁽³⁾	0.22	30
Πνεύμονες	0.5	100	0.36	4
Ήπαρ	3.66	17.4	0.21	10
Μήτρα	0.011 ⁽¹⁾	1.11 ⁽⁴⁾	0.077 ⁽⁵⁾	2
Σκελετός	10 ⁽²⁾	12.2	0.04	4

Όλες οι τιμές του πίνακα λήφθηκαν από τη μελέτη των Brown *et al.*[69], εκτός από τις ακόλουθες εξαιρέσεις. Όλοι οι συντελεστές υπολογισμού μάζας, όγκου ιστών και όγκου τριχοειδών αγγείων λήφθηκαν.

(1) Η τιμή του συντελεστή της μάζας της μήτρας λήφθηκε από τη βάση δεδομένων του το λογισμικού PK-Sim [73].

(2) Η τιμή λήφθηκε από τη μελέτη των (Kreyling *et al.*, 2017)[63].

(3) Η τιμή του συντελεστή ροής για την σπλήνα λήφθηκε από (Malik, Kaplan and Saba, 1976)[72].

(4),(5),(6) Η τιμή για το συντελεστή ροής αίματος, του συντελεστή του όγκου για τα τριχοειδή αγγεία στη μήτρα καθώς και όλα τα ποσοστά για τον υπολογισμό της μάζας των φαγοκυττάρων λήφθηκαν από τη μελέτη των (Aborig *et al.*, 2019)[33].

4.4 Ανάλυση ευαισθησίας

Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 3.6, η ανάλυση ευαισθησίας αποτελεί ένα σημαντικό στάδιο στην ανάπτυξη φαρμακοκινητικών μοντέλων. Στόχος της ανάλυσης ευαισθησίας είναι ο προσδιορισμός εκείνων των παραμέτρων που έχουν μεγαλύτερη επίδραση στην έξοδο των μοντέλων και η λήψη απόφασης για το ποιες παράμετροι θα προσδιοριστούν και ποιες θα λάβουν σταθερή τιμή. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε ολική ανάλυση ευαισθησίας με τις μεθόδους Morris και Sobol. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί ότι είναι σημαντικό οι τιμές των παραμέτρων προς ανάλυση να είναι αντιπροσωπευτικές της πραγματικότητας, δηλαδή να οδηγούν σε σχετικά καλή αναπαράσταση των πειραματικών δεδομένων. Για παράδειγμα, έστω ότι δίνουμε στην παράμετρο $uptake_{li}$ μία τιμή η οποία είναι αρκετές τάξεις μεγέθους μικρότερη από την πραγματική της τιμή. Αυτό θα έχει σαν άμεση συνέπεια να μειώσει κατά πολύ (πολλές τάξεις μεγέθους) την ποσότητα των νανοσωματιδίων που θα απορροφηθούν από τα φαγοκύτταρα του ήπατος, με αποτέλεσμα να μειωθεί πολύ η συνολική ποσότητα νανοσωματιδίων που προβλέπει το μοντέλο ότι θα έχει το ήπαρ, σε σχέση με αυτό που δείχνουν τα δεδομένα. Συνεπώς, μία τιμή της παραμέτρου $uptake_{li}$ πολύ μικρότερη από την πραγματική της, σημαίνει ότι έχει σχεδόν μηδαμινή συνεισφορά στη διαμόρφωση της εξόδου

Πίνακας 4.8: Substance-specific παράμετροι του μοντέλου. Ο δείκτης i αναφέρεται στα διαμερίσματα του μοντέλου.

Παράμετρος	Περιγραφή
x_i	Συντελεστής Διαπερατότητας
P_i	Συντελεστής Διαχωρισμού
$uptake_i$	Χωρητικότητα φαγοκυττάρων σε νανοσωματίδια
P_{upmax}	Μέγιστος ρυθμός απορρόφησης από φαγοκύτταρα
k_{de}	Ρυθμός εκρόφησης από φαγοκύτταρα
CLE_f	Συντελεστής ηπατοχολικής απέκκρισης
CLE_u	Συντελεστής νεφρικής απέκκρισης

του μοντέλου, άρα κινδυνεύει να θεωρηθεί ασήμαντη και να τεθεί σε μία σταθερή τιμή κατά τη διάρκεια βελτιστοποίησης των υπόλοιπων παραμέτρων. Για αυτό το λόγο, βρέθηκε ένα αρχικό διάλυμα Substance-specific παραμέτρων οι οποίες έδιναν προφίλ μάζας-χρόνου πολύ κοντά στα πειραματικά μέσω δοκιμής και σφάλματος και οπτικής εποπτείας με τα σχετικά διαγράμματα και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν αυτά σαν μέσες τιμές lognormal κατανομών με τυπική απόκλιση που καθορίστηκε από το coefficient of variation. Η επιλογή του CV έγινε με τη λογική να δοθεί ένα εύρος στις κατανομές των Substance-specific parameter μέσα από το οποίο είναι πιθανό να λάβουν τιμές. Έτσι, έχοντας βρει τιμές οι οποίες είναι κατάλληλες ως μέσες τιμές των lognormal κατανομών των παραμέτρων για να προσδιορίσουν τα πειραματικά δεδομένα, ορίστηκε ότι χαρακτηρίζονται από ένα συντελεστή διακύμανσης $CV = 50\%$. Με τον τρόπο αυτό, οι παραγόμενες τιμές για τις παραμέτρους που αναλύονται θα βρίσκονται στην ευρύτερη περιοχή των τιμών που ορίστηκαν ως κέντρα των κατανομών.

Παρόλα αυτά, οι δύο μέθοδοι ολικής ανάλυσης εφαρμόστηκαν και στην περίπτωση όπου οι εκ των προτέρων κατανομές των παραμέτρων δεν περιέχουν καμία πληροφορία, δηλαδή χωρίς να έχει προηγηθεί ανάλυση για το εύρος τιμών κάθε παραμέτρου βάση των πειραματικών δεδομένων. Συγκεκριμένα ορίστηκε ότι όλες οι παράμετροι του μοντέλου ακολουθούν ομοιόμορφες κατανομές, τέτοιες ώστε $\log_{10}\theta \sim uniform(-4, 1.7)$, δηλαδή $\theta \sim uniform(10^{-4}, 50)$, ένα πολύ μεγάλο εύρος τιμών, το οποίο είναι βασισμένο στο εύρος τιμών που λαμβάνουν οι τιμές των συγκεκριμένων παραμέτρων. Η επιλογή της ομοιόμορφης κατανομής αποτελεί τυπική επιλογή κατανομής χωρίς πληροφορία, καθώς οποιαδήποτε τιμή ανάμεσα στα άκρα της είναι το ίδιο πιθανό να δοθεί στις παραμέτρους. Σκοπός αυτής της ανάλυσης είναι τόσο η μελέτη των αποτελεσμάτων δεδομένης της πλήρους απουσίας εκ των προτέρων γνώσης, όσο και η σύγκριση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης με την ανάλυση που βασίστηκε σε εκ των προτέρων κατανομές που περιείχαν πληροφορία μέσω

των δεδομένων.

Στην παρούσα εργασία, ως αρχική μέθοδος για ανάλυση ευαισθησίας, επιλέχθηκε η μέθοδος Morris. Η επιλογή αυτής της μεθόδου βασίζεται στα κύρια πλεονεκτήματά της, που είναι η απλότητα και η ταχύτητα της σε σχέση με άλλες μεθόδους. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση ευαισθησίας είναι οι παράμετροι που αναγράφονται στον πίνακα 4.8, θεωρώντας ότι έχουν ένα συντελεστή διακύμανσης (Coefficient of Variation) $CV = 50\%$, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Για την εφαρμογή της μεθόδου Morris χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση `morris()`, ενώ για την εφαρμογή της μεθόδου Sobol χρησιμοποιήθηκε η συνάρτηση `sobol2002()` της βιβλιοθήκης “sensitivity” v.1.22.2 [74] στη γλώσσα R. Η συγκεκριμένη συνάρτηση εφαρμόζει τη μέθοδο Morris, όπως αυτή περιγράφηκε στην ενότητα 3.6.2.1. Σε κάθε επανάληψη λαμβάνει μία τιμή από ένα διάστημα που έχει ορίσει ο χρήστης. Στην παρούσα ανάλυση, η δειγματοληψία των παραμέτρων γινόταν από $uniform(0, 1)$ και στη συνέχεια, με τη μέθοδο του αντίστροφου μετασχηματισμού η τιμή μετασχηματιζόταν στην τιμή της εκάστοτε μεταβλητής (informative lognormal στην πρώτη περίπτωση και uninformative uniform στη δεύτερη). Για τον αντίστροφο μετασχηματισμό της δειγματοληψίας σε ομοιόμορφη κατανομή, έγινε χρήση της αντίστροφης της συνάρτησης CDF (Cumulative distribution function) των ομοιόμορφων κατανομών, δηλαδή αν $u \sim uniform(a, b)$ η κατανομή στην οποία πρέπει να μετασχηματιστεί η δειγματοληψία, τότε η τιμή της μετασχηματισμένης δειγματοληψίας ισούται με:

$$Y = a + X(b - a), \quad (4.9)$$

ενώ για κανονικές λογαριθμικές κατανομές, η τιμή της μετασχηματισμένης δειγματοληψίας από τη uniform στη lognormal ισούται με επίσης με την την τιμή της αντίστροφης CDF της lognormal κατανομής, δηλαδή:

$$Y = exp(\mu + \sqrt{2}\sigma erf^{-1}(2X - 1)), \quad (4.10)$$

όπου X η τιμή της δειγματοληψίας στην ομοιόμορφη κατανομή και erf^{-1} η αντίστροφη συνάρτηση της Error function. Επιπρόσθετα, είναι σημαντικό να μην ταυτιστούν οι παράμετροι μ και σ της *LogNormal* κατανομής με τις τιμές του πίνακα 4.8. Επομένως, αν η μέση τιμή των παραμέτρων αυτών ονομαστεί μ_X και σ_X η τυπική απόκλιση τους, τότε τα μ και σ της *LogNormal* κατανομής για κάθε παράμετρο υπολογίζονται με τον εξής μετασχηματισμό:

$$\begin{aligned}\mu &= \ln\left(\frac{\mu_X^2}{\sqrt{\mu_X^2 + \sigma_X^2}}\right) \\ \sigma &= \sqrt{\ln\left(1 + \frac{\sigma_X^2}{\mu_X^2}\right)}.\end{aligned}\tag{4.11}$$

Εφόσον πραγματοποιηθούν οι παραπάνω μετασχηματισμοί, στη συνέχεια επιλύονται οι διαφορικές εξισώσεις του μοντέλου κάθε φορά για το νέο παραμετρικό διάνυσμα και υπολογίζονται οι τιμές των Elementary Effects, όπως περιγράφηκε στην ενότητα 3.6.2.1.

Με τη συνάρτηση `morris()` δίνεται η δυνατότητα υπολογισμού των συντελεστών ευαισθησίας όλων των παραμέτρων για κάθε διαμέρισμα. Δηλαδή, η συνολική μάζα νανοσωματιδίων που υπολογίζεται για κάθε διαμέρισμα (από το άθροισμα της μάζας που συγκεντρώνεται στα υποδιαμερίσματα του ιστού και των φαγοκυττάρων, εφόσον τα δεδομένα αναφέρονται σε ιστούς μετά την αφαιμάξη) αποτελεί ξεχωριστή έξοδο του μοντέλου, συνεπώς το μοντέλο αποτελείται από συνολικά 12 εξόδους (όλα τα διαμερίσματα μαζί με την ποσότητα των μακροφάγων που αποβάλλονται μέσω των κοπράνων και των ούρων). Για κάθε δειγματοληψία που γίνεται, δηλαδή για κάθε νέο παραμετρικό σετ για το οποίο επιλύονται οι διαφορικές εξισώσεις, προκύπτει ένας πίνακας διαστάσεων $[N_{times} \times N_{outputs}]$, όπου N_{times} το σύνολο των χρονικών στιγμών ολοκλήρωσης και $N_{outputs}$ τα 12 διαμερίσματα. Επομένως, έχοντας ως στόχο τον υπολογισμό ενός ζεύγους δεικτών ευαισθησίας (μ^*, σ^*) για κάθε παράμετρο, που θα αφορά ολόκληρο το χρονικό διάστημα ολοκλήρωσης και όλα τα διαμερίσματα (δηλαδή όλες της εξόδους), απαιτείται σε πρώτο στάδιο να απαλειφθεί η διάσταση του χρόνου, δηλαδή ο πίνακας εξόδου της λύσης των διαφορικών εξισώσεων να έχει πλέον διαστάσεις $[1 \times N_{outputs}]$. Αυτό επιτυγχάνεται με τον υπολογισμό της επιφάνειας κάτω της καμπύλης μάζας-χρόνου κάθε εξόδου, ή αλλιώς AUC (Area Under the Curve). Έτσι, για κάθε παραμετρικό σετ που προκύπτει από τις δειγματοληψίες, θα προκύπτει ως αποτέλεσμα των διαφορικών ένα διάνυσμα τιμών οι οποίες θα αντιστοιχούν στις AUC τιμές κάθε διαμερίσματος. Άρα, από την εφαρμογή της μεθόδου Morris θα ανακύπτουν $N_{outputs}$ ζεύγη (μ^*, σ^*) για κάθε παράμετρο (ένα ζεύγος για κάθε έξοδο του μοντέλου). Συγκεκριμένα, διαμορφώνονται δύο νέοι πίνακες διαστάσεων $[N_{params} \times N_{outputs}]$, ένας που θα ενσωματώνει τις τιμές μ^* και ο δεύτερος θα ενσωματώνει τα σ^* των παραμέτρων.

Προκειμένου κάθε παράμετρος να χαρακτηρίζεται από ένα δείκτη ευαισθησίας για κάθε διαμέρισμα

και όχι δύο (εφόσον δεν έχει κάποιο ιδιαίτερη σημασία στην παρούσα μελέτη αν κάποια παράμετρος επηρεάζει άμεσα ή μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες παραμέτρους την έξοδο), υπολογίζεται ένας συνολικός δείκτης ευαισθησίας για κάθε παράμετρο, ο οποίος συνοψίζει την πληροφορία που περιέχεται στα μ^* και σ^* , συμβολίζεται με GI (Global Index) και υπολογίζεται ως εξής:

$$GI_i = \sqrt{\mu_i^{*2} + \sigma_i^{*2}}. \quad (4.12)$$

Δηλαδή, ο δείκτης GI είναι ίσος με το γεωμετρικό μέσο των μ^* και σ^* . Έτσι, πλέον κάθε παράμετρος χαρακτηρίζεται από ένα δείκτη για κάθε έξοδο του μοντέλου. Στη συνέχεια, για να απαλειφθεί και η διάσταση των εξόδων, πραγματοποιείται στάθμιση των δεικτών ευαισθησίας GI κάθε παραμέτρου ως προς τις διαφορετικές εξόδους. Έτσι προκύπτουν οι σταθμισμένοι δείκτες ολικής ευαισθησίας WGI_i (Weighted GI_i):

$$WGI_i = \frac{\sum_{j=1}^N w_j GI_{i,j}}{\sum_{j=1}^N w_j} \quad (4.13)$$

όπου i η παράμετρος, j η έξοδος του μοντέλου και $N = N_{outputs}$ και w_j ισούνται με:

$$w_j = \frac{AUC_{obs_j}}{V_{tis_j}}, \quad (4.14)$$

όπου AUC_{obs_j} είναι η τιμή AUC που προκύπτει από τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα. Η επιλογή του όρου AUC_{obs_j}/V_{tis_j} ως συντελεστή στάθμισης των δεικτών ολικής ανάλυσης ευαισθησίας βασίζεται στο σκεπτικό ότι η τιμή του κλάσματος αυτού, διατάσσει τις παραμέτρους σε σειρά σημαντικότητας με κριτήριο το λόγο (μάζα νανοσωματιδίων)/(όγκος οργάνου), ένα μέγεθος που αναδεικνύει τη σχετική συγκέντρωση μάζας ως προς το μέγεθος του οργάνου. Έτσι, αν ένα υλικό χαρακτηρίζεται από υψηλή συσσώρευση σε κάποιο όργανο ανά μονάδα όγκου αυτού οργάνου, τότε αυτό θα αποτυπωθεί στους δείκτες ευαισθησίας που διαμορφώνουν το συγκεντρωσιακό προφίλ του οργάνου, χωρίς να αλλοιώνει την κατάταξη των παραμέτρων το μέγεθος του οργάνου.

Ανάλογη είναι και η επεξεργασία που εφαρμόστηκε στα αποτελέσματα της μεθόδου Sobol. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 1000 δειγματοληψίας από την ομοιόμορφη κατανομή $y \sim uniform(0, 1)$, και στη συνέχεια εφαρμόστηκε η διαδικασία αντίστροφης δειγματοληψίας για να βρεθεί η αντιστοιχία μεταξύ της κατανομής $uniform(0, 1)$ και των επιθυμητών κατανομών, δηλαδή των informative lognormal και uninformative uniform. Όπως και στη περίπτωση της Morris, χρησιμοποιήθηκε συντελεστής διακύμανσης των παραμέτρων ίσος με 50%. Σε κάθε δειγματοληψία που πραγματο-

ποιείται, μετά την μετατροπή της αρχικής κατανομής στην επιθυμητή, ακολουθεί υπολογισμός των αποτελεσμάτων των διαφορικών για το συγκεκριμένο παραμετρικό σετ που δημιουργήθηκε. Στη συνέχεια, προκύπτει ένας πίνακας διαστάσεων $[N_{times} \times N_{outputs}]$, όπου κάθε στήλη του περιέχει τη συνολική μάζα νανοσωματιδίων που περιέχεται στο αντίστοιχο διαμέρισμα κάθε χρονική στιγμή. Ακολουθεί υπολογισμός της AUC σε κάθε στήλη (διαμέρισμα) προκειμένου να απαλειφθεί η διάσταση του χρόνου. Στη συνέχεια ακολουθεί κανονικοποίηση των στηλών του νέου πίνακα προκειμένου να εφαρμοστεί η μέθοδος Sobol σε κάθε στήλη ξεχωριστά και κατ' επέκταση να υπολογιστούν οι δείκτες Sobol για κάθε παράμετρο σε κάθε διαμέρισμα ξεχωριστά. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η δημιουργία δύο τελικών πινάκων, όπου ο καθένας έχει διαστάσεις $[N_{params} \times N_{output}]$. Ο πρώτος πίνακας περιέχει του δείκτες Sobol πρώτης τάξης και ο δεύτερος περιέχει του δείκτες ολική ευαισθησίας. Όμως, λόγω του μεγάλου πλήθους των παραμέτρων και των 12 διαφορετικών διαμερισμάτων, για τα οποία έχουν υπολογιστεί δείκτες ευαισθησίας, είναι δύσκολη η εξαγωγή συμπερασμάτων για το ποιες παράμετροι είναι σημαντικές και ποιες όχι. Το πρόβλημα αυτό επιλύεται και σε αυτή τη περίπτωση με τη στάθμιση των δεικτών πρώτης και συνολικής τάξης, με βάση τους όρους που χρησιμοποιήθηκαν και για τη μέθοδο Morris, μέσω των σχέσεων (4.13, 4.14), οι οποίες αν αναπροσαρμοστούν για του δείκτες ευαισθησίας Sobol έχουν τη μορφή:

$$\begin{aligned}
 WS_{1_i} &= \frac{\sum_{j=1}^{N_y} w_j S_{1_{i,j}}}{\sum_{j=1}^{N_y} w_j} \\
 WS_{total_i} &= \frac{\sum_{j=1}^{N_y} w_j S_{total_{i,j}}}{\sum_{j=1}^{N_y} w_j} \\
 w_j &= \frac{AUC_{obs_j}}{V_{tis_j}},
 \end{aligned} \tag{4.15}$$

όπου S_{1_i} και S_{total_i} ο πρώτης τάξης και ο ολικός δείκτης Sobol αντίστοιχα, ενώ τα w_j υπολογίζονται ακριβώς όπως και στην περίπτωση Morris.

Τέλος, ελέγχθηκε η περίπτωση υπολογισμού των δεικτών Sobol χωρίς τη στάθμιση με τους όρους w_j της σχέσης 4.14. Αντιθέτως, θεωρήθηκε ότι οι έξοδοι των διαμερισμάτων έχουν όλα την ίδια βαρύτητα, συνεπώς το τελικό ζευγάρι δεικτών Sobol κάθε παραμέτρου υπολογίστηκε από το μέσο όρο όλων των δεικτών της, για όλα τα διαμερίσματα. Σκοπός αυτής της δοκιμής ήταν η παρατήρηση του τρόπου και του βαθμού με τον οποίο επιδρά η στάθμιση μέσω των πειραματικών δεδομένων στα αποτελέσματα της ανάλυσης ευαισθησίας.

4.5 Στατιστικό Μοντέλο

Στην ενότητα αυτή θα παρουσιαστεί το στατιστικό μοντέλο με το οποίο θα προσδιοριστούν οι τιμές των παραμέτρων μέσω των πειραματικών δεδομένων. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι παράμετροι που συγκεντρώνουν το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι αυτές που αναγράφονται στο συγκεντρωτικό πίνακα 4.8. Ο προσδιορισμός όλων των παραμέτρων θα προκαλούσε προβλήματα ταυτοποίησης που οφείλονται, τόσο στην πληθώρα των δεδομένων, όσο και στη μορφή των διαφορικών εξισώσεων [37]. Το πρόβλημα αυτό γίνεται να λυθεί με την εφαρμογή της ανάλυσης ευαισθησίας, μέσω της οποίας είναι εφικτή η επιλογή των σημαντικότερων παραμέτρων και έτσι θα γίνει εκτίμηση ενός παραμετρικού υποσυνόλου, με τις υπόλοιπες, μη σημαντικές παραμέτρους να λαμβάνουν σταθερή τιμή. Επιπλέον, όλες οι φυσιολογικές παράμετροι που αναγράφονται στους πίνακες 4.4 και 4.5 παραμένουν και αυτές σταθερές στις τιμές που τους έχουν δοθεί και δεν τίθενται προς προσδιορισμό.

Έστω ότι το σύνολο των παραμέτρων που αναγνωρίστηκαν ως σημαντικές από την ανάλυση ευαισθησίας ορίζουν το παραμετρικό διάνυσμα μ . Πρόκειται για ένα παραμετρικό διάνυσμα το οποίο περιέχει τη μέση τιμή της υποθετικής κανονικής κατανομής κάθε παραμέτρου προς ανάλυση και δεν αποτελεί κάποια στοχαστική παράμετρο. Επιπλέον, ορίζεται το διάνυσμα σ , το οποίο περιέχει τις τυπικές αποκλίσεις των παραμέτρων του διανύσματος μ , υπολογισμένες με βάση το CV που τους έχει οριστεί. Δηλαδή ισχύει

$$\sigma = CV \cdot \mu \quad (4.16)$$

Ωστόσο, επειδή οι παράμετροι που περιέχονται στο μ είναι στοχαστικές παράμετροι οι οποίες μπορούν να έχουν μόνο θετικές τιμές, γίνεται η θεώρηση ότι ακολουθούν κανονική λογαριθμική κατανομή. Αυτή είναι μία αρκετά συνήθης επιλογή κατανομής για παραμέτρους μοντέλων βιολογικών συστημάτων, οι οποίες ορίζονται μέσα στο διάστημα $[0, +\infty]$. Για το λόγο αυτό, είναι αναγκαίοι οι μετασχηματισμοί που αναφέρθηκαν στη σχέση 4.11. Με την εφαρμογή των μετασχηματισμών αυτών, προκύπτει το μετασχηματισμένο παραμετρικό διάνυσμα μ_{tr} με το αντίστοιχο σ_{tr} . Δηλαδή ισχύει ότι:

$$\begin{aligned} \mu_{tr} &= \ln\left(\frac{\mu^2}{\sqrt{\mu^2 + \sigma^2}}\right) \\ \sigma_{tr} &= \sqrt{\ln\left(1 + \frac{\sigma^2}{\mu^2}\right)}. \end{aligned} \quad (4.17)$$

Άρα το παραμετρικό διάνυσμα θ_{tr} ακολουθεί κανονική λογαριθμική κατανομή

$$\theta_{tr} \sim \text{LogNormal}(\mu_{tr}, \sigma_{tr}). \quad (4.18)$$

Έτσι λοιπόν, σε κάθε επανάληψη πραγματοποιείται μία δειγματοληψία για τις παραμέτρους που περιέχονται στο θ_{tr} και επιλύονται οι διαφορικές εξισώσεις για τις χρονικές στιγμές που υπάρχουν διαθέσιμες πειραματικές μετρήσεις. Στη συνέχεια υπολογίζεται η πιθανοφάνεια των αποτελεσμάτων για το συγκεκριμένο παραμετρικό σετ που αντιστοιχεί σε κάθε δειγματοληψία. Αν θεωρήσουμε ότι τα δεδομένα των πειραματικών μετρήσεων για κάθε διαμέρισμα ακολουθούν κανονική κατανομή, τότε αυτή η κατανομή θα πρέπει να έχει ως μέση τιμή την τιμή που προβλέπει το μοντέλο για το αντίστοιχο διαμέρισμα και θα έχει ως διακύμανση το σφάλμα του μοντέλου, δηλαδή

$$m_{obs_j} \sim \text{normal}(\hat{m}_j, \epsilon) \quad (4.19)$$

όπου m_{obs_j} η μάζα νανοσωματιδίων που έχει παρατηρηθεί σε όλες τις χρονικές στιγμές που έχουν ληφθεί μετρήσεις, \hat{m}_j η πρόβλεψη του μοντέλου για την τη συνολική ποσότητα νανοσωματιδίων (δηλαδή το άθροισμα της μάζας που προβλέπει στα υποδιαμερίσματα του ιστού και των φαγοκυττάρων κάθε διαμερίσματος) τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές χρησιμοποιώντας το παραμετρικό διάνυσμα θ που προκύπτει σε κάθε δειγματοληψία, j είναι ο δείκτης που συμβολίζει το διαμέρισμα και ϵ είναι το προσθετικό σφάλμα του μοντέλου. Δοκιμάστηκαν δύο διαφορετικές στρατηγικές αναφορικά με το σφάλμα. Η πρώτη ήταν να υπάρχει ενιαίο σφάλμα για όλα τα διαμερίσματα και η δεύτερη να υπάρχουν τρία σφάλματα, το πρώτο στα διαμερίσματα τάδε, κτλ κτλ. Το δεύτερο σχήμα χρησιμοποιήθηκε γιατί παρατηρήθηκε μεγάλη διαφορά σε τάξεις μεγέθους μεταξύ των διαμερισμάτων και θεωρήθηκε καλύτερη στρατηγική να χωρισθούν τα όργανα βάση της τάξης μεγέθους περιεχόμενων νανοσωματιδίων TiO_2 . Στην πρώτη περίπτωση η εκ των προτέρων κατανομή του σφάλματος ήταν:

$$\epsilon \sim \text{normal}(0, 1), \quad (4.20)$$

ενώ στη δεύτερη περίπτωση η εκ των προτέρων κατανομή των τριών σφαλμάτων ήταν:

$$\begin{aligned} \epsilon_1 &\sim \text{normal}(0, 0.1) \\ \epsilon_2 &\sim \text{normal}(0, 0.01) \\ \epsilon_3 &\sim \text{normal}(0, 0.001) \end{aligned} \quad (4.21)$$

4.6 Εφαρμογή Στατιστικού Μοντέλου στη STAN

Η προγραμματιστική γλώσσα που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη και εφαρμογή του στατιστικού μοντέλου ήταν η πιθανοτική γλώσσα STAN v.2.19.2 [75], και συγκεκριμένα η βιβλιοθήκη της R, rSTAN. Η STAN χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάπτυξη στατιστικών μοντέλων που ακολουθούν Μπεϋζιανή ανάλυση λόγω των MCMC αλγορίθμων δειγματοληψίας από εκ των υστέρων κατανομές που ενσωματώνει. Ακόμα, υπάρχουν ενσωματωμένοι solvers για την επίλυση συνήθων διαφορικών εξισώσεων. Εκτός από τη γλώσσα R, αντίστοιχες βιβλιοθήκες που αξιοποιούν τη STAN υπάρχουν και για άλλες γλώσσες, όπως η Python, Julia, Stata, Matlab και Mathematica.

Ο κώδικας της STAN συνεργάζεται με τον κώδικα της R με τον εξής τρόπο: στον κώδικα R εισάγονται όλα τα δεδομένα του μοντέλου, όπως οι τιμές όλων των παραμέτρων, οι αρχικές τιμές των διαφορικών, τα πειραματικά δεδομένα καθώς και ορισμένες παράμετροι που αφορούν τον αλγόριθμο επίλυσης. Στο τέλος του κώδικα γίνεται κλήση του κώδικα STAN στον οποίο περιέχονται όλες οι διαφορικές εξισώσεις και το στατιστικό μοντέλο που αναπτύχθηκε στην προηγούμενη ενότητα. Συγκεκριμένα, οι παράμετροι που ορίστηκαν στην R και αφορούν τον αλγόριθμο είναι το πλήθος των μαρκοβιανών αλυσίδων, οι οποίες επιλέχθηκαν να είναι 4, καθώς και ο αριθμός επαναλήψεων που θα πραγματοποιηθούν σε κάθε αλυσίδα. Για κάθε αλυσίδα επιλέχθηκε να πραγματοποιούνται 1000 επαναλήψεις, ενώ οι 500 πρώτες από αυτές ορίστηκαν ως warm-up επαναλήψεις. Οι warm-up επαναλήψεις είναι ένα μέρος της αρχής κάθε μαρκοβιανής αλυσίδας, οι οποίες αποφασίζεται να μην χρησιμοποιηθούν στη διαμόρφωση των τελικών αποτελεσμάτων, καθώς ακόμα ο αλγόριθμος δειγματοληψίας όταν βρίσκεται στο αρχικό στάδιο των επαναλήψεων δεν έχει καταφέρει να συγκλίνει. Επομένως, η παρουσίαση των αποτελεσμάτων βασίζεται αποκλειστικά στις τελευταίες 500 επαναλήψεις (post warm-up) κάθε αλυσίδας.

Ο κώδικας της STAN απαιτεί μία αρκετά αυστηρή δομή για την εφαρμογή του στατιστικού μοντέλου, καθώς αποτελείται από συγκεκριμένα τμήματα (blocks). Το πρώτο τμήμα του κώδικα ονομάζεται functions. Σε αυτό το τμήμα γίνεται δήλωση όλων των διαφορικών εξισώσεων του μοντέλου καθώς και των μεταβλητών και των παραμέτρων που το απαρτίζουν. Στη συνέχεια ακολουθεί το τμήμα data, στο οποίο γίνεται δήλωση των δεδομένων (π.χ. πειραματικά δεδομένα, πλήθος σταθερών, παραμέτρων, αρχικές συνθήκες κ.α.) που εισάγονται από τον συνεργαζόμενο κώδικα της R. Τα δεδομένα αυτά είναι απαραίτητα για την εκκίνηση της επαναληπτικής διαδικα-

σίας των μαρκοβιανών αλυσίδων. Στη συνέχεια υπάρχει το τμήμα *transformed data*, στο οποίο επιτρέπονται οι μετασχηματισμοί των δεδομένων που εισήχθησαν στο τμήμα *data*. Συγκεκριμένα, στο τμήμα αυτό πραγματοποιούνται οι μετασχηματισμοί της εξίσωσης (4.17). Έπειτα, ακολουθεί το τμήμα των *parameters*, στο οποίο δηλώνονται οι παράμετροι (χωρίς να γίνεται ανάθεση τιμών) οι οποίες πρόκειται να προσδιοριστούν, δηλαδή οι παράμετροι για τις οποίες θα γίνουν οι δειγματοληψίες. Το επόμενο τμήμα του κώδικα ονομάζεται *model*. Όπως υποδηλώνει και το όνομά του, σε αυτό το τμήμα καταγράφεται το στατιστικό μοντέλο που χρησιμοποιείται. Αρχικά, ορίζονται οι εκ των υστέρων κατανομές των παραμέτρων που δηλώθηκαν στο προηγούμενο τμήμα (*parameters*), έπειτα γίνεται ολοκλήρωση των διαφορικών εξισώσεων για τη δειγματοληψία των παραμέτρων που πραγματοποιείται σε κάθε επανάληψη και στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός της πιθανοφάνειας της εξίσωσης 4.19. Τέλος, υπάρχει το τμήμα *generated quantities*, το οποίο δεν έχει καμία επίδραση στην τιμές των παραμέτρων που έχουν προσδιοριστεί, αλλά χρησιμοποιείται μόνο για την εξαγωγή των παράγωγων μεγεθών που αποτελούν μετασχηματισμό των παραμέτρων.

Η μέθοδος δειγματοληψίας που χρησιμοποιείται από τη STAN είναι ο αλγόριθμος Hamiltonian Monte Carlo (HMC). Πρόκειται για μία MCMC μέθοδο, η οποία χρησιμοποιεί αριθμητική ολοκλήρωση για την επίλυση Hamiltonian συστημάτων σε συνδυασμό με το βήμα αποδοχής που χρησιμοποιείται από τον αλγόριθμο Metropolis. Στόχος της μεθόδου είναι ο προσδιορισμός της εκ των υστέρων κατανομής πραγματοποιώντας δειγματοληψίες από την εκ των προτέρων κατανομή $p(\theta)$. Ο αλγόριθμος HMC χρησιμοποιεί τη βοηθητική παράμετρο ρ , η οποία ονομάζεται ορμή (*momentum*) και πραγματοποιεί δειγματοληψία από την από κοινού κατανομή:

$$p(\rho, \theta) = p(\rho|\theta)p(\theta), \quad (4.22)$$

όπου θ το σύνολο των παραμέτρων. Πρόκειται για την ίδια σχέση με τη σχέση (3.2), με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του y χρησιμοποιείται το σύμβολο ρ , λόγω των Hamiltonian συστημάτων. Η μεταβλητή ρ ακολουθεί μία πολυμεταβλητή κανονική κατανομή, ανεξάρτητη των παραμέτρων θ , δηλαδή

$$\rho \sim \text{MultivariateNormal}(0, \Sigma), \quad (4.23)$$

όπου Σ είναι ένας πίνακας συνδιακύμανσης (*covariance matrix*) ο οποίος μπορεί να είναι είτε μοναδιαίος πίνακας, ή να υπολογιστεί στις *warmup* δειγματοληψίες ή να οριστεί ως ένας οποιοσδήποτε άλλος διαγώνιος πίνακας. Η από κοινού κατανομή $p(\rho, \theta)$ μπορεί να εκφραστεί με όρους Hamiltonian συστήματος υπολογίζοντας τον αρνητικό φυσικό λογάριθμο της κατανομής αυτής,

δηλαδή:

$$\begin{aligned} H(\rho, \theta) &= -\log p(\rho, \theta) \\ &= -\log p(\rho|\theta) - \log p(\theta) \\ &= T(\rho|\theta) + V(\theta), \end{aligned} \quad (4.24)$$

όπου ο όρος $T(\rho|\theta) = -\log p(\rho|\theta)$ ονομάζεται κινητική ενέργεια (kinetic energy) και ο όρος $V(\theta) = -\log p(\theta)$ ονομάζεται δυναμική ενέργεια (potential energy). Κάθε επανάληψη του αλγορίθμου χωρίζεται σε δύο τμήματα. Στο πρώτο στάδιο πραγματοποιείται δειγματοληψία της ορμής ρ από την κατανομή (4.23), η οποία είναι ανεξάρτητη των τιμών των παραμέτρων θ . Στη συνέχεια, το Hamiltonian σύστημα της από κοινού κατανομής $p(\rho, \theta)$ ορίζεται ως εξής:

$$\begin{aligned} \frac{d\theta}{dt} &= +\frac{\partial H}{\partial \rho} = +\frac{\partial T}{\partial \rho} \\ \frac{d\rho}{dt} &= -\frac{\partial H}{\partial \theta} = -\frac{\partial T}{\partial \theta} - \frac{\partial V}{\partial \theta} \end{aligned} \quad (4.25)$$

Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η κατανομή της ορμής είναι ανεξάρτητη των τιμών των παραμέτρων θ , δηλαδή $p(\rho|\theta) = p(\rho)$, τότε το σύστημα (4.25) παίρνει τη μορφή:

$$\begin{aligned} \frac{d\theta}{dt} &= +\frac{\partial T}{\partial \rho} \\ \frac{d\rho}{dt} &= -\frac{\partial V}{\partial \theta} \end{aligned} \quad (4.26)$$

Η STAN χρησιμοποιεί τον ολοκληρωτή Leapfrog για την επίλυση του συστήματος των δύο διαφορικών (4.26). Πρόκειται για έναν αλγόριθμο αριθμητικής επίλυσης διαφορικών εξισώσεων ο οποίος έχει υποστεί ειδικές προσαρμογές για την επίλυση Hamiltonian συστημάτων. Έτσι, για κάθε δειγματοληψία της ορμής ρ , υπολογίζονται οι νέες τιμές των παραμέτρων θ με τη χρήση του ολοκληρωτή Leapfrog.

Το δεύτερο στάδιο κάθε επανάληψης είναι αυτό που καθορίζει το αν το νέο σετ τιμών (ρ^*, θ^*) είναι αποδεκτό ή όχι. Αυτό πραγματοποιείται με το βήμα αποδοχής του αλγόριθμου Metropolis. Η πιθανότητα αποδοχής των τιμών (ρ^*, θ^*) είναι ίση με:

$$\min(1, \exp(H(\rho, \theta) - H(\rho^*, \theta^*))). \quad (4.27)$$

ενώ αν το νέο σετ τιμών δε γίνει αποδεκτό, τότε χρησιμοποιούνται οι προηγούμενες τιμές για να

γίνει η επόμενη δειγματοληψία [75, 76]. Τέλος, η STAN χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο no-U-turn sampler (NUTS), ο οποίος εφαρμόζεται προκειμένου να ρυθμιστούν αυτόματα και με το βέλτιστο τρόπο οι παράμετροι του ολοκληρωτή Leapfrog.

4.7 PBPk Index

Στην ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων είναι σημαντικό να υπάρχει ένα αντικειμενικό κριτήριο με το οποίο θα αξιολογείται πόσο καλά αναπαριστά το μοντέλο τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα (goodness of fit). Πολλές φορές, χρησιμοποιείται η οπτική εποπτεία μέσω σύγκρισης των προσομοιωμένων (simulated) καμπυλών με τα πειραματικά δεδομένα για την αξιολόγηση του μοντέλου, ωστόσο αυτή η μέθοδος εμφανίζει σημαντικές δυσκολίες εφαρμογής, είτε σε περιπτώσεις διαφορετικών εκδοχών του μοντέλου, οι οποίες δίνουν οπτικά παρόμοια αποτελέσματα, είτε σε περιπτώσεις μοντέλων με πολλαπλές εξόδους, (όπως το PBPk μοντέλο του της παρούσας εργασίας), όπου είναι δύσκολη η σύγκριση των αποτελεσμάτων κάθε διαμερίσματος μεταξύ διαφορετικών εκδοχών του μοντέλου. Για το λόγο αυτό, επιλέχθηκε ως δείκτης ποιότητας των αποτελεσμάτων ο δείκτης PBPk Index, όπως αυτός ορίζεται στη μελέτη των Krishnan *et al.*[77]. Η επιλογή αυτού του δείκτη βασίζεται στην ικανότητα του να συγκρίνει τα αποτελέσματα του μοντέλου με τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα (ακόμη και από πολλαπλές έρευνες) και στη σχετικά εύκολη εφαρμογή του. Ο υπολογισμός του PBPk Index βασίζεται στον υπολογισμό του απόλυτου σφάλματος μεταξύ της τιμής του μοντέλου και της τιμής των πειραματικών δεδομένων για τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές και τα αντίστοιχα όργανα, δηλαδή:

$$e_t = |S_t - E_t| \quad (4.28)$$

όπου, e_t το απόλυτο σφάλμα, S_t η τιμή του μοντέλου (simulation) και E_t η πειραματική τιμή (experimental) για κάθε χρονική στιγμή t για την οποία υπάρχουν διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα. Στη συνέχεια γίνεται υπολογισμός της τετραγωνική ρίζας του αθροίσματος των τετραγώνων των απόλυτων σφαλμάτων διαιρούμενα με το πλήθος των παρατηρήσεων για κάθε διαμέρισμα, δηλαδή:

$$RMSE^2 = \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^n e_t^2}{N}} \quad (4.29)$$

όπου N το πλήθος των πειραματικών μετρήσεων που είναι διαθέσιμες για κάθε όργανο. Ωστόσο, η τιμή του RMe_t^2 δεν αποτελεί ξεκάθαρο δείκτη διαφοράς μεταξύ των προβλέψεων του μοντέλου και των πειραματικών δεδομένων, διότι δεν είναι υπολογισμένος ως προς κάποιο μέγεθος αναφοράς, ώστε να είναι συγκρίσιμοι μεταξύ τους οι δείκτες διαφορετικών διαμερισμάτων. Για το λόγο αυτό, ο τελικός δείκτης για κάθε διαμέρισμα υπολογίζεται διαιρώντας την ποσότητα RMe_t^2 με την τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των πειραματικών μετρήσεων διαιρεμένο με το πλήθος των παρατηρήσεων του αντίστοιχου διαμερίσματος, δηλαδή:

$$I_j = \frac{RMe_t^2}{RME_t^2} \quad (4.30)$$

όπου j ο δείκτης του διαμερίσματος. Όμως, σε αρκετά πειραματικά δεδομένα (όπως αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία) οι χρονικές στιγμές για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμες μετρήσεις διαφέρουν από όργανο σε όργανο. Για λόγο αυτό, είναι σημαντικό ο δείκτης κάθε διαμερίσματος να μην έχει τον ίδιο συντελεστή βαρύτητας στην τελική διαμόρφωση του τελικού PBPK Index. Αυτό επιτυγχάνεται αξιοποιώντας της σχέση:

$$I_c = \sum_{j=1}^{N_{comps}} I_j \cdot \left(\frac{N_j}{N_{total}} \right) \quad (4.31)$$

όπου, N_{comps} το πλήθος των διαφορετικών διαμερισμάτων του μοντέλου, N_j το πλήθος των διαθέσιμων μετρήσεων για το διαμέρισμα j και N_{total} το σύνολο των διαθέσιμων μετρήσεων για όλα τα διαμερίσματα.

4.8 Οπτικός Έλεγχος Προβλεπτικής Ικανότητας VPC

Τα διαγράμματα οπτικού ελέγχου της προβλεπτικής ικανότητας (Visual Predictive Check (VPC)) αποτελούν διαγνωστικά διαγράμματα τα οποία χρησιμοποιούνται κυρίως για την αξιολόγηση των posterior κατανομών των παραμέτρων που έχουν προσδιοριστεί μέσω των πειραματικών δεδομένων.

Τα VPC διαγράμματα κατασκευάζονται πραγματοποιώντας μεγάλο αριθμό προσομοιώσεων ($N \geq 1000$), έπειτα από δειγματοληψία από τις posterior κατανομές των παραμέτρων. Στη συνέχεια, υπολογίζονται τα αποτελέσματα του μοντέλου για κάθε μία από τις προσομοιώσεις και στο διάγραμμα αναπαρίστανται ορισμένα εκατοστημόρια των αποτελεσμάτων των προσομοιώσεων. Συ-

νήθως, επιλέγονται το 5ο, το 50ο και το 95ο εκατοστημόριο των προσομοιώσεων και συγκεκριμένα αναπαρίστανται διαστήματα εμπιστοσύνης των εκατοστημορίων, δηλαδή το 95%. Επιπλέον, στα διαγράμματα περιέχονται τα πειραματικά δεδομένα της έρευνας, που χρησιμοποιήθηκαν στην εκτίμηση των παραμέτρων, ώστε να μπορεί να γίνει αξιολόγηση της προβλεπτικής ικανότητας[78].

Κεφάλαιο 5

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα της μελέτης περίπτωσης. Αρχικά παρουσιάζονται οι αρχικές προσεγγίσεις για τις τιμές των 32 chemical specific παραμέτρων, οι οποίες προέκυψαν έπειτα από επαναληπτική σύγκριση των παραγόμενων καμπυλών του μοντέλου με τα πειραματικά δεδομένα. Έπειτα, αναλύονται τα αποτελέσματα της ολικής ανάλυσης ευαισθησίας του μοντέλου τόσο από τη μέθοδο Morris όσο και από τη μέθοδο Sobol. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της προσαρμογής του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα, τα οποία συνοδεύονται από διαγράμματα μάζας-χρόνου καθώς και από διαγράμματα οπτικού προβλεπτικού ελέγχου (Visual Predictive Check (VPC)) για κάθε διαμέρισμα. Τέλος, όλοι οι κώδικες R και STAN που χρησιμοποιήθηκαν στη μοντελοποίηση και στη δημιουργία των διαγραμμάτων είναι διαθέσιμοι στο σύνδεσμο: https://github.com/ntua-unit-of-control-and-informatics/Ti02_IV_PBPk

5.1 Προσέγγιση των Substance-Specific Παραμέτρων

Στο σημείο αυτό πρόκειται να παρουσιαστούν αναλυτικά οι τιμές των παραμέτρων που είναι άμεσα εξαρτώμενες από το είδος της ουσίας που μελετάται, δηλαδή το διοξείδιο του τιτανίου. Πρόκειται δηλαδή για τις τιμές των συντελεστών διαπερατότητας, x_i , συντελεστών διαχωρισμού, P , της χωρητικότητας των φαγοκυττάρων σε νανοσωματίδια $uptake_i$, του μέγιστου ρυθμού απορρόφησης νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα, $P_{up_{max}}$, του συντελεστή εκρόφησης από τα φαγοκύτταρα, k_{de} και των συντελεστών ηπατοχολικής και νεφρικής απέκκρισης, CLE_f και CLE_u , αντίστοιχα. Αρχικά, αναζητήθηκαν στη βιβλιογραφία τιμές για τις μεταβλητές αυτές. Η μόνη πηγή που βρέθηκε

ήταν των Carlander et al.[68], οι τιμές των οποίων αδυνατούσαν να αναπαράγουν τα δεδομένα. Για τον λόγο αυτό, δοκιμάστηκε εμπειρική εκτίμηση των substance-specific παραμέτρων μέσω οπτικής εποπτείας της εφαρμογής των παραγόμενων καμπυλών μάζας-χρόνου στα διαθέσιμα δεδομένα. Η διαδικασία της προσέγγισης τιμών των παραμέτρων που εφαρμόστηκε είχε την εξής λογική: αρχικά ελέγχθηκε αν είναι εφικτό να περιγραφούν τα πειραματικά δεδομένα χρησιμοποιώντας σε όλα τα διαμερίσματα ίδιο συντελεστή διαπερατότητας, x , ίδιο συντελεστή διαχωρισμού, P , και ίδια τιμή για την χωρητικότητα των φαγοκυττάρων σε νανοσωματίδια, $uptake$. Ωστόσο, αποδείχτηκε ότι ορισμένα διαμερίσματα ήταν αδύνατο να προσεγγίσουν τα πειραματικά δεδομένα χρησιμοποιώντας κοινούς συντελεστές με όλα τα υπόλοιπα διαμερίσματα. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές τιμές για τις παραμέτρους αυτών των διαμερισμάτων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το διαμέρισμα του ήπατος, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.1, για το οποίο έχουν δοθεί διαφορετικές τιμές σε σχέση με τα υπόλοιπα διαμερίσματα και για τις τρεις παραμέτρους. Αντίστοιχη περίπτωση είναι το διαμέρισμα της σπλήνας, στο οποίο δόθηκε ίδιος συντελεστής διαπερατότητας με αυτόν του ήπατος, ενώ χρειάστηκε και ο ορισμός νέας τιμής $uptake$ για το συγκεκριμένο διαμέρισμα. Άλλα διαμερίσματα στα οποία δόθηκαν διαφορετικές τιμές παραμέτρων από το αρχικό σετ είναι το διαμέρισμα των μαλακών ιστών και του σκελετού. Προφανώς, για λόγους ταυτοποιησιμότητας (identifiability), επιχειρήθηκε να βρεθούν τα σετ παραμέτρων με τις λιγότερες δυνατές εξαιρέσεις παραμέτρων σε σχέση με τις γενικές τιμές (generic values).

Πίνακας 5.1: Τιμές των substance-specific παραμέτρων ανά διαμέρισμα.

Διαμέρισμα	Συντ. Διαπερατότητας x_i (αδιάστατο)	Συντ. Διαχωρισμού P_i (αδιάστατο)	Χωρητικότητα σε νανοσωματίδια $uptake_i$ (μg TiO ₂ /g φαγοκυττάρων)
Μαλακοί ιστοί	0.0001	0.06	0.01
Καρδιά	0.0001	0.8	0.1
Νεφροί	0.0001	0.8	0.1
Εγκέφαλος	0.00001	0.8	0.1
Σπλήνα	3	0.8	3
Πνεύμονες	0.0001	0.8	0.1
Ήπαρ	3	20	16
Μήτρα	0.0001	0.8	0.1
Σκελετός	3	0.8	0.1
Αίμα	-	-	0.1

Το σύνολο των παραμέτρων που παρουσιάζονται στους πίνακες 5.1 και 5.2 δημιουργεί ένα παραμετρικό σύνολο 32 παραμέτρων. Ωστόσο, ένα τόσο ευρύ παραμετρικό σετ δημιουργεί αυτόματα προβλήματα ταυτοποιησιμότητας. Συνεπώς, είναι αδύνατο να γίνει εκτίμηση των 32 παραμέτρων

Πίνακας 5.2: Τιμές των substance-specific παραμέτρων που είναι κοινές για όλα τα διαμερίσματα.

Παράμετρος	Τιμή	Ερμηνεία
$P_{up_{max}}(ml/h)$	20	Μέγιστος ρυθμός απορρόφησης από φαγοκύτταρα
$k_{de}(1/h)$	$4.9 \cdot 10^{-19}$	Ρυθμός εκρόφησης από φαγοκύτταρα
$CLE_f(1/h)$	0.001	Ρυθμός ηπατοχολικής απέκκρισης
$CLE_u(1/h)$	0.24	Ρυθμός νεφρικής απέκκρισης

μέσω των πειραματικών δεδομένων. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με τη χρήση της ολικής ανάλυσης ευαισθησίας, μέσω της οποίας επιλέγονται οι σημαντικότερες παράμετροι του μοντέλου.

5.2 Αποτελέσματα Ανάλυσης Ευαισθησίας

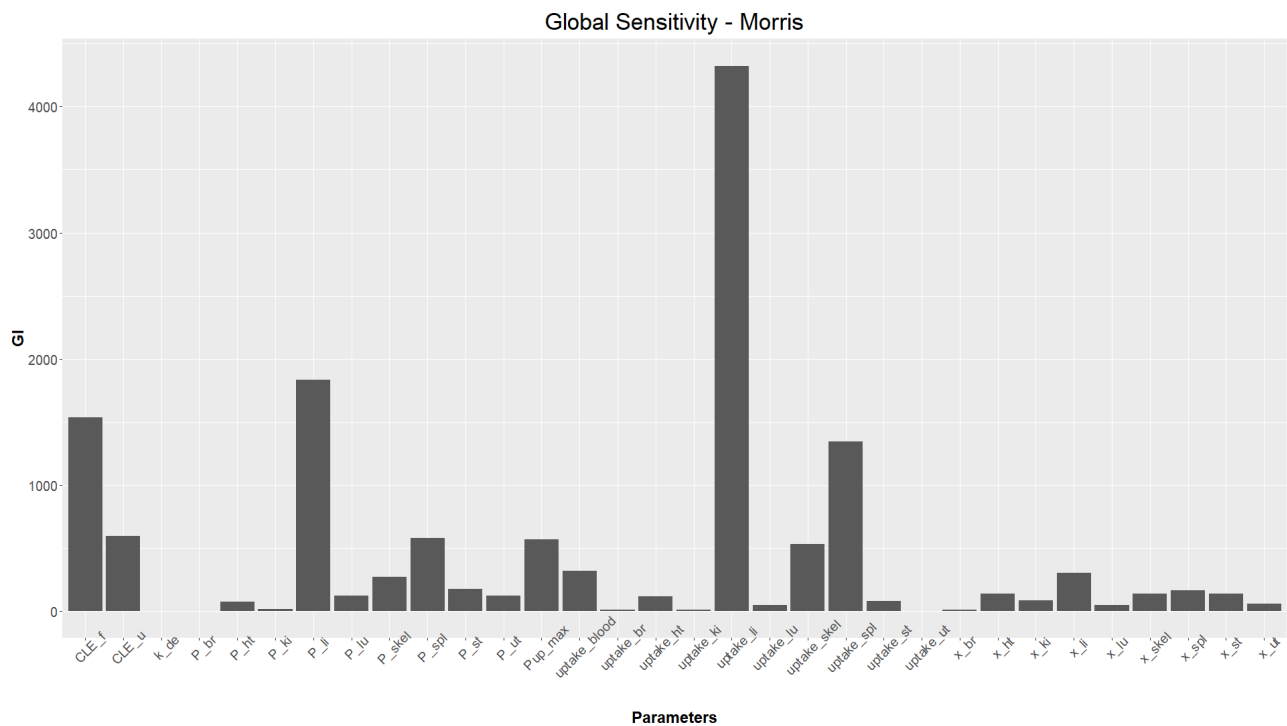
5.2.1 Αποτελέσματα Morris και Sobol για κατανομές δειγματοληψίας με πληροφορία

Στο σημείο αυτό θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα των μεθόδων Morris και Sobol για τις κατανομές δειγματοληψίας με πληροφορία και θα ακολουθήσει σύγκριση των αποτελεσμάτων κάθε μεθόδου.

Το διάγραμμα 5.1 παρουσιάζει τους δείκτες ευαισθησίας των 32 παραμέτρων, όπως αυτοί υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Morris, για κατανομές δειγματοληψίας με πληροφορία που ακολουθούν λογαριθμική κανονική κατανομή. Στο διάγραμμα αυτό είναι εμφανής η βαρύτητα της παραμέτρου $uptake_{li}$ για το μοντέλο. Στη συνέχεια, ακολουθούν με σειρά σημαντικότητας οι παράμετροι P_{li} , CLE_f και $uptake_{spl}$. Το ήπαρ και η σπλήνα είναι τα όργανα που μαζεύουν το μεγαλύτερο ποσοστό νανοσωματιδίων και, όπως αναλύθηκε και στο κεφάλαιο 4.4, ο συνολικός δείκτης ευαισθησίας υπολογίζεται με στάθμιση των επιμέρους δεικτών ανά διαμέρισμα με την συνολική ποσότητα νανοσωματιδίων ανά διαμέρισμα που υπολογίστηκε πειραματικά. Έτσι, οι παράμετροι που επηρεάζουν περισσότερο τα δύο αυτά διαμερίσματα αναδείχθηκαν ως οι πιο σημαντικές. Η λογική της επιλογής στάθμισης με βάση τη μάζα που υπολογίστηκε πειραματικά ανά διαμέρισμα είναι η ακόλουθη: αν δεν υπολογίζονται σωστά οι ποσότητες στα όργανα που συγκεντρώνουν τη μεγαλύτερη μάζα, τότε, εξαιτίας των ισοζυγίων μάζας, θα γίνεται αναδιανομή στα υπόλοιπα όργανα, παράγοντας μία ακόμα χειρότερη προσαρμογή. Αντιθέτως, όργανα που συγκεντρώνουν μικρή μάζα, αν δεν προσεγγιστούν σωστά, δεν επηρεάζουν τα υπόλοιπα όργανα. Επιπλέον, μας

ενδιαφέρει το μοντέλο να μπορεί να υπολογίσει με ακρίβεια τα πιο σημαντικά όργανα, δηλαδή αυτά στα οποία συσσωρεύονται τα ναυσοσωματίδια (σε όρους συγκέντρωσης) και, κατ' επέκταση, μπορεί να προκαλέσουν αλλοιώσεις στη φυσιολογική λειτουργία του οργάνου.

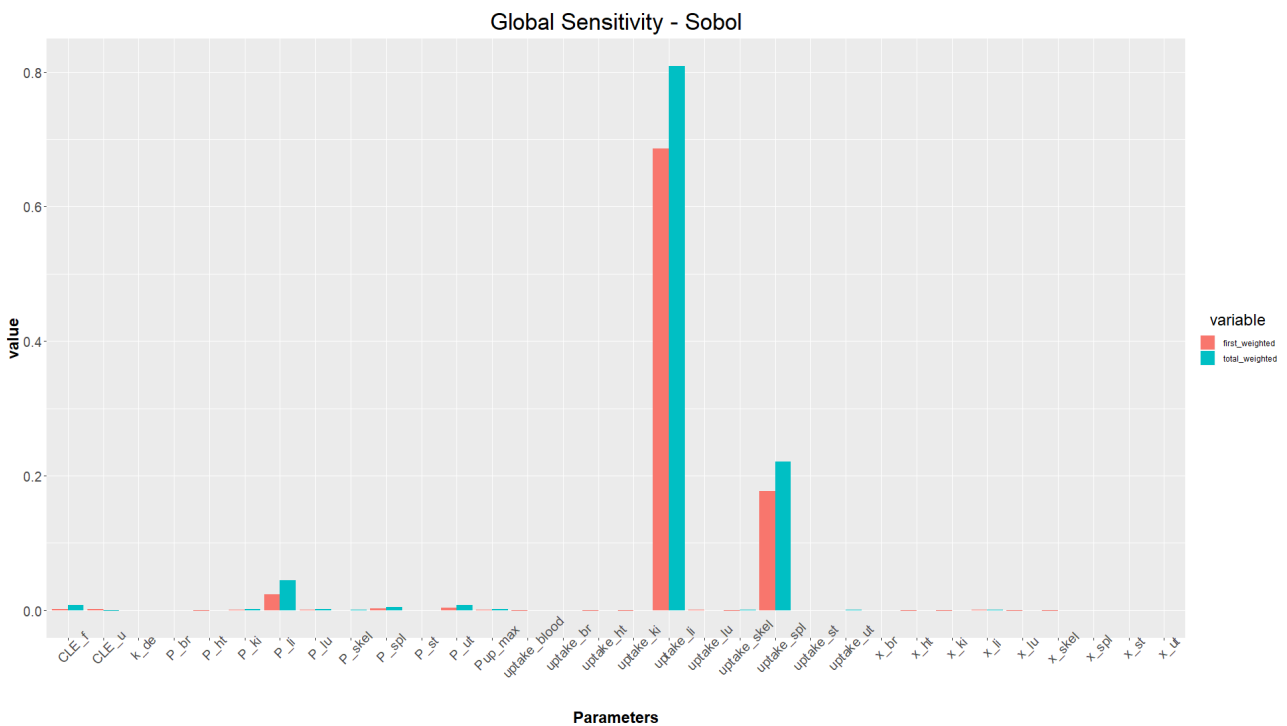
Στο σημείο αυτό πρέπει να γίνει σαφές ότι δεν υπάρχει ένα καθορισμένο όριο για την τιμή του δείκτη ευαισθησίας, το οποίο όσες παράμετροι το υπερβαίνουν πρέπει θεωρούνται σημαντικές. Η μέθοδος Morris χρησιμοποιείται κυρίως ως προκαταρκτική μέθοδος για ανάλυση ευαισθησίας, ώστε να γίνει ένας αρχικός διαχωρισμός των παραμέτρων και πολλές φορές ακολουθεί μια δεύτερη ανάλυση με άλλη μέθοδο πάνω στις παραμέτρους που θεωρήθηκαν στο πρώτο στάδιο σημαντικές. Επομένως, βάση του σχήματος 5.1, κάποιος θα μπορούσε να εισάγει στο σετ των σημαντικών παραμέτρων και τις CLE_u , P_{spl} , $P_{up_{max}}$ και $uptake_{spl}$ ώστε να τις εκτιμήσει μέσω των δεδομένων.



Σχήμα 5.1: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Morris για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.

Στη συνέχεια ακολουθούν τα αποτελέσματα από την ανάλυση ευαισθησίας με τη μέθοδο Sobol. Στην περίπτωση αυτή έχει υπολογιστεί ένα ζεύγος δεικτών για κάθε παράμετρο. Ο ένας δείκτης είναι ο δείκτης Sobol πρώτης τάξης και ο δεύτερος είναι ο ολικός δείκτης ευαισθησίας κάθε παραμέτρου. Στο διάγραμμα 5.2 συνοψίζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης Sobol. Τα συμπεράσματα της μεθόδου αυτής είναι αρκετά όμοια με αυτά της Morris. Σημαντικότερη παράμετρος αναδείχθηκε

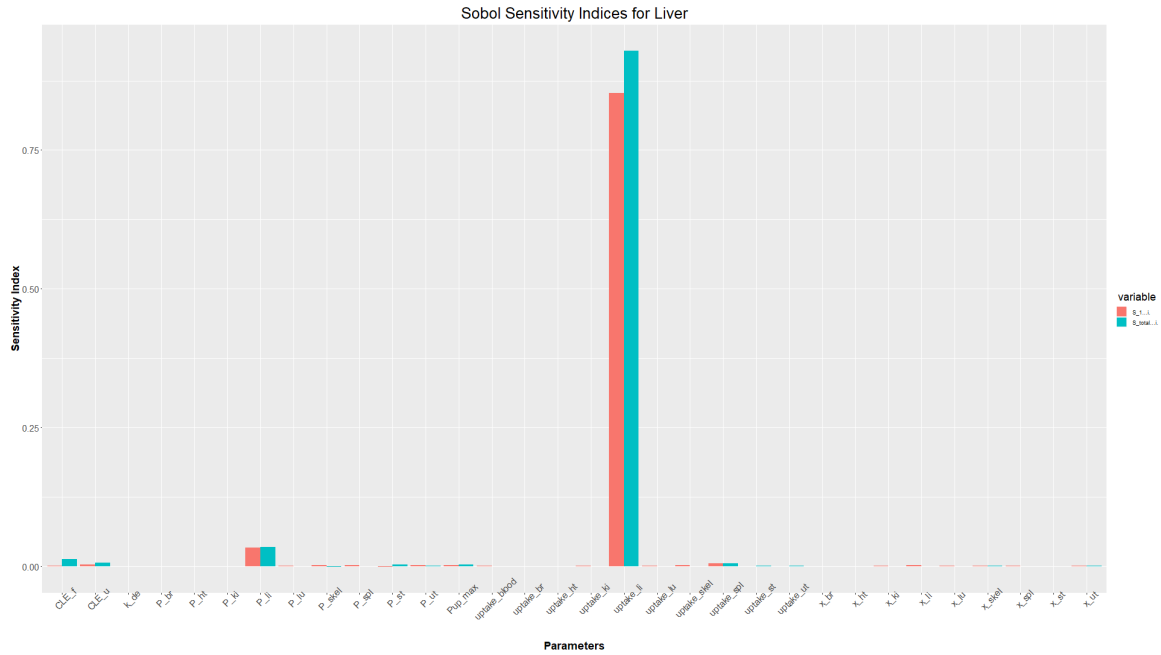
η παράμετρος $uptake_{li}$, ενώ ακολουθούν οι $uptake_{spl}$ και P_{li} . Στη μέθοδο Sobol, αποτελεί κοινή πρακτική το σετ των σημαντικών παραμέτρων να λαμβάνεται με χρήση κάποιου κατωφλίου (threshold). Το σετ των σημαντικών παραμέτρων διαφοροποιείται ανάλογα με το όριο που θα τεθεί για το διαχωρισμό των παραμέτρων σε σημαντικές και μη σημαντικές. Οι δύο επικρατέστερες τιμές ως όρια είναι το 0.05 και το 0.01. Δείκτες Sobol με τιμή άνω του 0.05 ή 0.01, σημαίνει ότι ευθύνονται για μεγαλύτερο ποσοστό από το 5% ή 1% αντίστοιχα της διακύμανσης της εξόδου του μοντέλου. Αν τεθεί ως τιμή-όριο το 1%, τότε η παράμετρος P_{li} μπορεί να θεωρηθεί σημαντική, ενώ αν οριστεί σαν όριο το 5%, τότε θεωρείται μη σημαντική. Επίσης, για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με το ποιες παράμετροι είναι σημαντικές και ποιες όχι, αρκεί να ελέγξει κανείς μόνο την τιμή του συνολικού δείκτη ευαισθησίας κάθε παραμέτρου, καθώς αυτή αναφέρει το ποσοστό της συνολικής διακύμανσης του μοντέλου για το οποίο ευθύνεται η παράμετρος. Παρόλα αυτά, οι δείκτες Sobol πρώτης τάξης, μπορούν να οδηγήσουν σε ενδιαφέροντα συμπεράσματα για το αν μία παράμετρος αυξάνει τη διακύμανση της εξόδου άμεσα ή μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλες παραμέτρους.



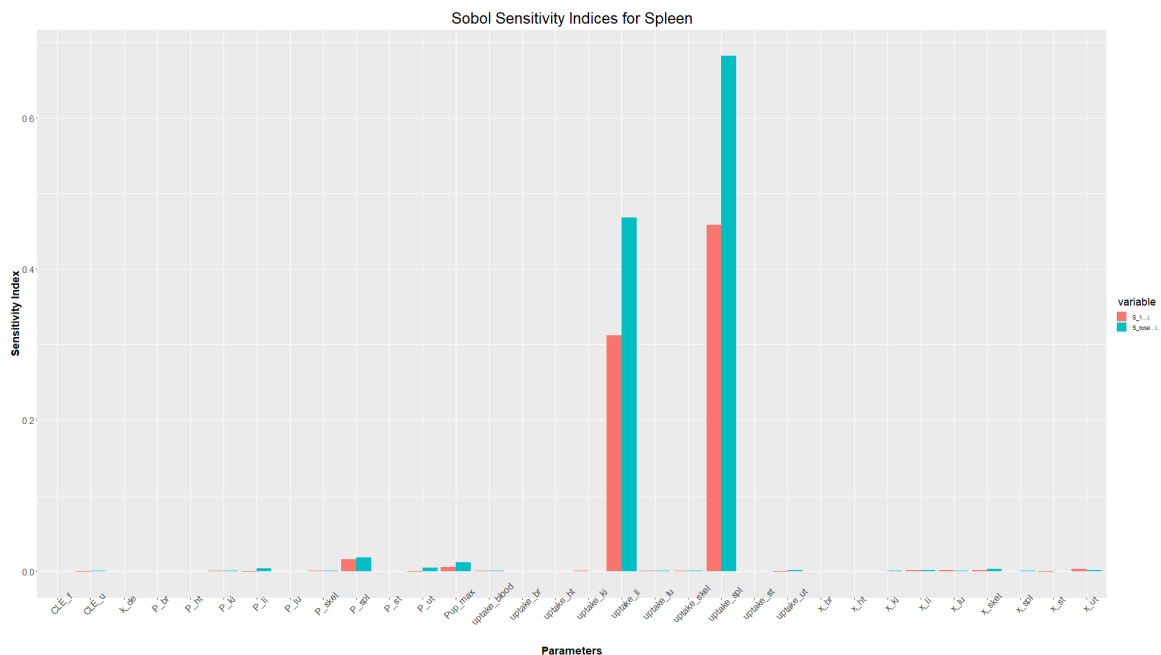
Σχήμα 5.2: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.

Ανάλογα διαγράμματα για τη μέθοδο Sobol έχουν εξαχθεί και για κάθε ένα διαμέρισμα ξεχωριστά. Συνοπτικά παρουσιάζονται τα διαγράμματα για το διαμέρισμα του ήπατος και της σπλήνας, καθώς

είναι τα δύο όργανα που συγκεντρώνουν τα μεγαλύτερα ποσοστά διοξειδίου του τιτανίου.



Σχήμα 5.3: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα του Ήπατος. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.

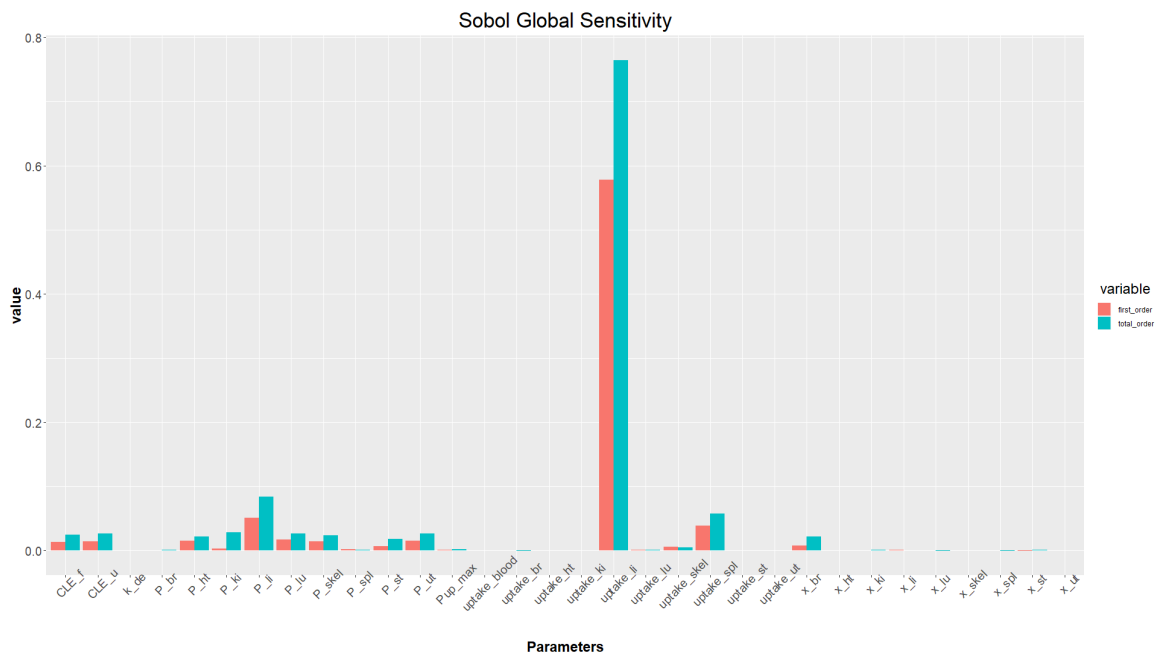


Σχήμα 5.4: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα της Σπλήνας. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2.

Παρατηρώντας τα δύο διαγράμματα 5.3 και 5.4, προκύπτουν πάλι παρόμοια συμπεράσματα, δηλαδή

οι παράμετροι $uptake_{li}$ και $uptake_{spl}$ είναι σημαντικές για τα διαμερίσματα του ήπατος και της σπλήνας αντίστοιχα. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο καθώς καθεμία από αυτές τις δύο παραμέτρους ρυθμίζει σε μεγάλο βαθμό την ποσότητα διοξειδίου του τιτανίου που μπορεί να διατηρήσει το ανάλογο όργανο. Το γεγονός ότι στο διάγραμμα των δεικτών για τη σπλήνα (σχήμα 5.4) η παράμετρος $uptake_{spl}$ υπολογίζεται ως σημαντικότερη σε σχέση με την $uptake_{li}$ έχει να κάνει με το εξεταζόμενο διαμέρισμα αυτό καθ' αυτό. Δηλαδή, εφόσον μετράται η ευαισθησία των παραμέτρων αποκλειστικά με βάση την έξοδο του διαμερίσματος της σπλήνας, είναι αναμενόμενο να δίνεται μεγαλύτερη βαρύτητα σε μία παράμετρο που επηρεάζει άμεσα το συγκεκριμένο διαμέρισμα, σε σχέση με τη βαρύτητα που θα δινόταν όταν μετράται η ευαισθησία της συνολικής σταθμισμένης εξόδου.

Το κοινό συμπέρασμα που μπορεί να εξαχθεί από τα διαγράμματα 5.1 και 5.2 των δύο μεθόδων είναι ότι οι παράμετροι $uptake_{li}$ και $uptake_{spl}$ είναι αρκετά σημαντικές για τη διαμόρφωση, όχι μόνο των αποτελεσμάτων στα διαμερίσματα του ήπατος και της σπλήνας, αλλά καθολικά.



Σχήμα 5.5: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας πρώτης και ολικής τάξης της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου, αναφορικά με το διαμέρισμα της Σπλήνας. Οι παράμετροι ακολουθούν λογαριθμική κανονική εκ των προτέρων κατανομή με $CV = 50\%$ και μέση τιμή αυτή που παρουσιάζεται στους πίνακες 5.1 και 5.2. Οι δείκτες Sobol κάθε παραμέτρου είναι υπολογισμένες ως ο μέσος όρος των δεικτών της παραμέτρου για κάθε διαμέρισμα.

Τέλος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου Sobol, όπως αυτά διαμορφώθηκαν θεωρώντας ότι όλα τα διαμερίσματα είναι ίσης βαρύτητας, δηλαδή τα αποτελέσματα δεν σταθμίστηκαν μέσω των πειραματικών δεδομένων. Παρατηρώντας το αντίστοιχο διάγραμμα 5.5, προκύπτει το

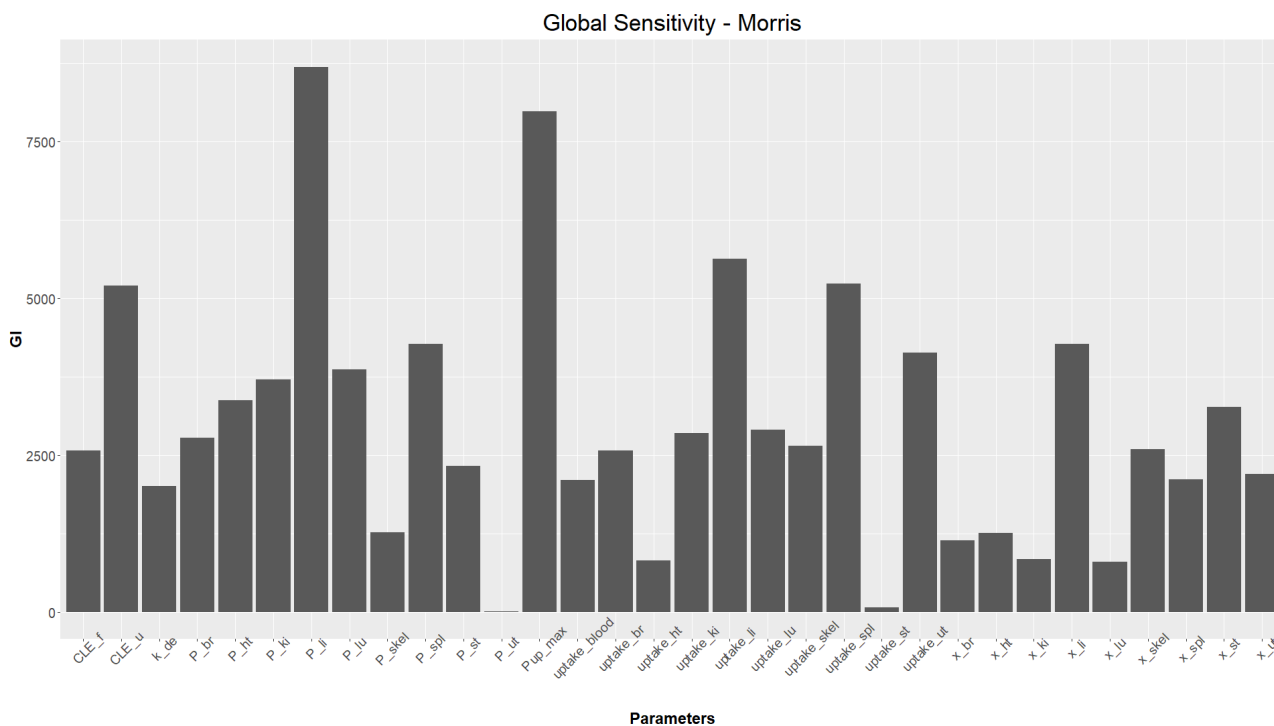
συμπέρασμα ότι περισσότερες παράμετροι θα μπορούσαν να θεωρηθούν σημαντικές. Όπως σε οποιαδήποτε άλλη περίπτωση μέχρι τώρα, έτσι κι εδώ η παράμετρος $uptake_{li}$ είναι με διαφορά η σημαντικότερη, ενώ και η παράμετρος $uptake_{spl}$ αναδεικνύεται ως σημαντική. Παρόλα αυτά, ορισμένες παράμετροι, όπως η P_{ut} και η x_{br} , εμφανίζονται με αυξημένους δείκτες παρόλο αφορούν διαμερίσματα τα οποία συγκεντρώνουν μηδαμινά ποσοστά της δόσης, συνεπώς θα έπρεπε να είναι μικρότερης βαρύτητας. Συνεπώς, η στάθμιση των δεικτών Sobol των παραμέτρων μέσω των πειραματικών δεδομένων οδηγεί σε ασφαλέστερα συμπεράσματα, καθώς μπορεί οι σημαντικότερες παράμετροι να μην διαφοροποιήθηκαν αλλά προτάθηκαν νέες οι οποίες αφορούν διαμερίσματα ελάχιστης σημασίας.

5.2.2 Αποτελέσματα Morris και Sobol για κατανομές δειγματοληψίας χωρίς πληροφορία

Η ολική ανάλυση ευαισθησίας των παραμέτρων ενός μοντέλου επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τα εύρη τιμών που δίνονται στις παραμέτρους. Στην προκειμένη περίπτωση, τα αποτελέσματα ευαισθησίας επηρεάζονται από την κατανομή δειγματοληψίας που λαμβάνουν οι παράμετροι. Για το λόγο αυτό, ελέγχθηκε η περίπτωση που δεν υπάρχει διαθέσιμη πληροφορία για τις κατανομές των παραμέτρων, ώστε να φανεί κατά πόσο επηρεάζουν οι κατανομές τα αποτελέσματα της ανάλυσης, με βάση τη μεθοδολογία που παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 4.4.

Παρατηρώντας τα διαγράμματα 5.6 και 5.7 προκύπτει το συμπέρασμα ότι και οι δύο μέθοδοι αναδεικνύουν περισσότερες παραμέτρους ως σημαντικές, σε σχέση με την προηγούμενη περίπτωση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι παράμετροι πλέον λαμβάνουν τιμές από ένα πολύ ευρύτερο σύνολο, με αποτέλεσμα σε ορισμένες δειγματοληψίες να παίρνουν με μεγαλύτερη συχνότητα πολύ μεγαλύτερες τιμές από αυτές που λάμβαναν όταν ακολουθούσαν στενότερες κατανομές, οι οποίες προκαλούν ανάλογα μεγάλες μεταβολές στις εξόδους του μοντέλου. Παρόλα αυτά, στα δύο διαγράμματα παρατηρείται ότι οι παράμετροι $uptake_{li}$, $uptake_{spl}$ και CLE_f συνεχίζουν να αναγνωρίζονται ως πολύ σημαντικές ανάμεσα σε άλλες παραμέτρους.

Επομένως, όταν η διαθέσιμη πληροφορία εκφράζεται μέσω των κατανομών δειγματοληψίας των παραμέτρων, η ολική ανάλυση ευαισθησίας μπορεί να οδηγήσει σε πιο ξεκάθαρα συμπεράσματα. Επίσης, από τα διαγράμματα 5.6 και 5.7 φαίνεται ότι η μέθοδος Morris αδυνατεί να ορίσει με σχετική σαφήνεια ποιες παράμετροι είναι σημαντικές, καθώς οι μόνες παράμετροι που μπορούν να

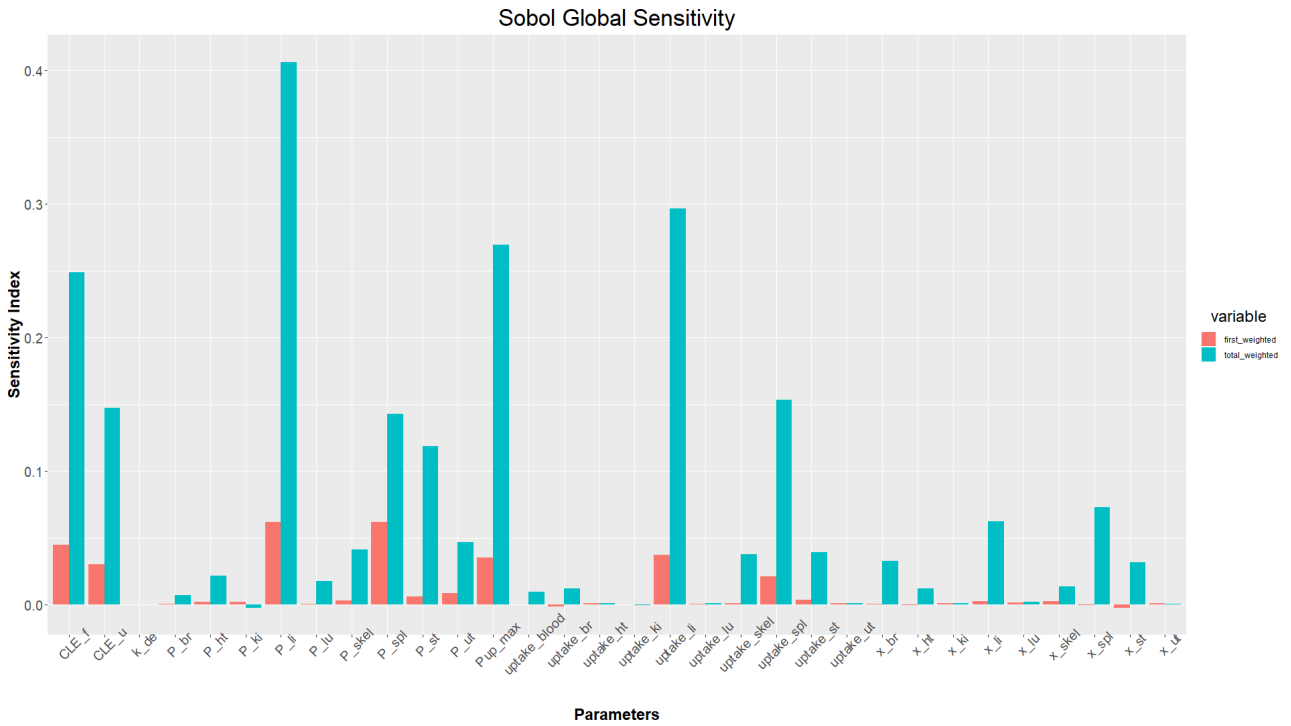


Σχήμα 5.6: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Morris για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή.

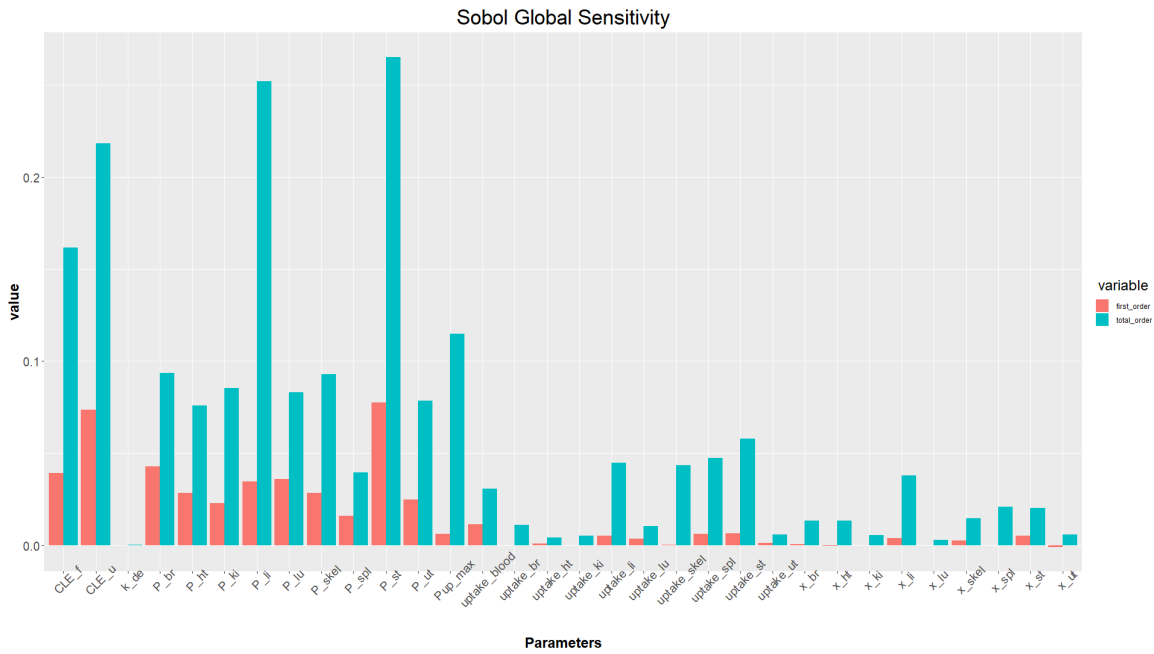
θεωρηθούν με βεβαιότητα ασήμαντες είναι μόνο η P_{ut} και η $uptake_{st}$.

Ωστόσο, σε αυτό το σημείο να τονιστεί ότι ο αριθμός δειγματοληψιών της informative και non-informative μεθοδολογίας ήταν οι ίδιες, γεγονός που μπορεί να έχει επηρεάσει τα αποτελέσματα. Επειδή τα εύρη των non informative κατανομών ήταν πολύ μεγαλύτερα, θα έπρεπε να δοκιμασθούν πολύ περισσότερες επαναλήψεις, το οποίο δεν πραγματοποιήθηκε για λόγους οικονομίας χρόνου. Σε αντίθεση με τη Morris, η μέθοδος Sobol προτείνει ένα αισθητά πιο περιορισμένο σεντ παραμέτρων ως σημαντικές, παρόλο που είναι και εδώ εμφανής η επιρροή της κατανομής των παραμέτρων στα αποτελέσματα της ανάλυσης.

Τέλος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου Sobol, όπως αυτά διαμορφώθηκαν θεωρώντας ότι όλα τα διαμερίσματα είναι ίσης βαρύτητας, δηλαδή τα αποτελέσματα δεν σταθμίστηκαν μέσω των πειραματικών δεδομένων, όπως ακριβώς έγινε και στην περίπτωση των informative κατανομών δειγματοληψίας. Σαφώς, τα συμπεράσματα για την επιρροή του τρόπου στάθμισης των διαμερισμάτων είναι ίδια, καθώς αυτή η δοκιμή οδήγησε σε ακόμα λιγότερο ξεκάθαρα αποτελέσματα, καθώς όπως φαίνεται στο σχήμα 5.8, το σεντ των παραμέτρων που αναδείχθηκαν ως σημαντικές είναι πολύ μεγαλύτερο.



Σχήμα 5.7: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή.



Σχήμα 5.8: Απεικόνιση των τιμών των δεικτών ευαισθησίας της μεθόδου Sobol για τις 32 παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι ακολουθούν uninformative uniform κατανομή. Οι δείκτες Sobol κάθε παραμέτρου είναι υπολογισμένες ως ο μέσος όρος των δεικτών της παραμέτρου για κάθε διαμέρισμα.

5.3 Επιλογή Παραμέτρων προς Προσδιορισμό

Μέσω της διαδικασίας προσέγγισης των τιμών των παραμέτρων με δοκιμή και σφάλμα, προέκυψε μία παραμετρική ομαδοποίηση, η οποία παρουσιάζεται με πιο συνεκτικό τρόπο στον πίνακα 5.3. Ωστόσο, επειδή ο προσδιορισμός 14 διαφορετικών παραμέτρων ήταν πρακτικά αδύνατος, διότι το μοντέλο αντιμετώπιζε προβλήματα ταυτοποιησιμότητας και αδυναμίας σύγκλισης, έγινε προσπάθεια προσδιορισμού των πιο σημαντικών παραμέτρων από αυτές που αναγράφονται στον πίνακα 5.3. Συγκεκριμένα, ελέγχθηκαν έξι διαφορετικές περιπτώσεις, οι οποίες διέφεραν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των παραμέτρων που προσδιορίζονται και τον αριθμό των προσθετικών σφαλμάτων του στατιστικού μοντέλου, όπως παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 4.5. Η επιλογή του τελικού μοντέλου έγινε με τη χρήση του PBPK Index, δηλαδή το μοντέλο με τον μικρότερο δείκτη θεωρήθηκε το καλύτερο.

Πίνακας 5.3: Ομαδοποίηση και σύνοψη παραμέτρων του μοντέλου

Παράμετρος	Τιμή
x_{fast}	3
x_{slow}	0.0001
x_{br}	0.00001
P_{li}	20
P_{st}	0.06
P_{rest}	0.8
P_{upmax}	20
$uptake$	0.1
$uptake_{spl}$	3
$uptake_{li}$	16
$uptake_{st}$	0.01
k_{de}	$4.9 \cdot 10^{-19}$
CLE_f	0.0006
CLE_u	0.24

Προκειμένου να προκύψει το βέλτιστο μοντέλο ελέγχθηκαν διάφορες παραλλαγές. Η λογική που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: αρχικά οι παράμετροι που επιλέχθηκαν να εκτιμηθούν μέσω των δεδομένων είναι η χωρητικότητα των φαγοκυττάρων του ήπατος σε νανοσωματίδια ($uptake_{li}$), η χωρητικότητα των φαγοκυττάρων της σπλήνας ($uptake_{spl}$) και η γενική χωρητικότητα φαγοκυττάρων για τα υπόλοιπα όργανα ($uptake$), ενώ το μοντέλο περιγράφεται από ένα ενιαίο στατιστικό σφάλμα για όλα τα διαμερίσματα. Στη συνέχεια, αυξήθηκε το παραμετρικό σετ που προσεγγίζεται κατά μία παράμετρο, το συντελεστή κατανομής αίματος-ιστού (P_{rest}), και έγινε εκτίμηση των 4 πα-

ραμέτρων μέσω των δεδομένων. Έπειτα, ελέγχθηκε η δοκιμή εκτίμησης μίας επιπλέον παραμέτρου, του ρυθμού ηπατοχολικής απέκκρισης (CLE_f). Τέλος, για κάθε σετ στοχαστικών παραμέτρων που εκτιμήθηκε, δοκιμάστηκε η εφαρμογή τριών στατιστικών σφάλματων. Συγκεκριμένα, τα διαμερίσματα του ήπατος, της σπλήνας, του αίματος και του σκελετού έχουν την ίδια παράμετρο στατιστικού σφάλματος. Τα διαμερίσματα των νεφρών, των πνευμόνων, των μαλακών ιστών, των κοπράνων και των ούρων χαρακτηρίζονται από τη δεύτερη παράμετρο στατιστικού σφάλματος, ενώ τα υπολειπόμενα όργανα χαρακτηρίζονται από την τρίτη παράμετρο στατιστικού σφάλματος. Η ομαδοποίηση αυτή βασίστηκε με βάση το τετραγωνικό σφάλμα κάθε διαμερίσματος του μοντέλου, όπως αυτό υπολογίστηκε στη δοκιμή του πρώτου μοντέλου, των τριών παραμέτρων και του ενός στατιστικού σφάλματος. Έτσι τα διαμερίσματα που είχαν παρόμοια τιμή τετραγωνικού σφάλματος ομαδοποιήθηκαν και δημιουργήθηκαν τρία γκρουπ διαμερισμάτων, το καθένα με διαφορετικό στατιστικό σφάλμα. Συνεπώς ελέγχθηκαν συνολικά 6 μοντέλα, των οποίων οι δείκτες PBPk Index παρουσιάζονται στον πίνακα 5.4.

Επομένως, το καλύτερο μοντέλο με βάση τον πίνακα 5.4 ήταν αυτό στο οποίο εκτιμήθηκαν μέσω των δεδομένων οι ακόλουθες παράμετροι: $uptake_{li}$, $uptake_{spl}$, $uptake$, P_{rest} και CLE_f και ενσωματώνει τρεις διαφορετικές παραμέτρους για τον προσδιορισμό του στατιστικού σφάλματος στα διαμερίσματα του μοντέλου.

Πίνακας 5.4: PBPΚ Index για τα 6 μοντέλα.

Αριθμός παραμέτρων	Αριθμός σφαλμάτων	PBPΚ Index
3	1	2.798
3	3	2.364
4	1	2.790
4	3	1.670
5	1	2.723
5	3	1.627

Τα αποτελέσματα της εκτίμησης του έκτου μοντέλου παρουσιάζονται στην εικόνα 5.9.

```
Inference for Stan model: Fit TiO2 IV2_12.
4 chains, each with iter=1000; warmup=500; thin=1;
post-warmup draws per chain=500, total post-warmup draws=2000.
```

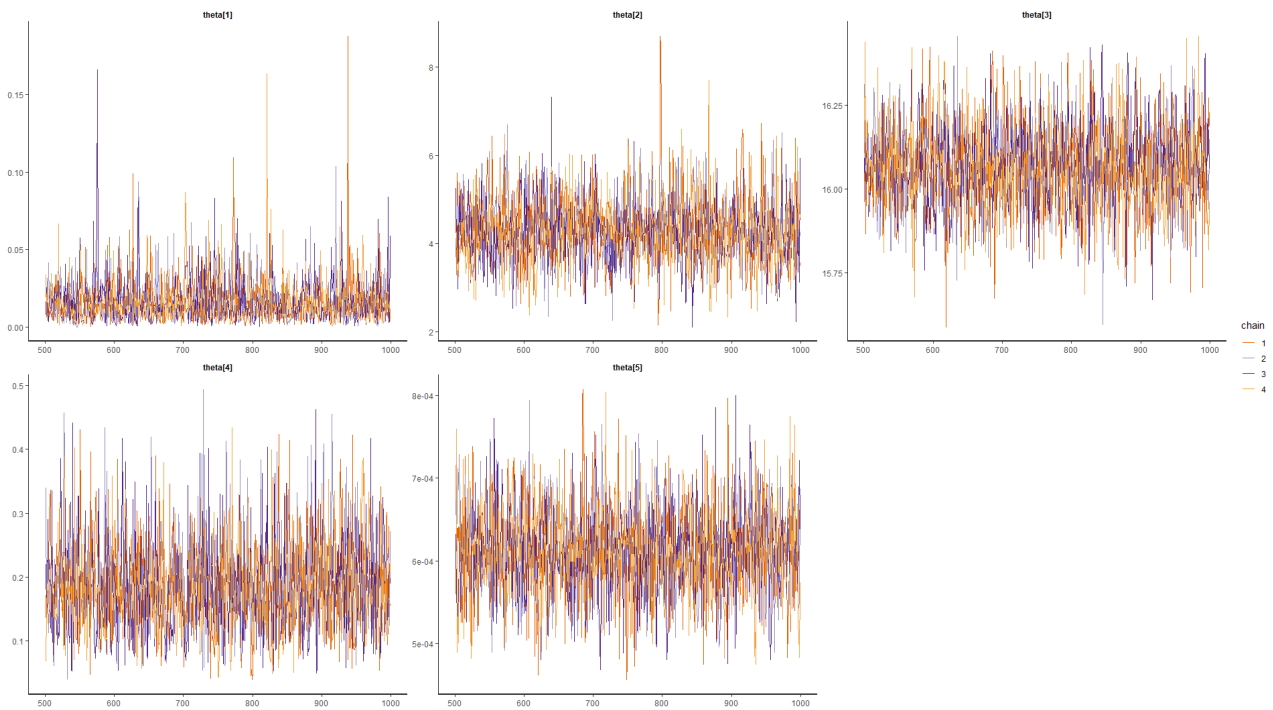
	mean	se_mean	sd	2.5%	25%	50%	75%	97.5%	n_eff	Rhat
sigma[1]	0.2185	0.0007	0.0303	0.1683	0.1969	0.2157	0.2371	0.2882	2138	0.9992
sigma[2]	0.0360	0.0001	0.0035	0.0298	0.0335	0.0359	0.0382	0.0433	2284	0.9989
sigma[3]	0.0015	0.0000	0.0003	0.0011	0.0013	0.0015	0.0017	0.0022	1821	0.9986
theta[1]	0.0168	0.0004	0.0150	0.0019	0.0069	0.0128	0.0221	0.0539	1634	0.9986
theta[2]	4.2949	0.0180	0.7730	2.8866	3.7786	4.2564	4.7706	5.9457	1853	0.9995
theta[3]	16.0666	0.0030	0.1316	15.8128	15.9793	16.0645	16.1549	16.3340	1944	1.0001
theta[4]	0.1858	0.0016	0.0740	0.0699	0.1313	0.1764	0.2313	0.3557	2022	1.0009
theta[5]	0.0006	0.0000	0.0001	0.0005	0.0006	0.0006	0.0006	0.0007	2312	0.9995
lp__	162.8840	0.0636	1.9857	158.0315	161.7496	163.2288	164.3015	165.7944	975	1.0049

Σχήμα 5.9: Αποτελέσματα εκτίμησης των 5 παραμέτρων και των τριών στατιστικών σφαλμάτων. Ο αριθμός των μαρκοβιανών αλυσίδων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 4, ενώ ο αριθμός των επαναλήψεων κάθε αλυσίδας ήταν 1000, εκ των οποίων οι 500 ήταν warm-up. Οι παράμετροι θ με τη σειρά που παρουσιάζονται αντιστοιχούν στις παραμέτρους $uptake$, $uptake_{spl}$, $uptake_{ti}$, P_{rest} και CLE_f .

Η σύγκλιση των τεσσάρων Μαρκοβιανών αλυσίδων για τις 5 στοχαστικές παραμέτρους και τα τρία διαφορετικά στατιστικά σφάλματα παρουσιάζονται στα διαγράμματα 5.10 και 5.11.

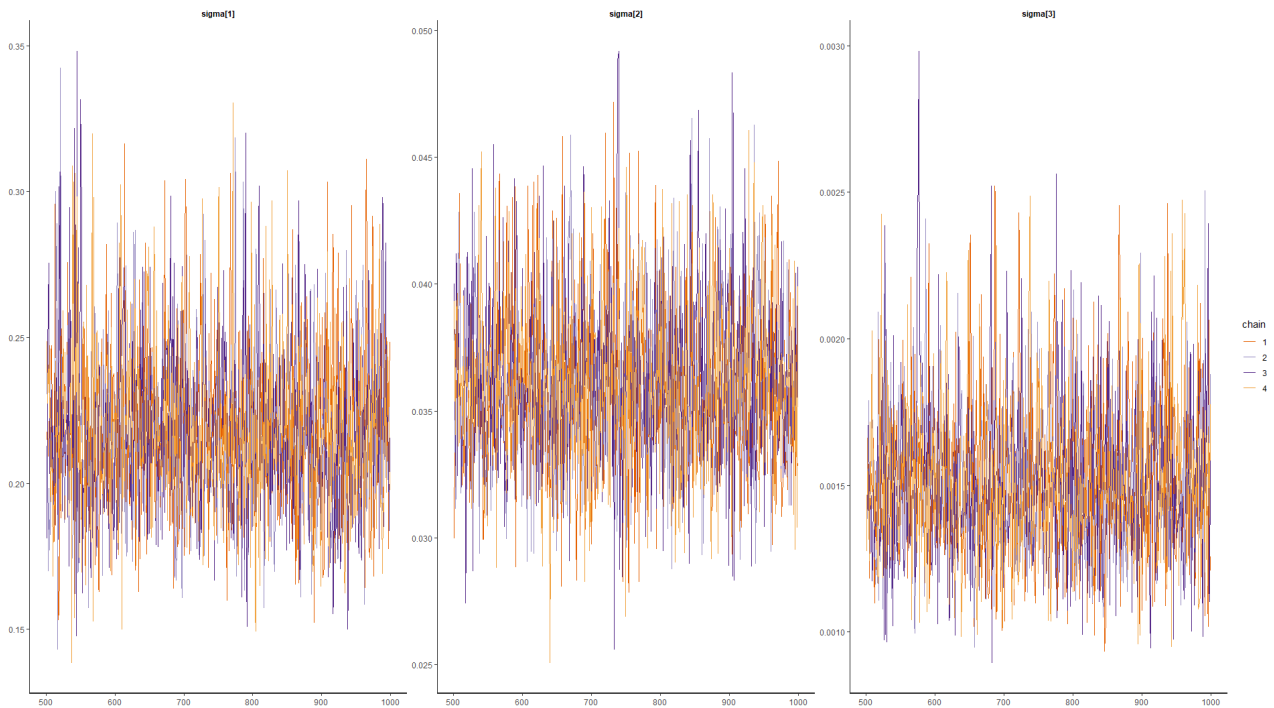
Έπειτα από την εκτίμηση των παραμέτρων κάθε μοντέλου μέσω των πειραματικών δεδομένων, πραγματοποιούνταν έλεγχος σύγκλισης των Μαρκοβιανών αλυσίδων, καθώς μόνο τότε είναι αποδεκτά τα αποτελέσματα. Αρχικά, η σύγκλιση των Μαρκοβιανών αλυσίδων πραγματοποιείται εύκολα μέσω οπτικού ελέγχου των διαγραμμάτων 5.10 και 5.11, που αφορούν τα αποτελέσματα του επικρατέστερου μοντέλου, στα οποία φαίνεται ότι οι τέσσερις Μαρκοβιανές αλυσίδες έχουν συγχλίνει για όλες τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν, καθώς και για τα τρία στατιστικά σφάλματα.

Η σύγκλιση των Μαρκοβιανών αλυσίδων μπορεί να ελεγχθεί και μέσω του αριθμητικού δείκτη R_{hat} . Ο αριθμός R_{hat} ισούται με το λόγο της διακύμανσης κάθε αλυσίδας (within variance) προς



Σχήμα 5.10: Αποτελέσματα σύγκλισης των 4 Μαρκοβιανών αλυσίδων για τις στοχαστικές παραμέτρους του μοντέλου. Οι παράμετροι θ με τη σειρά που παρουσιάζονται αντιστοιχούν στις παραμέτρους $uptake$, $uptake_{spl}$, $uptake_{li}$, P_{rest} και CLE_f .

τη διακύμανση που παρατηρείται μεταξύ των αλυσίδων (between variance). Επομένως, όταν η τιμή του R_{hat} είναι ίση με τη μονάδα, τότε έχει επέλθει πλήρης σύγκλιση των αλυσίδων. Ωστόσο, οποιαδήποτε τιμή μικρότερη του 1.1 είναι αποδεκτή και θεωρείται ότι οι Μαρκοβιανές αλυσίδες έχουν συγκλίνει. Συνεπώς, παρατηρώντας το σχήμα 5.9 φαίνεται ότι οι Μαρκοβιανές αλυσίδες έχουν συγκλίνει για όλες τις παραμέτρους, καθώς οι τιμές R_{hat} για κάθε παράμετρο είναι πολύ κοντά στη μονάδα και μικρότερες του 1.1.



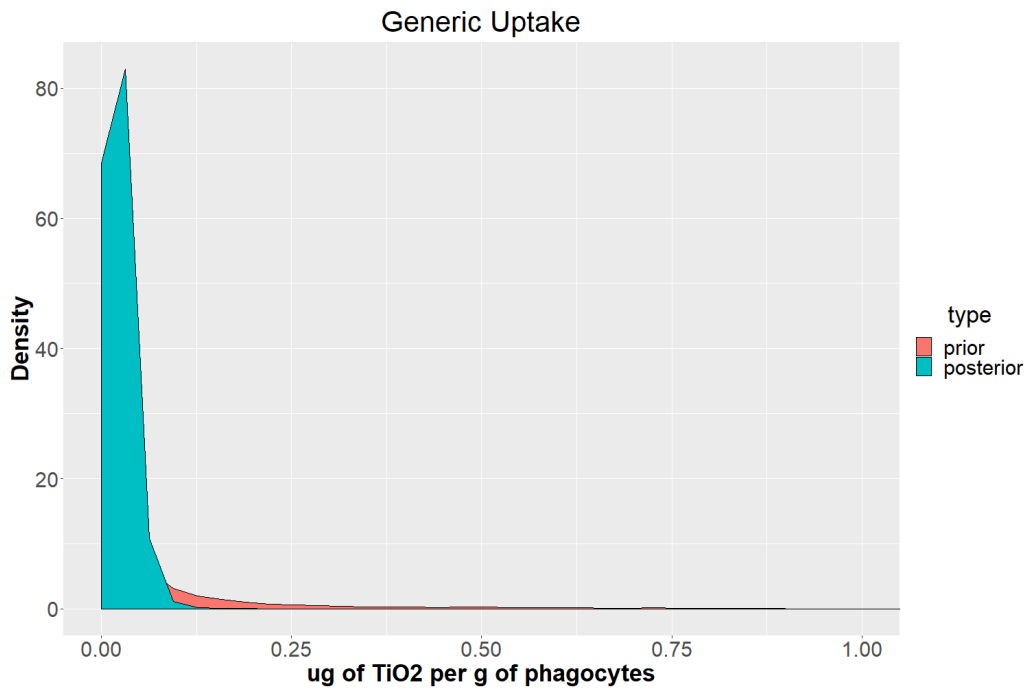
Σχήμα 5.11: Αποτελέσματα σύγκλισης των 4 Μαρκοβιανών αλυσίδων για τα τρία στατιστικά σφάλματα. Η παράμετρος $\sigma[1]$ αντιστοιχεί στο στατιστικό σφάλμα της πρώτης ομάδας διαμερισμάτων (ήπαρ, σπλήνα, σκελετός, αίμα), η παράμετρος $\sigma[2]$ αντιστοιχεί στο στατιστικό σφάλμα της δεύτερης ομάδας διαμερισμάτων (νεφροί, πνεύμονες, μαλακοί ιστοί, κόπρανα, ούρα) και η παράμετρος $\sigma[3]$ αντιστοιχεί στα υπόλοιπα διαμερίσματα (καρδιά, εγκέφαλος, μήτρα).

5.4 Σύγκριση εκ των προτέρων και εκ των υστέρων κατανομών

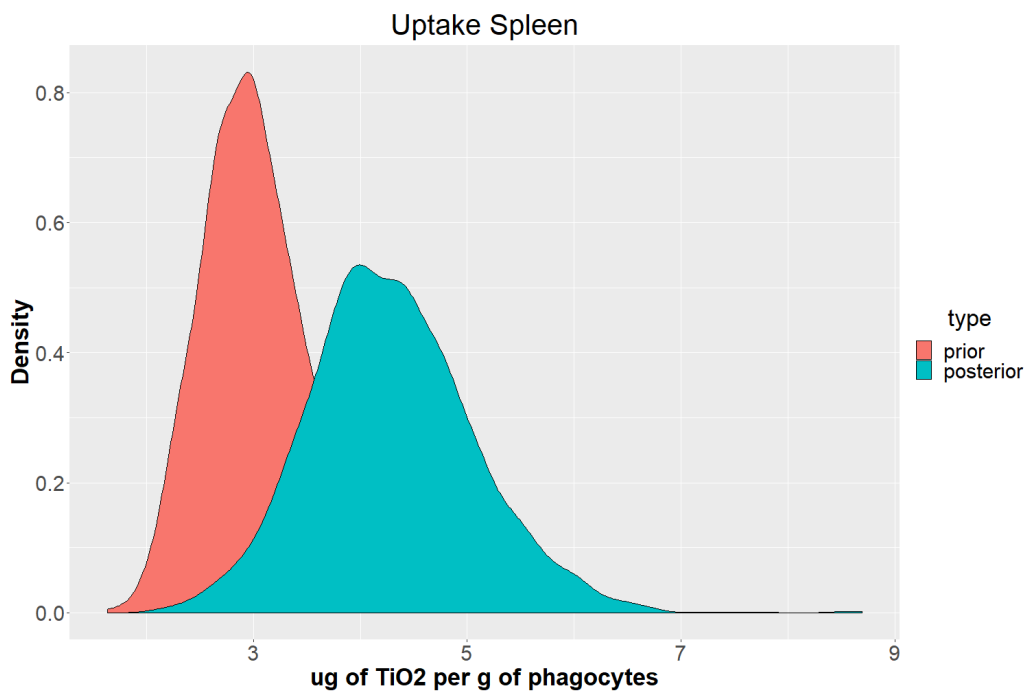
Προκειμένου να γίνουν πιο κατανοητά τα αποτελέσματα του στατιστικού μοντέλου, παρουσιάζονται σε διαγράμματα οι εκ των προτέρων και οι εκ των υστέρων κατανομές κάθε παραμέτρου που εκτιμήθηκε. Βασικός στόχος του στατιστικού μοντέλου ήταν η μείωση της αβεβαιότητας που περιέχεται στην εκ των προτέρων πληροφορία που είναι διαθέσιμη για κάθε παράμετρο.

Παρατηρώντας πρώτα το διάγραμμα της γενικής παραμέτρου χωρητικότητας νανοσωματιδίων στα φαγοκύτταρα (σχήμα 5.12), παρατηρείται μία μικρή ελάττωση τη αβεβαιότητας που ενσωματώνεται στην κατανομή της. Αναφορικά με την ίδια παράμετρο για το διαμέρισμα της σπλήνας (σχήμα 5.13) παρατηρείται μικρή αύξηση του εύρους της εκ των υστέρων κατανομής σε σχέση με την εκ των προτέρων, ενώ έχει μετατοπιστεί και το κέντρο της σε ελαφρώς μεγαλύτερη τιμή. Αρκετά διαφορετική είναι η εικόνα που λαμβάνεται από το διάγραμμα για την παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων στα φαγοκύτταρα του ήπατος (σχήμα 5.14). Στην περίπτωση αυτή, η αβεβαιότητα που φέρει η εκ των υστέρων κατανομή έχει μειωθεί σημαντικά σε σχέση με αυτή της εκ των προτέρων κατανομής, ενώ φαίνεται να έχει μετατοπιστεί ελάχιστα η κορυφή της. Ανάλογη είναι η εικόνα που λαμβάνεται από το διάγραμμα 5.15, το οποίο αφορά το γενικό συντελεστή κατανομής νανοσωματιδίων ανάμεσα στο αίμα και τους ιστούς. Παρατηρείται ότι το εύρος της εκ των υστέρων κατανομής είναι στενότερο, δηλαδή έχει μειωθεί η αβεβαιότητα για τη συγκεκριμένη παράμετρο. Τελευταία παράμετρος που εκτιμήθηκε μέσω των δεδομένων είναι ο ρυθμός ηπατοχολικής απέκκρισης νανοσωματιδίων. Στην περίπτωση αυτής της παραμέτρου παρατηρείται ταυτόχρονη μετατόπιση της κατανομής σε ελαφρώς μεγαλύτερη τιμή, ενώ η μεταβολή της διακύμανσης μεταξύ των δύο κατανομών δεν είναι ξεκάθαρη με τον οπτικό έλεγχο (σχήμα 5.16).

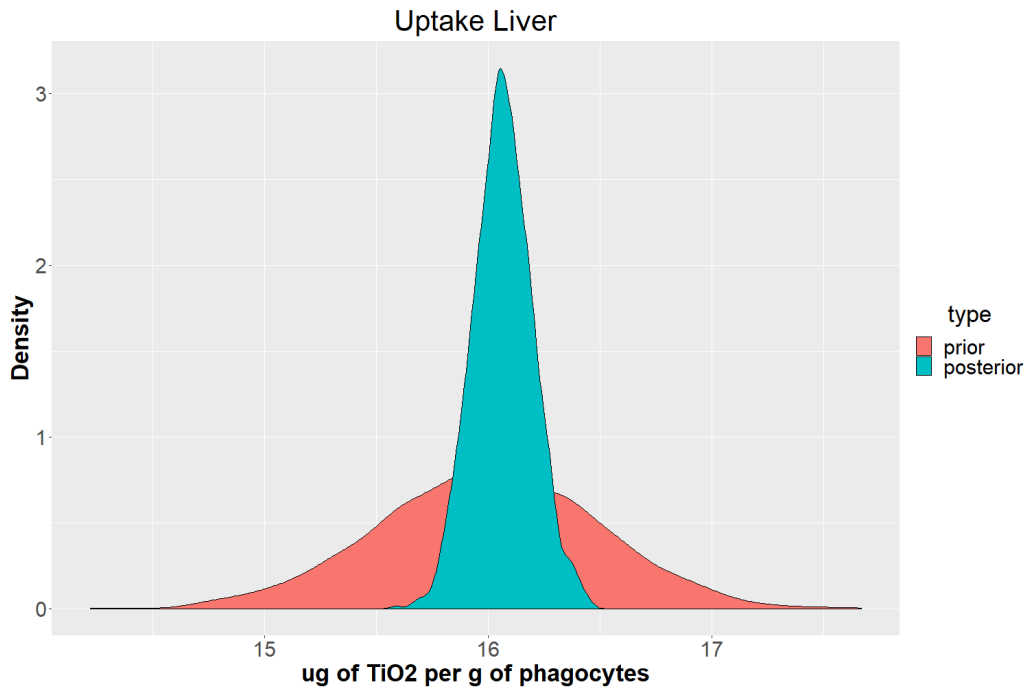
Συνοψίζοντας, με την παρατήρηση διαγραμμάτων σύγκρισης των εκ των προτέρων και των εκ των υστέρων κατανομών κάθε παραμέτρου μπορεί να αξιολογηθεί το στατιστικό μοντέλο ως προς έναν από τους στόχους του, δηλαδή αν μειώθηκε η αβεβαιότητα της ήδη υπάρχουσας πληροφορίας για τις παραμέτρους μέσω της χρήσης της πληροφορίας που υπάρχει στα πειραματικά δεδομένα. Σε αυτόν τον τομέα, φάνηκε ότι το μοντέλο ανταποκρίθηκε επαρκώς, καθώς παρατηρείται μείωση της αβεβαιότητας σχεδόν σε όλες τις στοχαστικές παραμέτρους που προσεγγίστηκαν, ενώ κατάφερε να επανεκτιμήσει τα κέντρα των κατανομών τους, όπου αυτό ήταν αναγκαίο



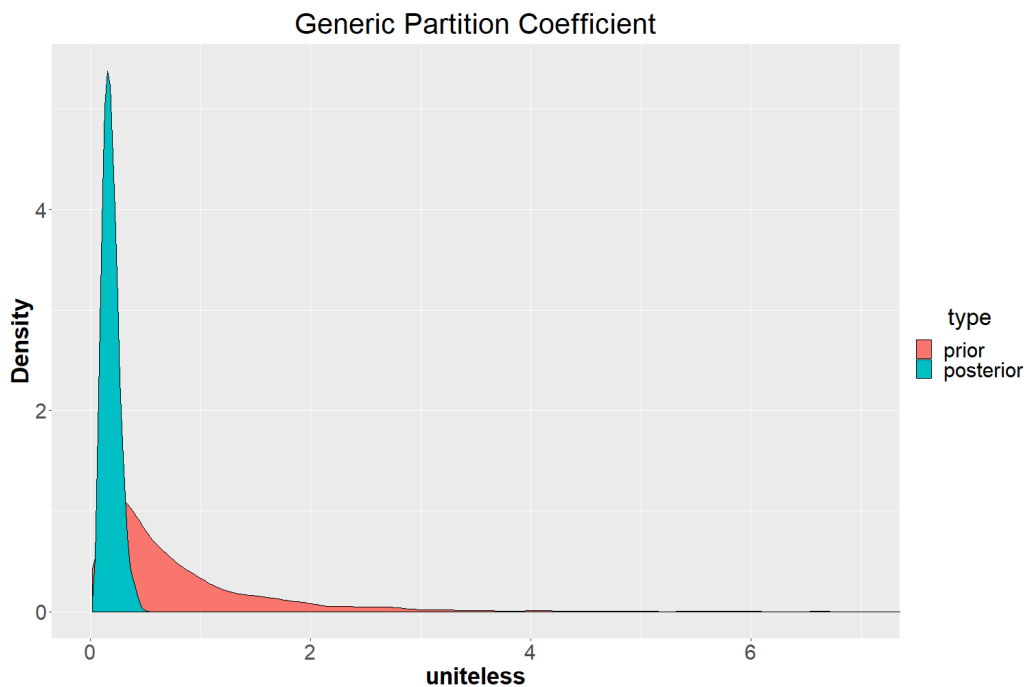
Σχήμα 5.12: Σύγκριση εκ των προτέρων και εκ των υστέρων κατανομής για τη γενική παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων ($uptake$). Ο άξονας x που παρουσιάζεται σε αυτό το διάγραμμα είναι περιορισμένος για καλύτερη παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Ο πραγματικός άξονας δίνει πολύ μικρή πυκνότητα για την prior μέχρι την τιμή 15.



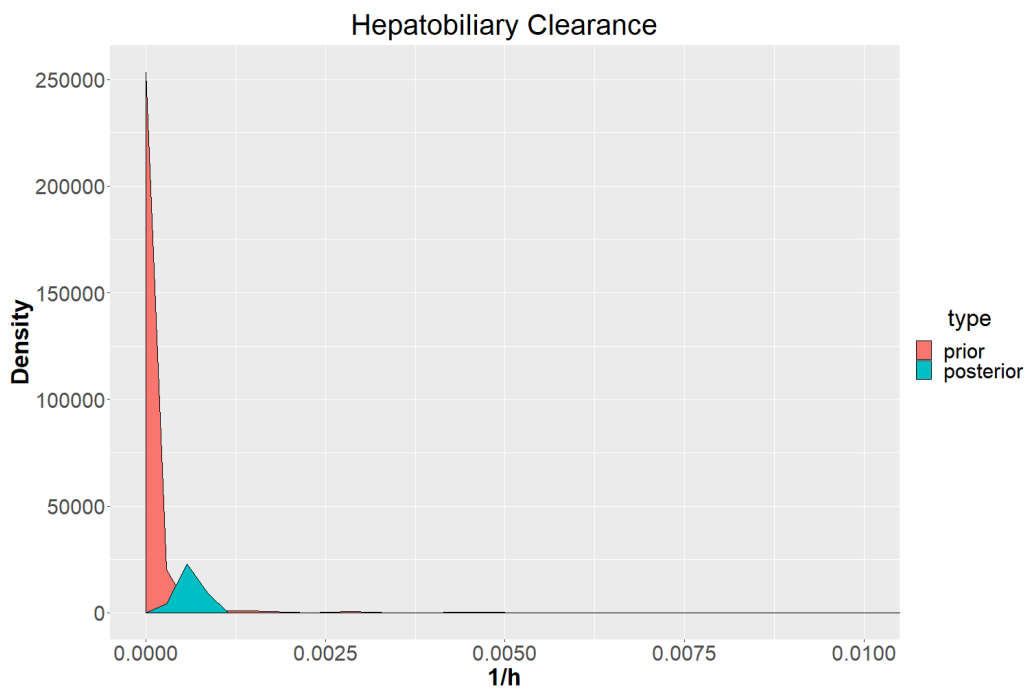
Σχήμα 5.13: Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για τη παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων στη Σπλήνα ($uptake_{spl}$).



Σχήμα 5.14: Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για τη παράμετρο χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων στο Ήπαρ ($uptake_{li}$).



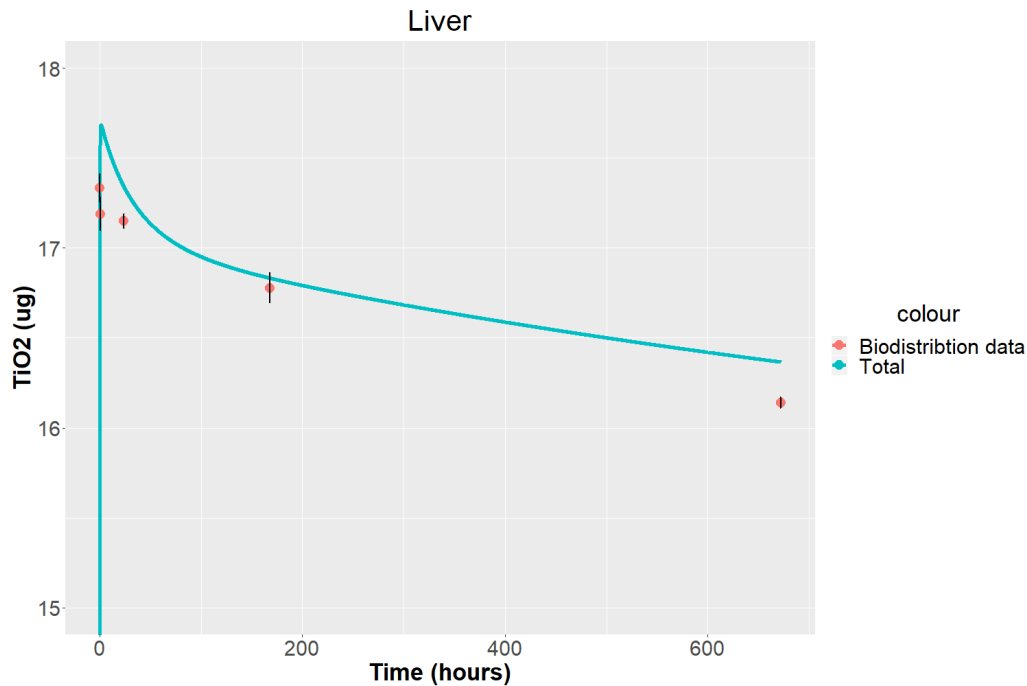
Σχήμα 5.15: Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για το γενικό συντελεστή κατανομής αίματος-ιστού (P_{rest}).



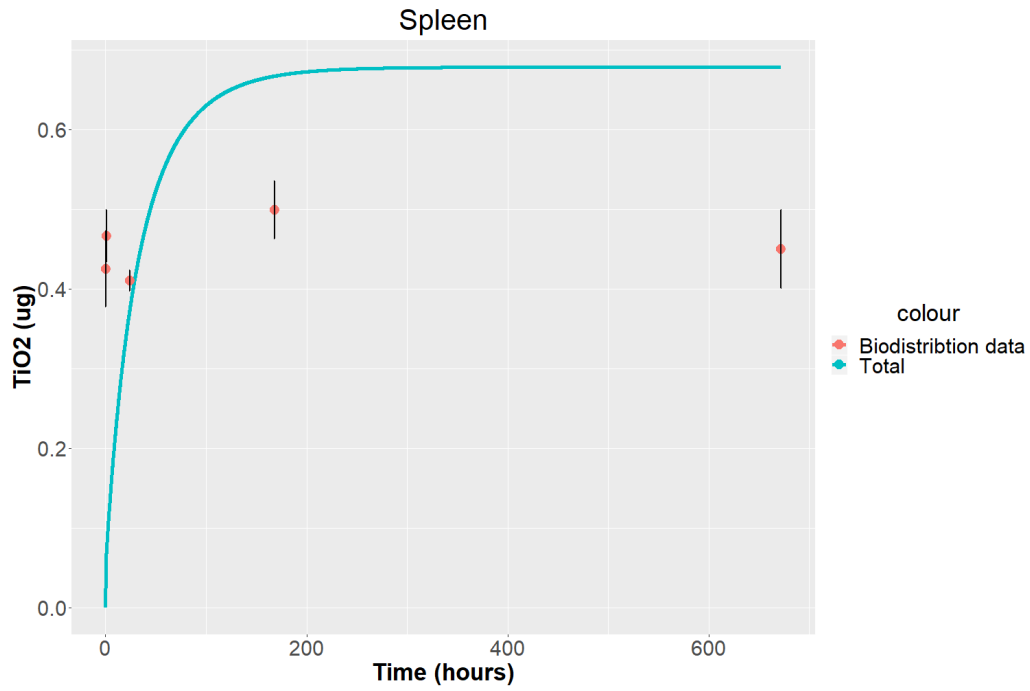
Σχήμα 5.16: Σύγκριση της εκ των προτέρων και της εκ των υστέρων κατανομής για το ρυθμό ηπατοχολικής απέκκρισης (CLE_f). Ο άξονας x που παρουσιάζεται σε αυτό το διάγραμμα είναι περικομμένος για καλύτερη παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Ο πραγματικός άξονας δίνει πολύ μικρή πυκνότητα για την prior μέχρι την τιμή 0.15.

5.5 Προσαρμογή μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα

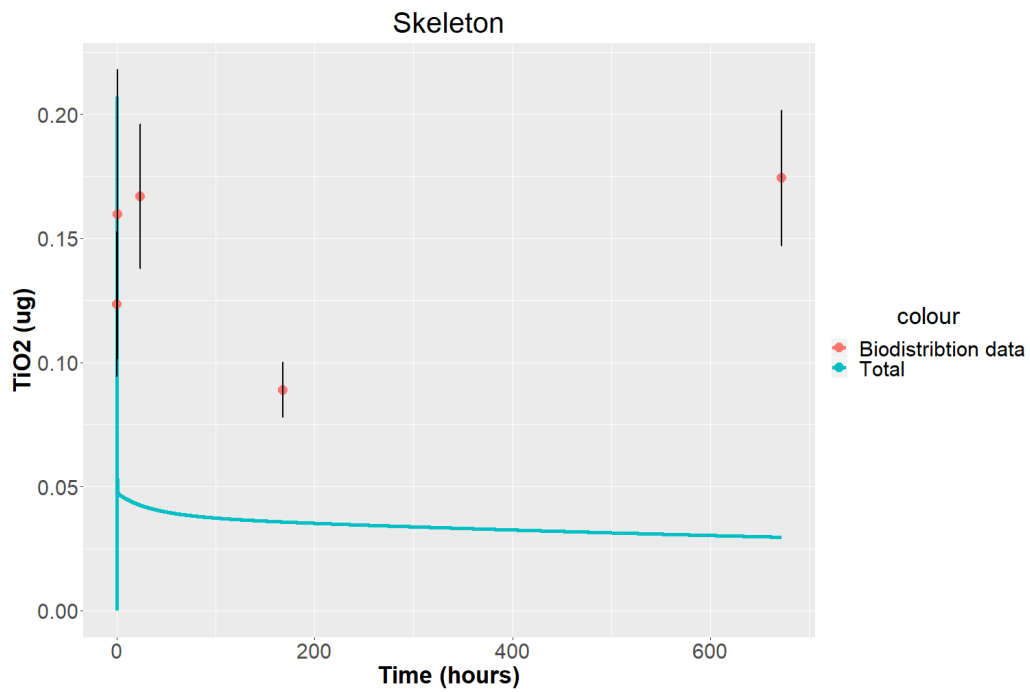
Η αξιολόγηση της εκτίμησης των 5 στοχαστικών παραμέτρων του μοντέλου πραγματοποιείται με τη χρήση διαγραμμάτων της μάζας διοξειδίου του τιτανίου που προβλέπεται σε κάθε όργανο ως προς το χρόνο και σύγκριση αυτής της καμπύλης με τα πειραματικά δεδομένα. Μέσω αυτών των διαγραμμάτων είναι εύκολη η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του μοντέλου για κάθε διαμέρισμα ξεχωριστά. Για το σχεδιασμό των διαγραμμάτων αυτών, οι πέντε παράμετροι που εκτιμήθηκαν μέσω των δεδομένων λαμβάνουν ως τιμή τη μέση τιμή που προέκυψε από από την επαναληπτική διαδικασία, δηλαδή έλαβαν τις τιμές της στήλης «*mean*» του σχήματος 5.9. Έπειτα, χρησιμοποιώντας αυτές τις τιμές των παραμέτρων, υπολογίστηκε η προβλεπόμενη μάζα νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου που περιέχεται σε κάθε όργανο κάθε χρονική στιγμή μέσα στο χρονικό διάστημα που υπάρχουν διαθέσιμες πειραματικές μετρήσεις.



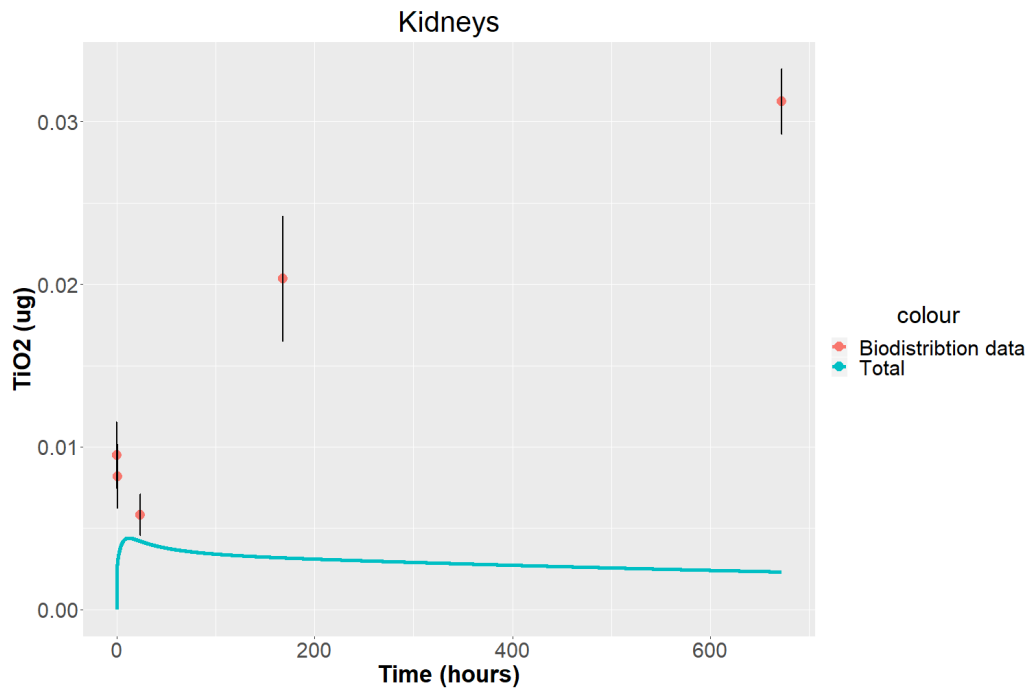
Σχήμα 5.17: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα του Ήπατος.



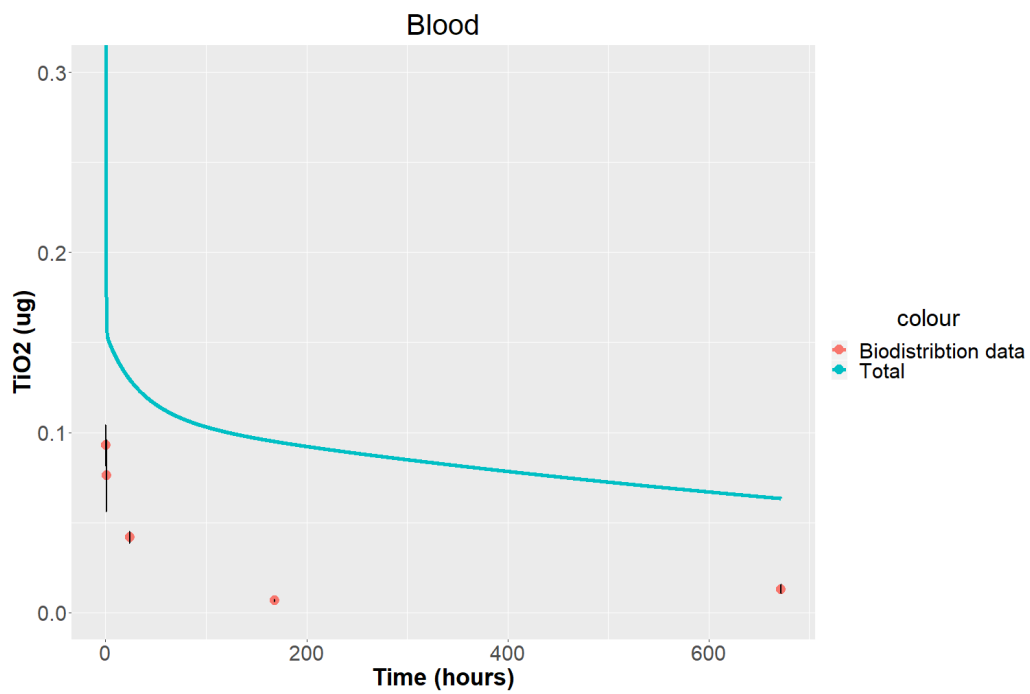
Σχήμα 5.18: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Σπλήνας.



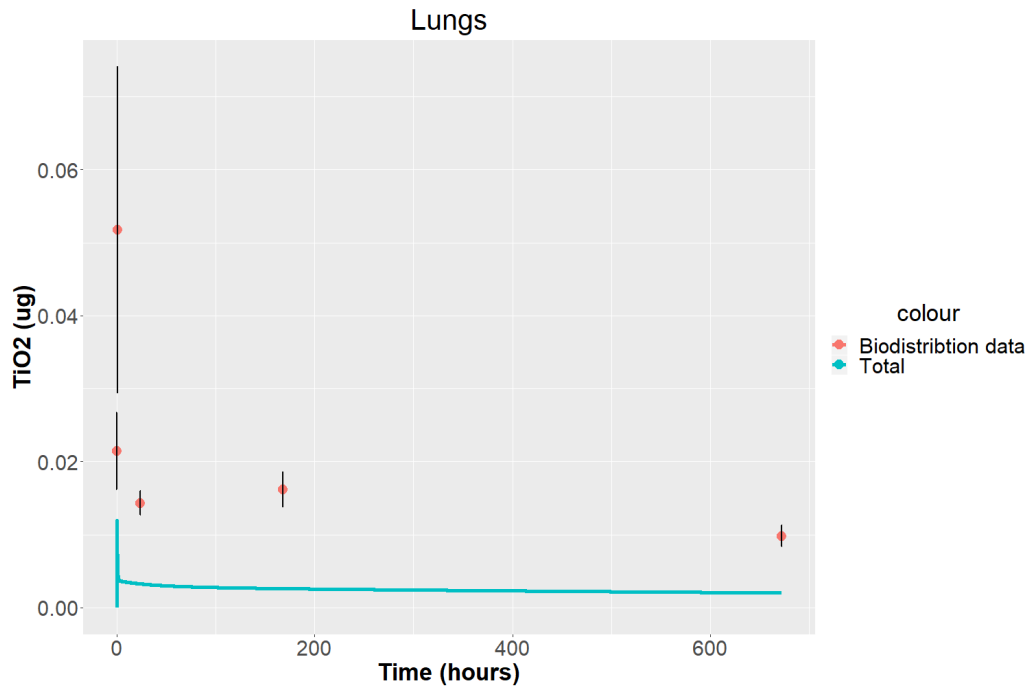
Σχήμα 5.19: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Σκελετού.



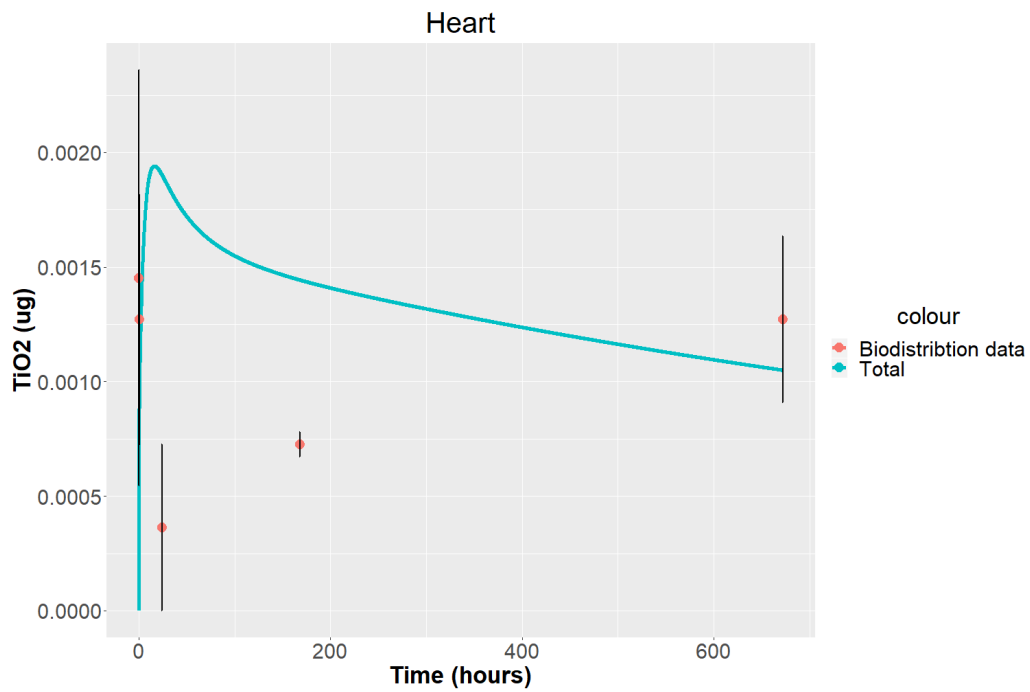
Σχήμα 5.20: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Νεφρών.



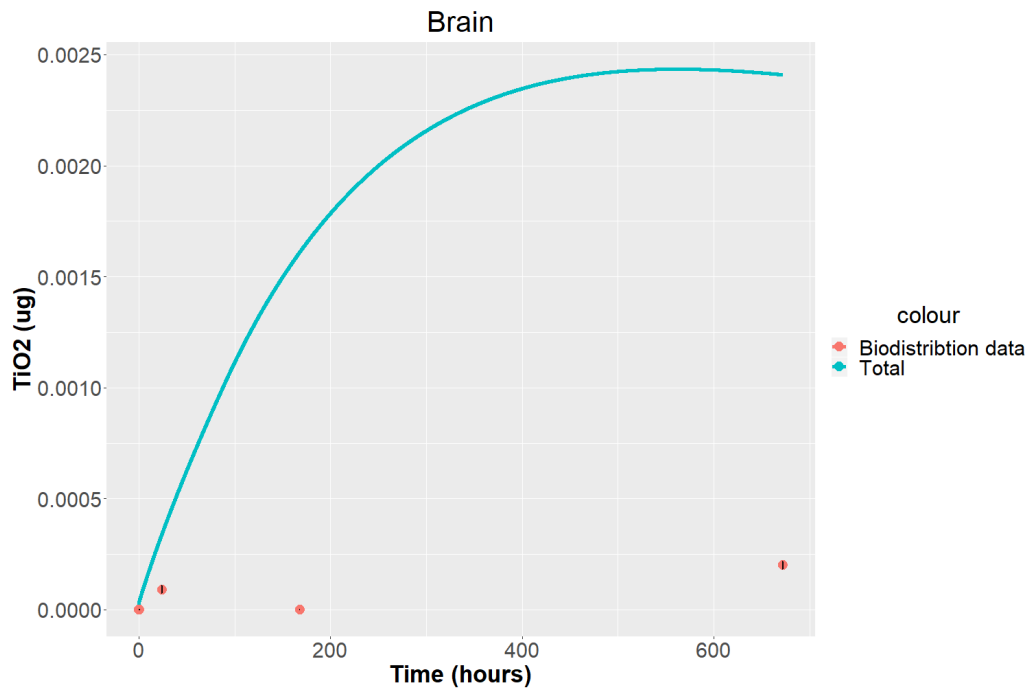
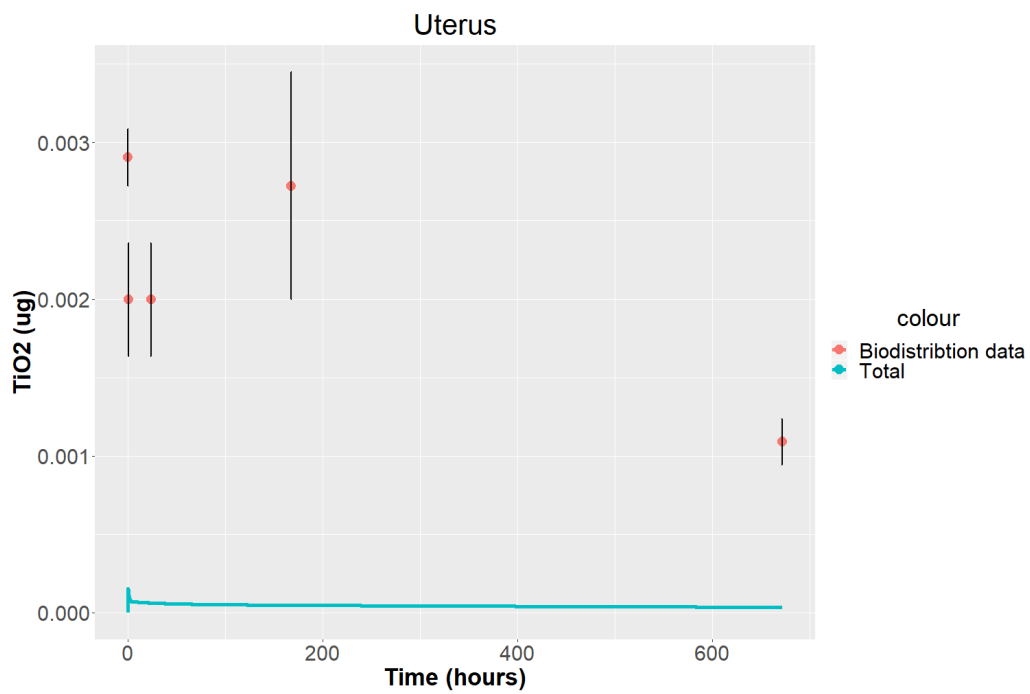
Σχήμα 5.21: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Αίματος.

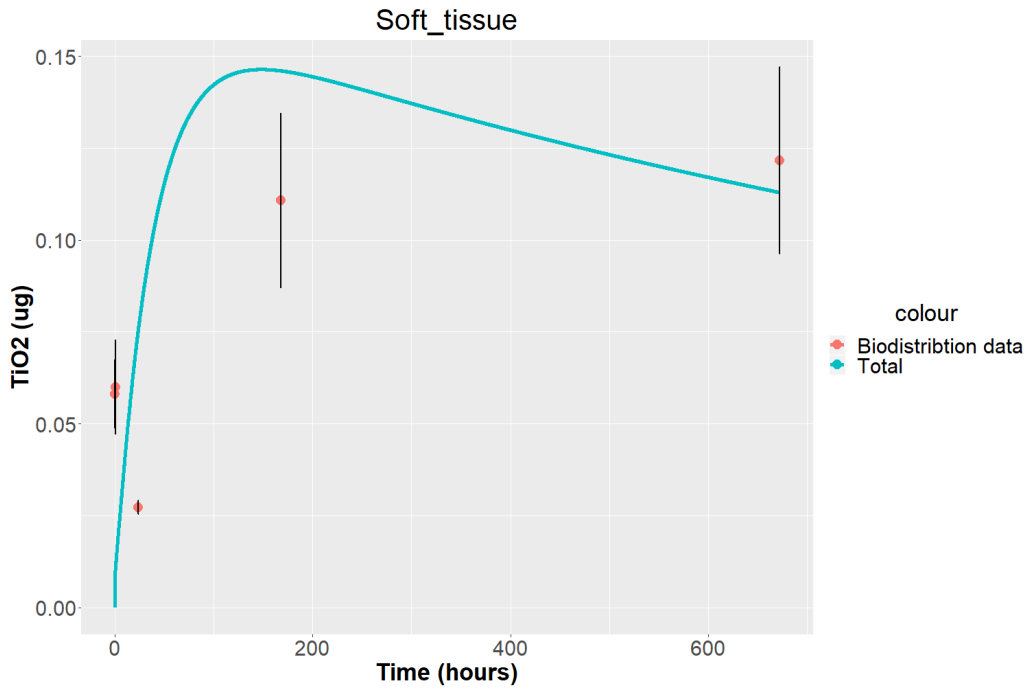


Σχήμα 5.22: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.

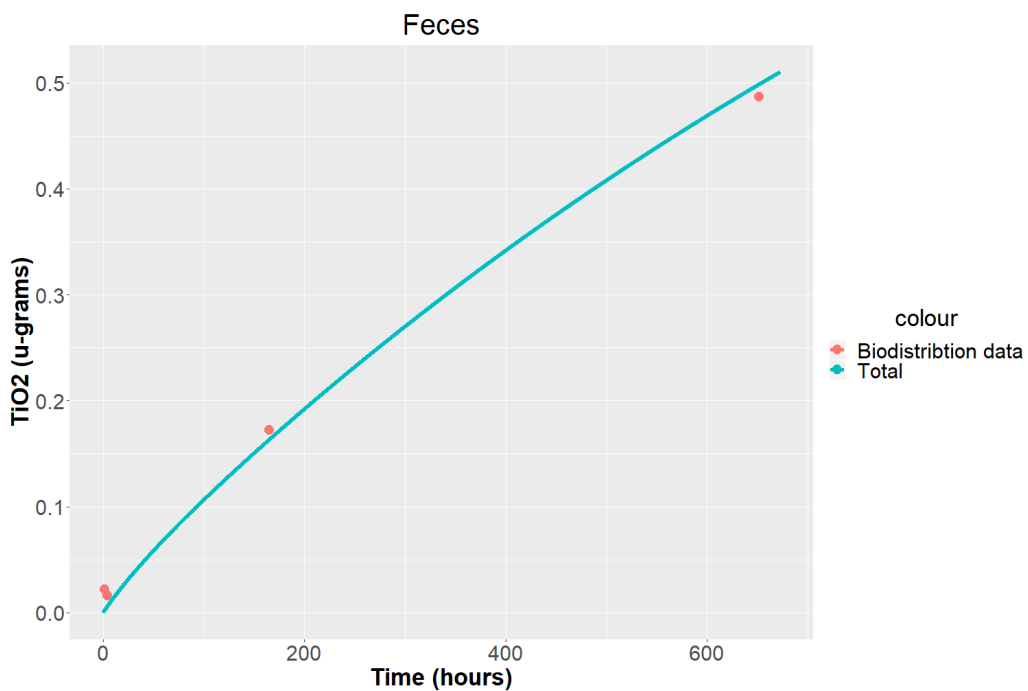


Σχήμα 5.23: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Καρδιάς.

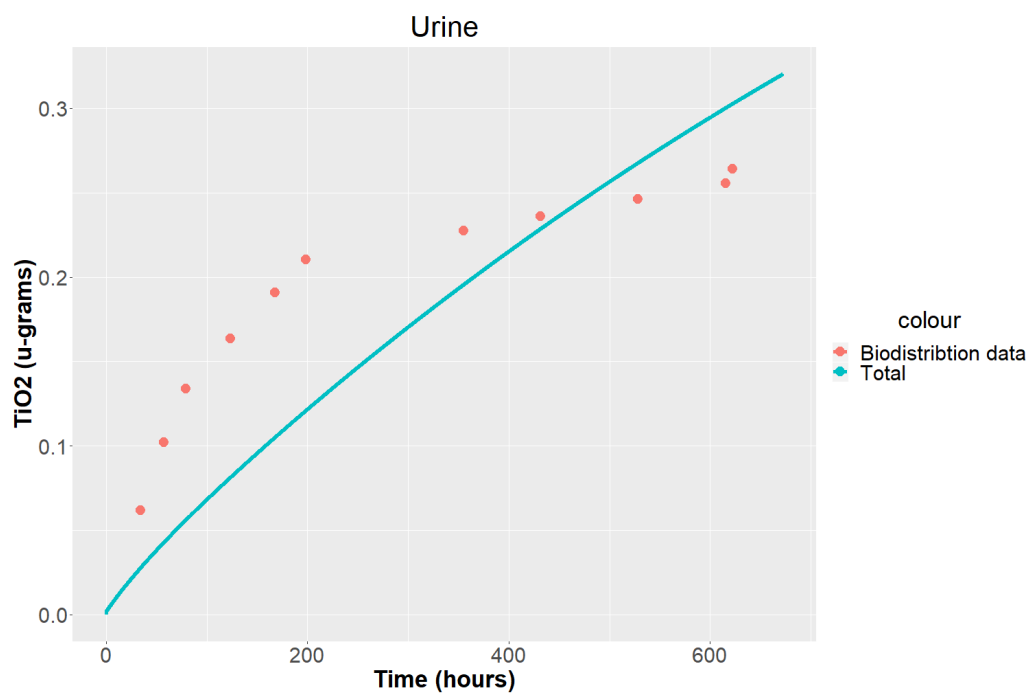
Σχήμα 5.24: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.Σχήμα 5.25: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα της Μήτρας.



Σχήμα 5.26: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Μαλακών Ιστών.



Σχήμα 5.27: Πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της ηπατοχολικής απέκκρισης.

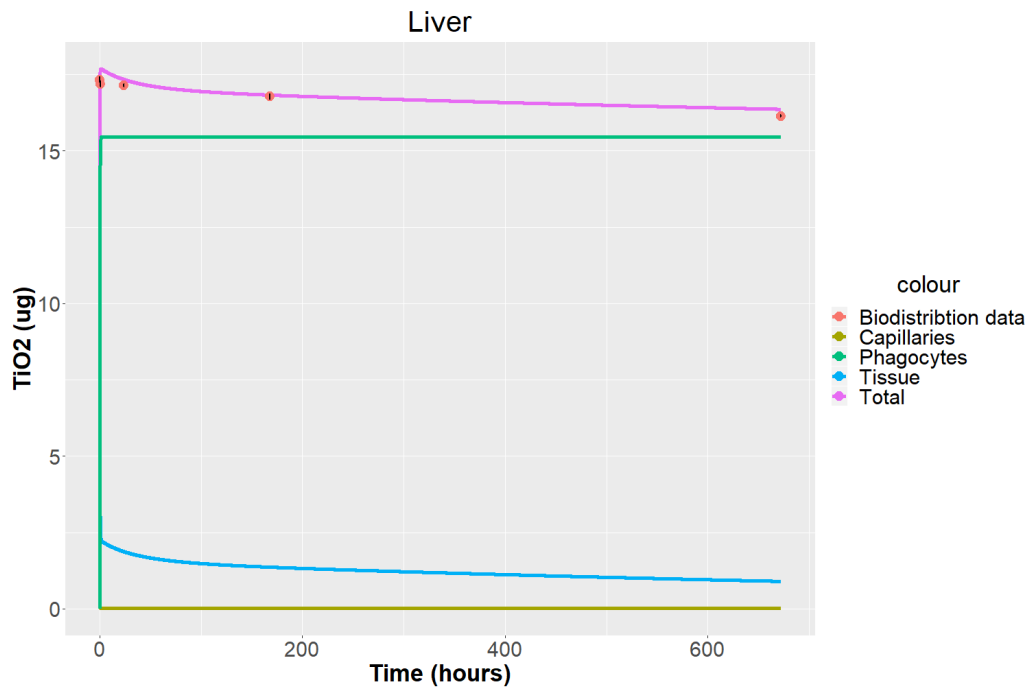


Σχήμα 5.28: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ που απομακρύνεται μέσω της νεφρικής απέκκρισης.

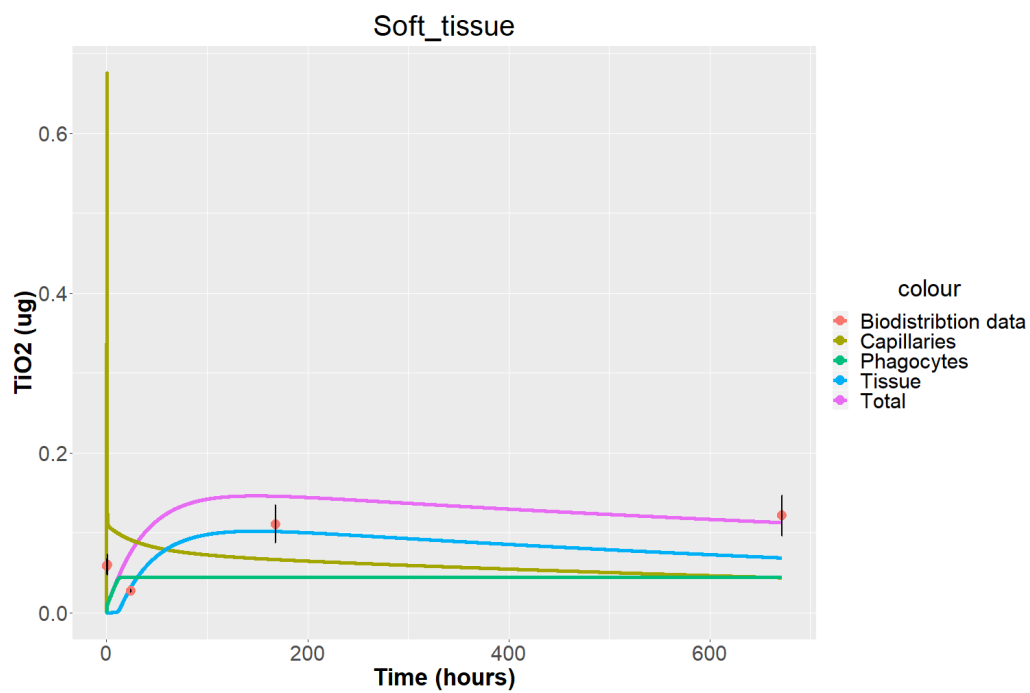
Από τα παραπάνω διαγράμματα βγαίνουν αρκετά συμπεράσματα, αναφορικά με την προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου. Το μοντέλο φαίνεται να προσεγγίζει σε μεγάλο βαθμό τα πειραματικά δεδομένα για τα διαμερίσματα του ήπατος (Σχήμα 5.17), της σπλήνας (5.18), του σκελετού (5.19), του αίματος (Σχήμα 5.21), των πνευμόνων (Σχήμα 5.22) και των μαλακών ιστών (Σχήμα 5.26). Αντιθέτως, το μοντέλο αδυνατεί να προβλέψει τα πειραματικά δεδομένα για τα διαμερίσματα του εγκεφάλου και της μήτρας, ενώ υπερεκτιμά την ποσότητα νανοσωματιδίων στην καρδιά. Τέλος, το μοντέλο ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στην προσομοίωση απέκκρισης νανοσωματιδίων μέσω της ηπατοχολικής και νεφρικής απέκκρισης. Ακόμα, αξίζει να σχολιαστεί ο τρόπος με τον οποίο το μοντέλο προβλέπει τη διάρκεια των φάσεων της κατανομής (distribution) των νανοσωματιδίων μεταξύ των οργάνων και της αποβολής (elimination) τους. Συγκεκριμένα, το μοντέλο προβλέπει ότι για τα περισσότερα όργανα, η ουσία κατανέμεται ταχύτατα από τη στιγμή της χορήγησης. Σε όργανα όπως το ήπαρ, τη σπλήνα, το σκελετό, τους πνεύμονες και τη μήτρα, η φάση της κατανομής ολοκληρώνεται μέσα σε λίγες ώρες, ενώ στους νεφρούς στην καρδιά και στους μαλακούς ιστούς διαρκεί περισσότερο.

Στο σχήμα 5.29 παρουσιάζονται τρεις επιπλέον καμπύλες για την πρόβλεψη του μοντέλου για το διαμέρισμα του ήπατος. Οι επιπλέον καμπύλες απεικονίζουν τη μάζα των νανοσωματιδίων στα υποδιαμερίσματα των τριχοειδών (capillaries), του ιστού (tissue) και των φαγοκυττάρων (phagocytes). Η άθροιση των καμπυλών του ιστού και των φαγοκυττάρων δίνει τη συνολική ποσότητα μάζας που προβλέπεται από το μοντέλο για το ήπαρ, δηλαδή την καμπύλη Total, η οποία είναι ίδια με τη καμπύλη του σχήματος 5.17. Μελετώντας το σχήμα 5.29 φαίνεται ότι η απορρόφηση των νανοσωματιδίων από τα φαγοκύτταρα του ήπατος είναι ακαριαία, καθώς κορυφώνεται μέσα στις πρώτες ώρες από τη στιγμή της χορήγησης, και είναι αυτή η οποία καθορίζει στο μεγαλύτερο βαθμό το ύψος της καμπύλης της συνολικής μάζας. Αντίθετα, η μάζα των νανοσωματιδίων στα τριχοειδή αγγεία είναι σχεδόν μηδαμινή, επηρεάζοντας ελάχιστα τη διαμόρφωση της καμπύλης συνολικής ποσότητας διοξειδίου του τιτανίου. Τέλος, η καμπύλη της μάζας νανοσωματιδίων στο υποδιαμέρισμα του ιστού, υποδηλώνει ότι εισέρχεται μεγάλη μάζα νανοσωματιδίων, την οποία όμως αδυνατεί να διατηρήσει, καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό της διοχετεύεται ακαριαία στα φαγοκύτταρα του οργάνου. Ωστόσο, η κατάσταση μεταξύ των υποδιαμερισμάτων των μαλακών ιστών διαφέρει στο σχήμα 5.30. Αρχικά, παρατηρείται ότι το διοξείδιο του τιτανίου κατανέμεται πιο αργά στους μαλακούς ιστούς, καθώς η μέγιστη συγκέντρωση επιτυγχάνεται μετά τις 100 ώρες από τη στιγμή της ενδοφλέβιας ένεσης. Επιπλέον, η καμπύλη συνολικής μάζας νανοσωματιδίων διαμορφώνεται τόσο από τη καμπύλη του ιστού, όσο και των φαγοκυττάρων, σε αντίθεση με το διαμέρισμα του

ήπατος.



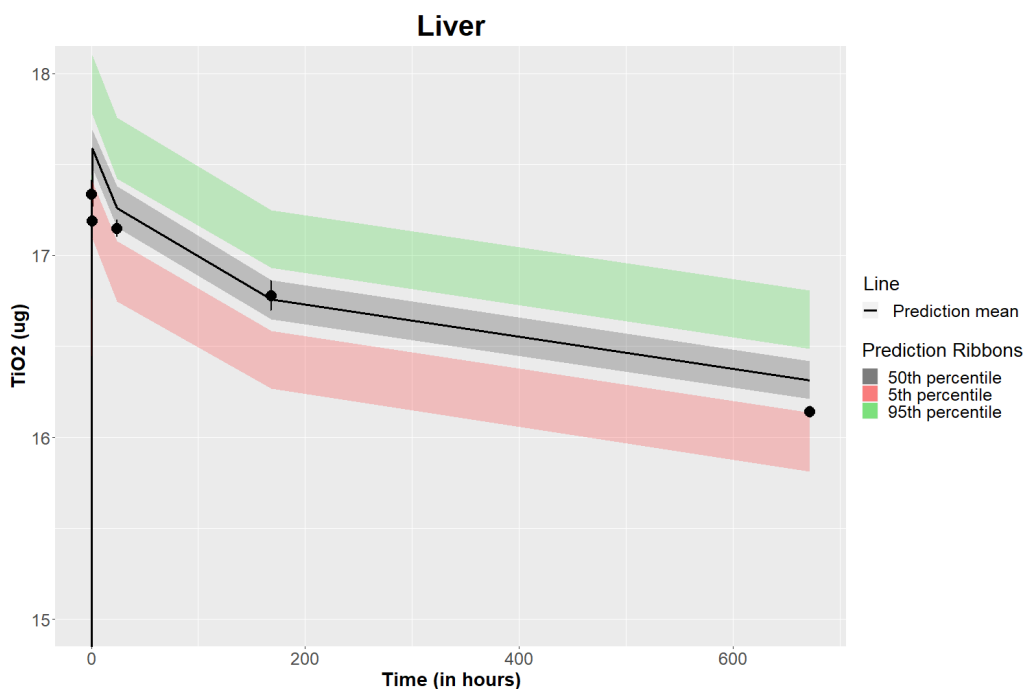
Σχήμα 5.29: Κοινό διάγραμμα πρόβλεψης της μάζας στα τριχοειδή αγγεία, στον ιστό και στα φαγοκύτταρα του Ήπατος.



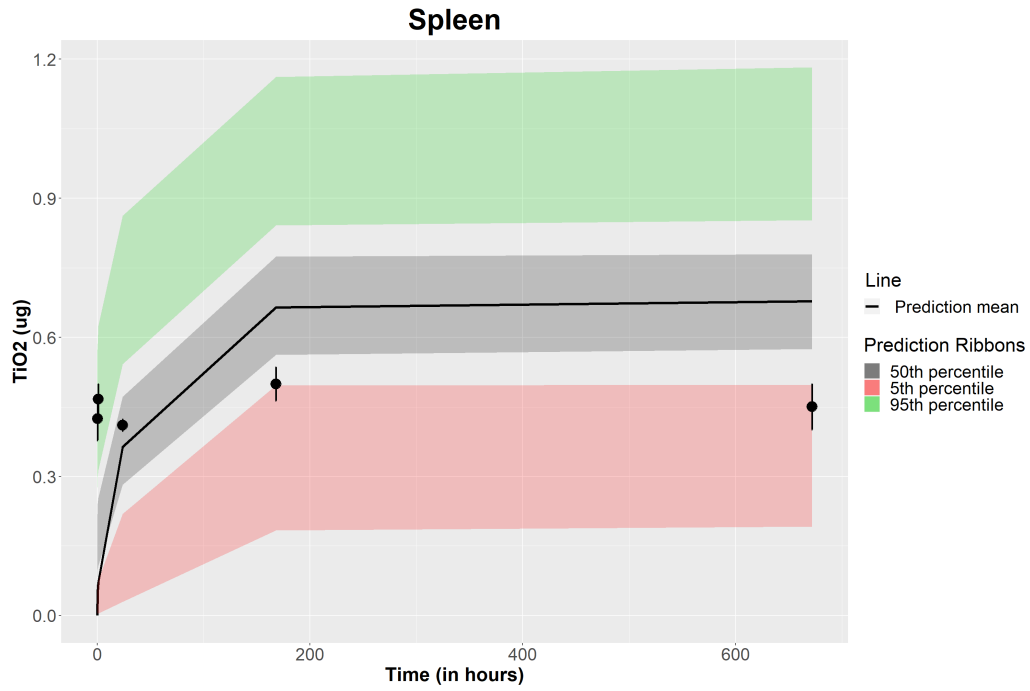
Σχήμα 5.30: Κοινό διάγραμμα πρόβλεψης της μάζας στα τριχοειδή αγγεία, στον ιστό και στα φαγοκύτταρα των Μαλακών Ιστών.

5.6 Διαγράμματα VPC

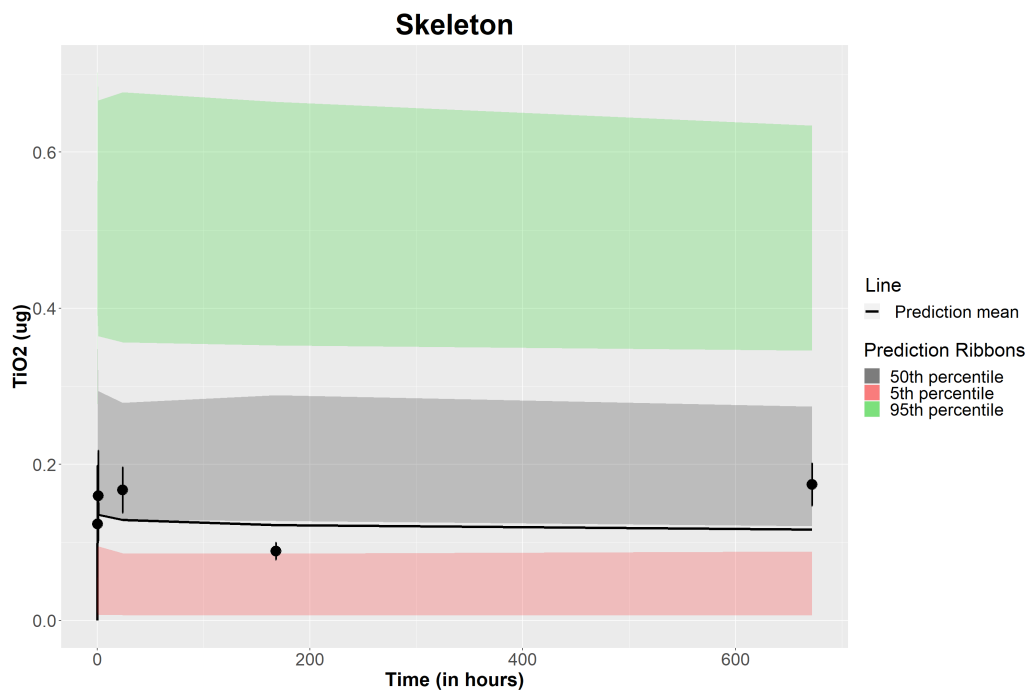
Στο σημείο αυτό παρουσιάζονται τα διαγράμματα VPC για κάθε διαμέρισμα. Για τη δημιουργία των διαγραμμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι posterior κατανομές των παραμέτρων που εκτιμήθηκαν. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 25,000 προσομοιώσεις, δηλαδή έγιναν 1000 δειγματοληψίες από τις posterior κατανομές για 25 εικονικούς αρουραίους. Στα διαγράμματα αναπαράστηκαν το 95% διάστημα εμπιστοσύνης του 5ου, του 50ού και του 95ου εκατοστημορίου. Επιπλέον, η μαύρη γραμμή αναπαριστά τη μέση τιμή των δεδομένων που παρήχθησαν από το σύνολο των προσομοιώσεων. Παρατηρώντας τα διαγράμματα 5.31 έως 5.42 παρατηρείται ότι σχεδόν ολόκληρο το σύνολο των πειραματικών δεδομένων βρίσκονται εντός των περιοχών πρόβλεψης του μοντέλου. Ωστόσο, φαίνεται πως το μοντέλο αδυνατεί να προβλέψει τις πειραματικές τιμές για το διαμέρισμα του εγκεφάλου, ειδικότερα αυτές που αναφέρονται σε αρκετά μεταγενέστερους χρόνους από της στιγμή της χορήγησης της δόσης.



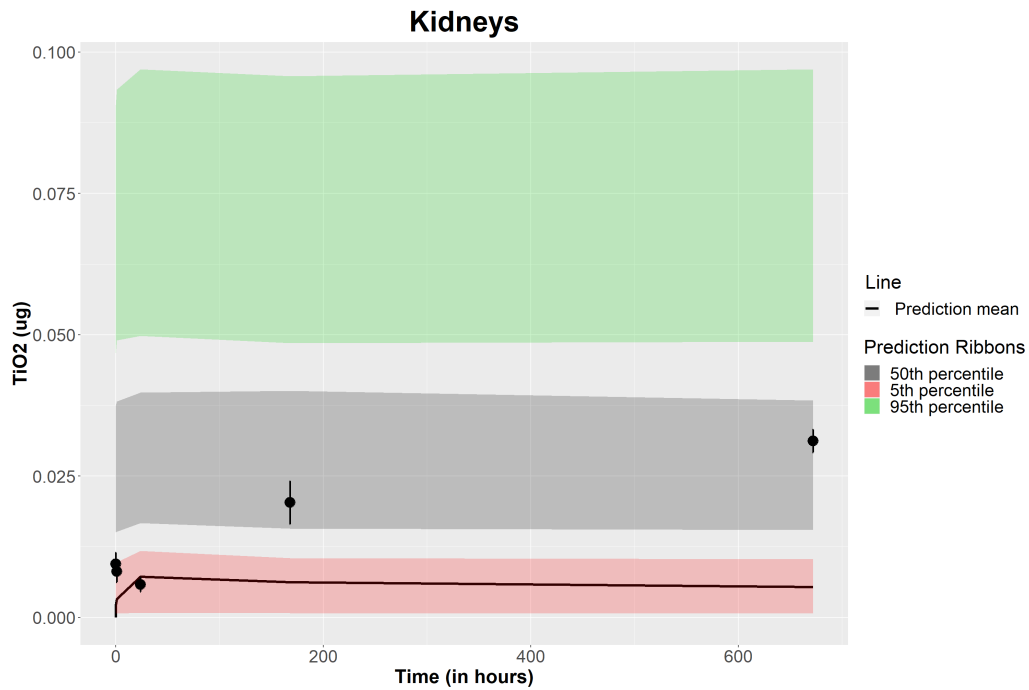
Σχήμα 5.31: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Ήπατος.



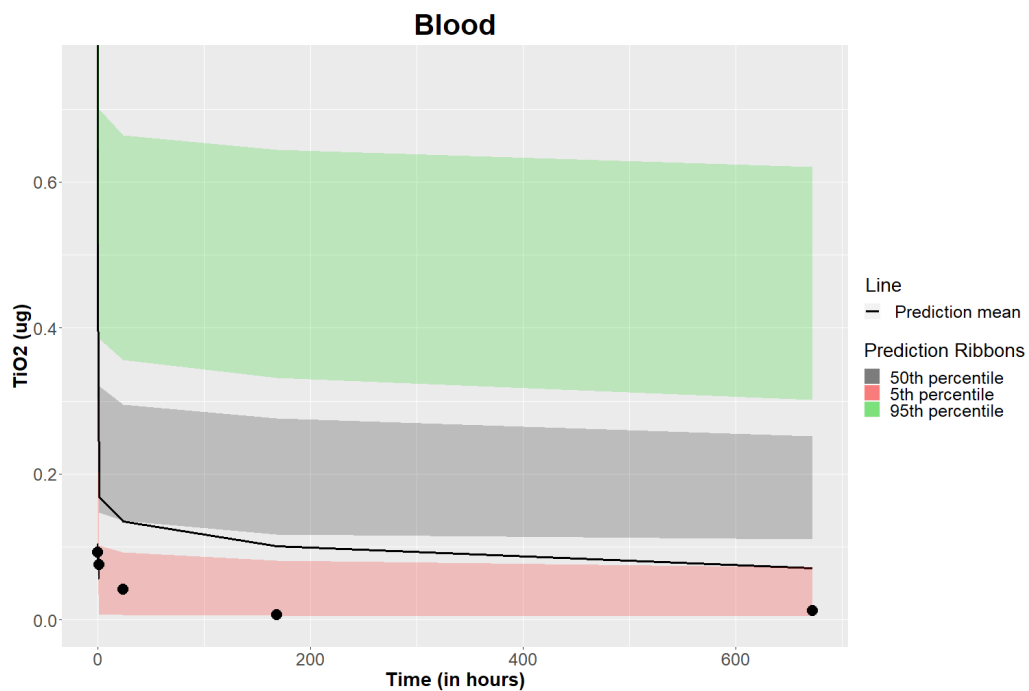
Σχήμα 5.32: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Σπλήνας.



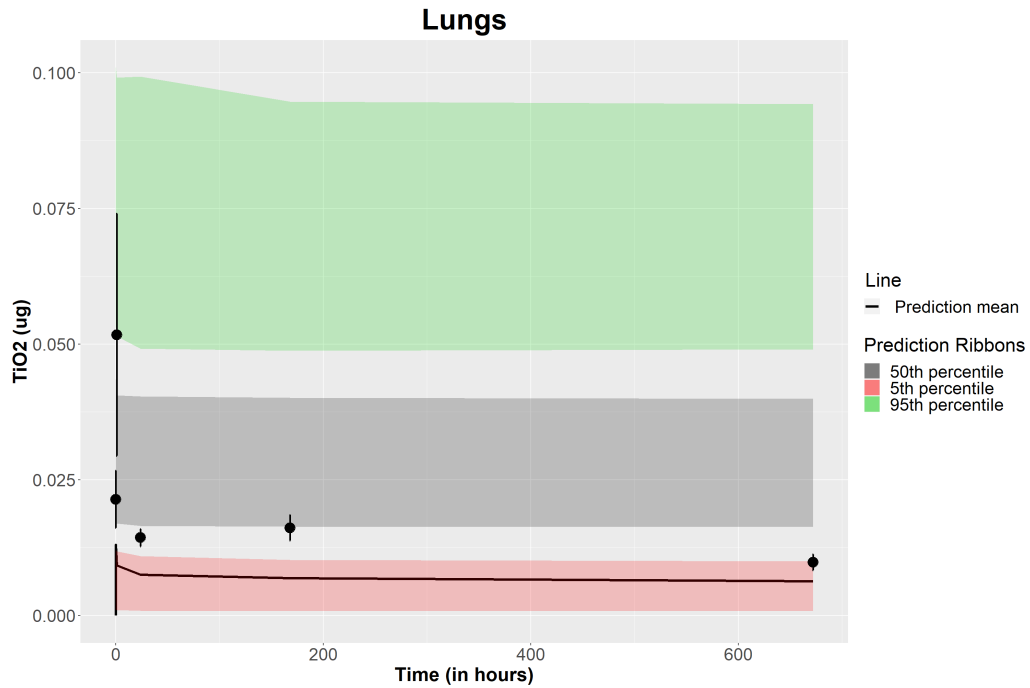
Σχήμα 5.33: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Σκελετού.



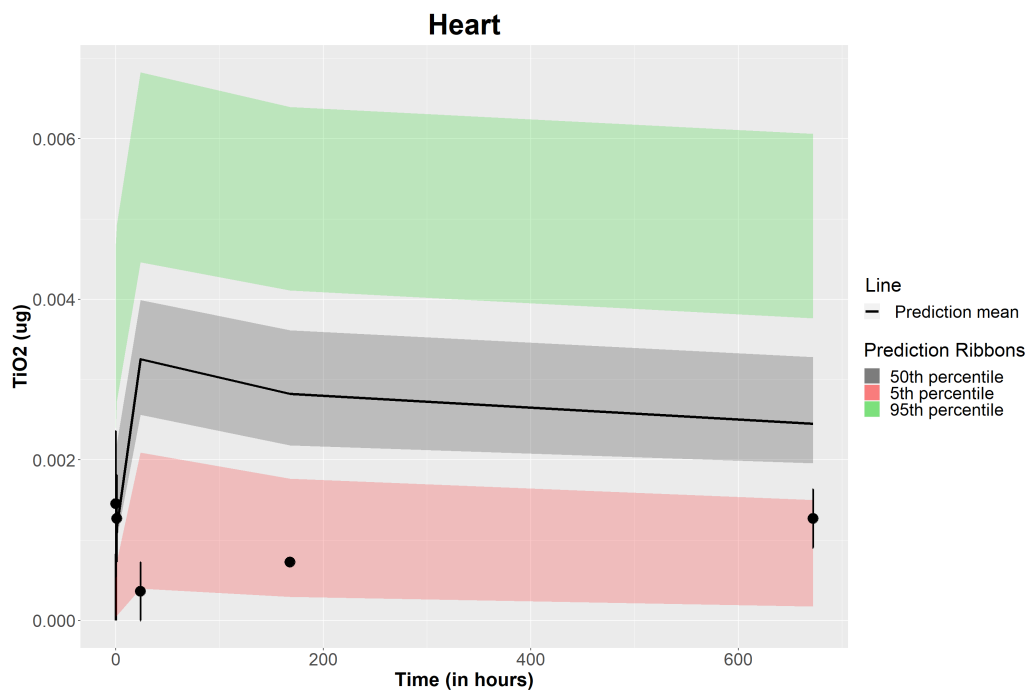
Σχήμα 5.34: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Νεφρών.



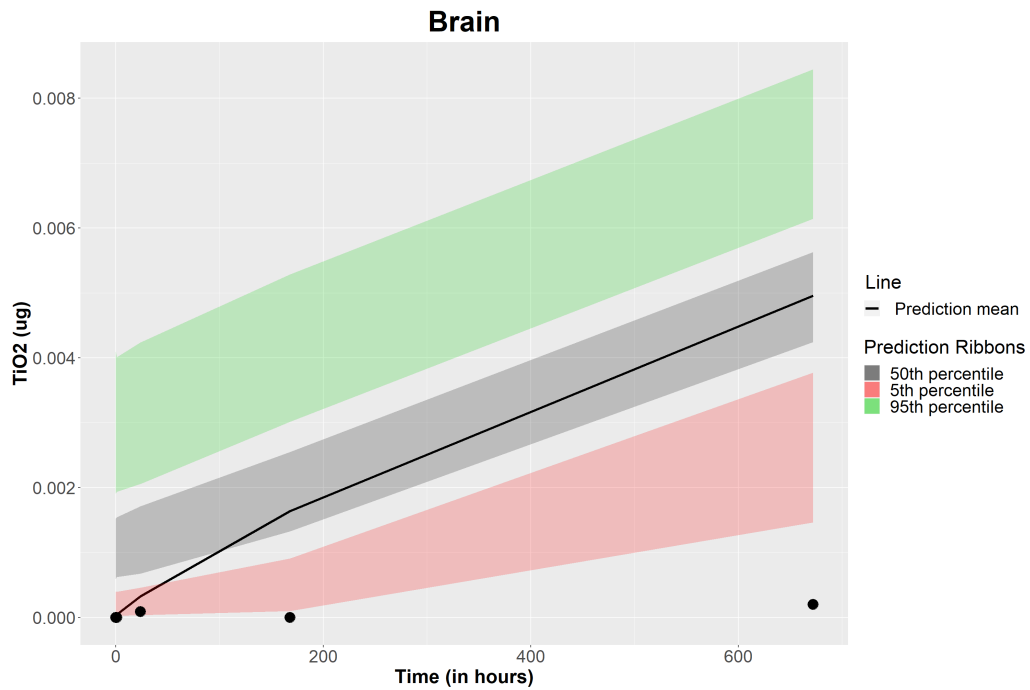
Σχήμα 5.35: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Αίματος.



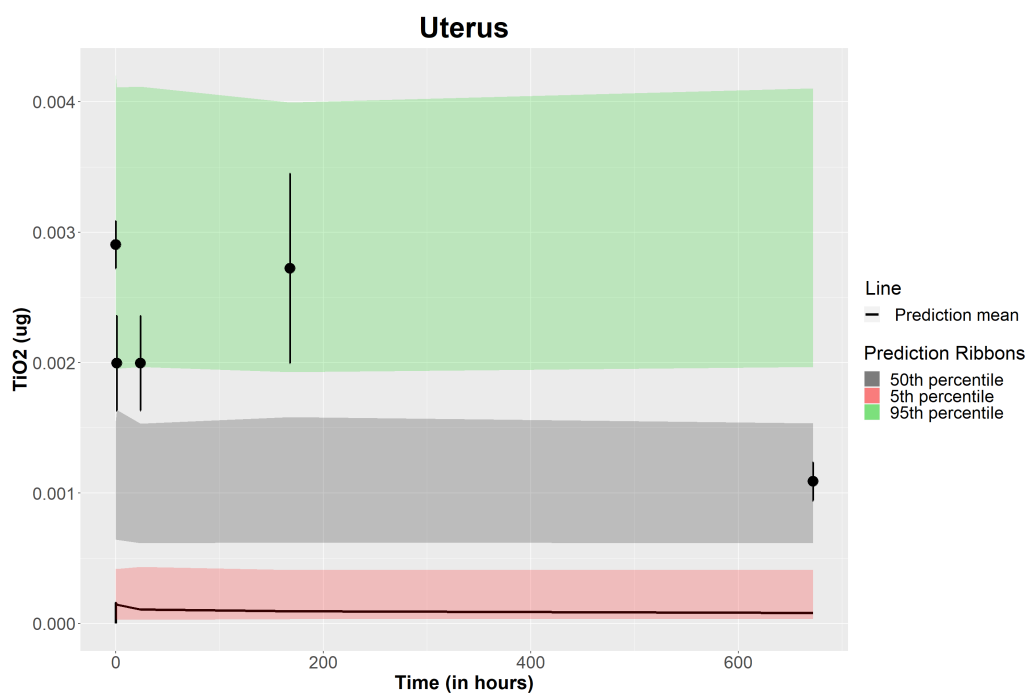
Σχήμα 5.36: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



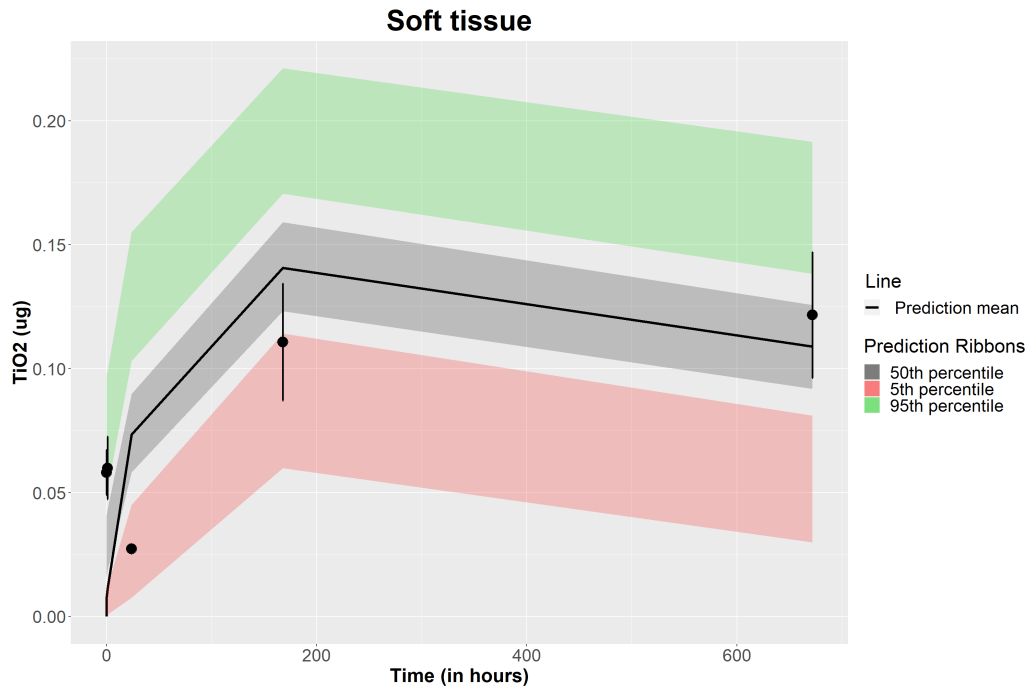
Σχήμα 5.37: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



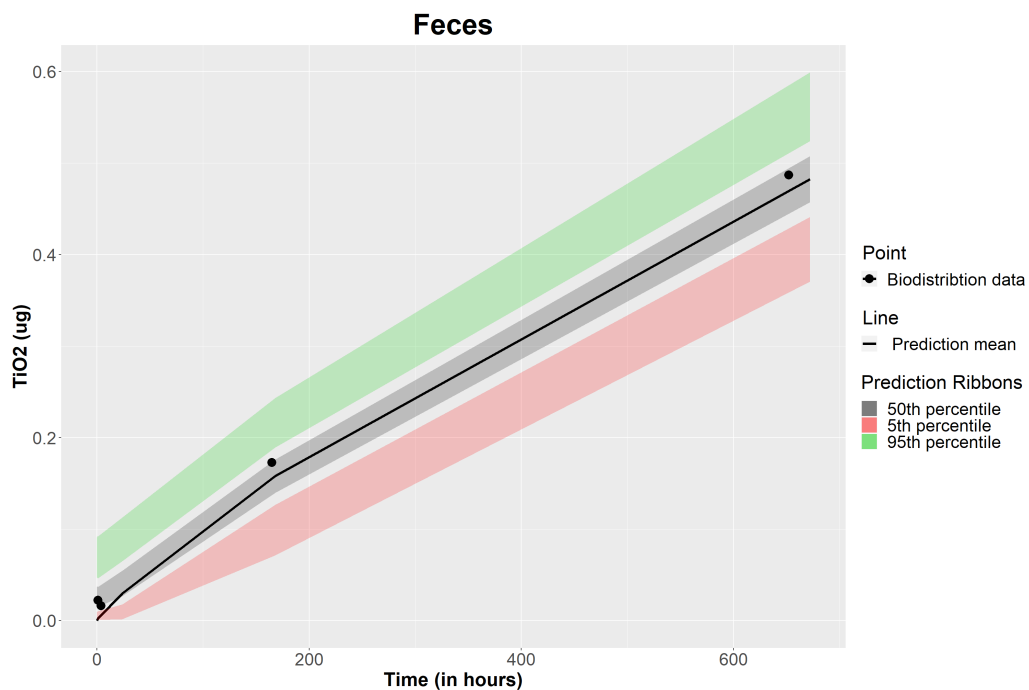
Σχήμα 5.38: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



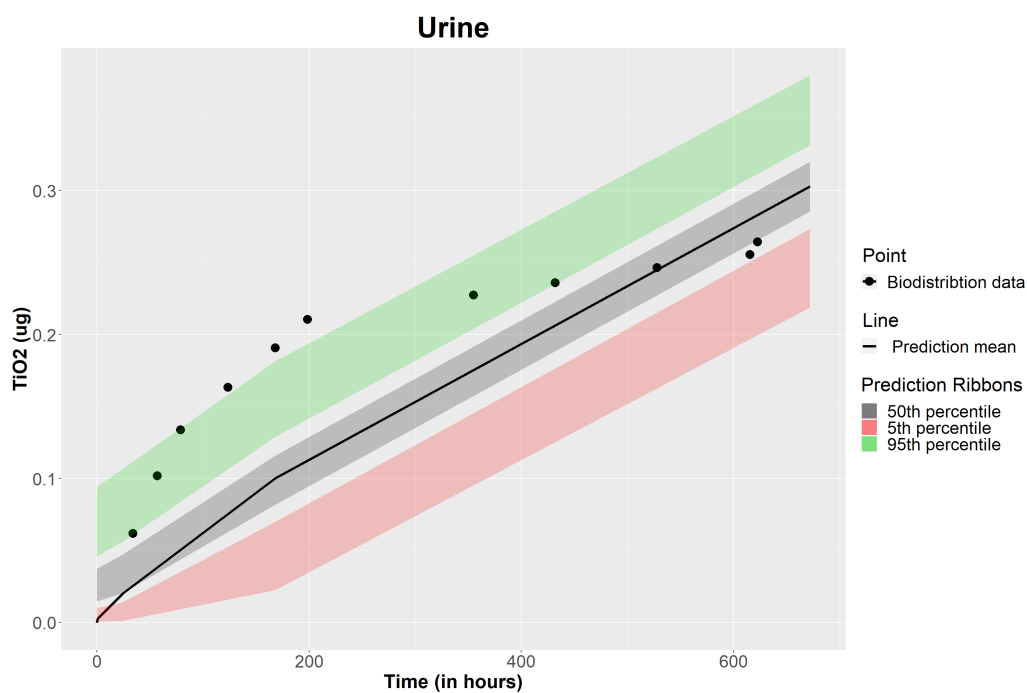
Σχήμα 5.39: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα της Μήτρας.



Σχήμα 5.40: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 για το διαμέρισμα των Μαλακών Ιστών.



Σχήμα 5.41: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της ηπατοχολικής απέκκρισης.



Σχήμα 5.42: Διάγραμμα VPC για την πρόβλεψη μάζας TiO_2 που απομακρύνεται μέσω της νεφρικής απέκκρισης.

5.7 Πρόβλεψη Εξωτερικών Πειραματικών Δεδομένων

Η επικύρωση του μοντέλου μέσω σύγκρισης με τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν στην προσαρμογή του, δίνει μία πρώτη εικόνα για την αξιοπιστία του μοντέλου, ωστόσο δεν διασφαλίζει τη δυνατότητα χρήσης του για πρόβλεψη διαφορετικών σεναρίων, όπως διαφορετική χορήγηση δόσης και διαφορετικό μέγεθος νανοσωματιδίων. Προφανώς, τονίζεται ότι το μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για σεναρία ενδοφλέβιας χορήγησης νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου σε αρουραίους. Για να αυξηθεί η εμπιστοσύνη στην προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου, δοκιμάστηκε η πρόβλεψη εξωτερικών δεδομένων από άλλες μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, αναζητήθηκαν μελέτες που αφορούν την χορήγηση νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου με ενδοφλέβια ένεση σε αρουραίους. Ωστόσο, παράμετροι όπως το ύψος της δόσης και το μέγεθος των νανοσωματιδίων διαφέρουν. Αυτό όμως δεν αποτελεί πρόβλημα, διότι είναι σημαντικό να εξεταστεί η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου τόσο σε συνθήκες διαφορετικών δόσεων όσο και σε νανοσωματίδια διαφορετικού μεγέθους, κάτι το οποίο έχει επίδραση στη βιοκατανομή του διοξειδίου του τιτανίου στους οργανισμούς.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η αξιολόγηση του μοντέλου ως προς την ικανότητα του να περιγράφει διαφορετικές πειραματικές μελέτες, ήταν απαραίτητη η τροποποίηση του τρόπου υπολογισμού των δεικτών PBPΚ. Ο λόγος για τον οποίο τροποποιήθηκε είναι επειδή είναι σχεδιασμένος κυρίως για μοντέλα τα οποία ανταποκρίνονται καλά στην πρόβλεψη των πειραματικών δεδομένων, δηλαδή έχουν δείκτη μικρότερο της μονάδας. Αυτό συμβαίνει διότι, ανάλογα με τις τιμές που παίρνει ο δείκτης, φανερώνει διαφορετική σχέση μεταξύ του μοντέλου του και των πειραματικών μετρήσεων. Συγκεκριμένα, έστω ότι το μοντέλο υπερεκτιμά σε μεγάλο βαθμό τα πειραματικά, δηλαδή $S_t \gg E_t$ (όπου S_t και E_t η τιμή που προβλέπει το μοντέλο και η πειραματική τιμή, αντίστοιχα) για ένα διαμέρισμα, τότε ο δείκτης I_j της σχέσης 4.30 θα είναι μεγαλύτερος από τη μονάδα και όσο πιο έντονη είναι η υπερεκτίμηση των δεδομένων, τόσο μεγαλύτερος είναι ο δείκτης. Επομένως, στην περίπτωση που το μοντέλο δίνει προβλέψεις πάνω από τα πειραματικά σε κάποια όργανα, αυτή η πρόβλεψη βελτιώνεται όσο ο δείκτης ελαττώνεται και πλησιάζει τη μονάδα. Αντίθετα, αν το μοντέλο υποεκτιμά τα πειραματικά, η τιμή του δείκτη είναι ανάμεσα στο 0 και στο 1. Ωστόσο, αυτή τη φορά τιμές κοντά στο 1 φανερώνουν σοβαρή αδυναμία πρόβλεψης και τιμές κοντά στο 0 καλύτερη περιγραφή των δεδομένων. Έτσι, ο δείκτης PBPΚ Index τροποποιήθηκε, ώστε μικρότερες τιμές να αντιστοιχούν σε καλύτερη περιγραφή των δεδομένων από το μοντέλο, ανεξάρτητα αν υποεκτιμά ή υπερεκτιμά τα δεδομένα. Η τροποποιημένη εκδοχή της σχέσης 4.30

είναι η εξής:

$$I_j = \frac{\frac{RMe_t^2}{RME_t^2} + \frac{RMe_t^2}{RMS_t^2}}{2}, \quad (5.1)$$

όπου:

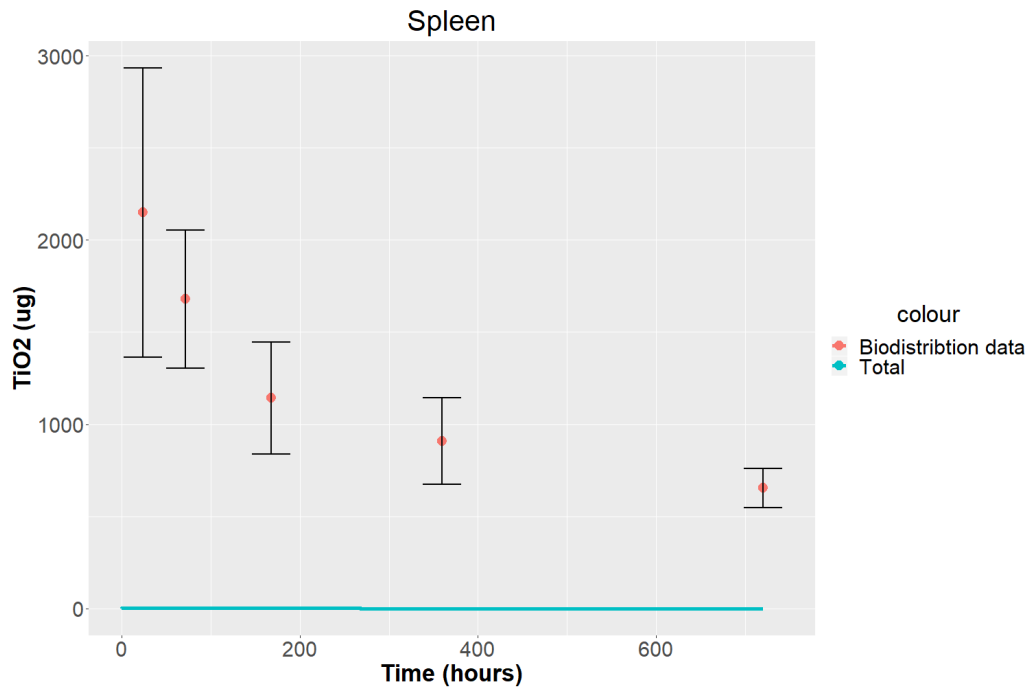
$$RMS_t^2 = \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^n S_t^2}{N}}. \quad (5.2)$$

Με αυτό τον τρόπο πλέον ο δείκτης για ένα όργανο θα λαμβάνει μεγάλες θετικές τιμές όταν αστοχεί να προβλέψει τα πειραματικά (είτε τα υπερεκτιμά είτε τα υποεκτιμά) ή θα λαμβάνει τιμές κοντά στο μηδέν όταν το μοντέλο προβλέπει με επιτυχία τα πειραματικά δεδομένα.

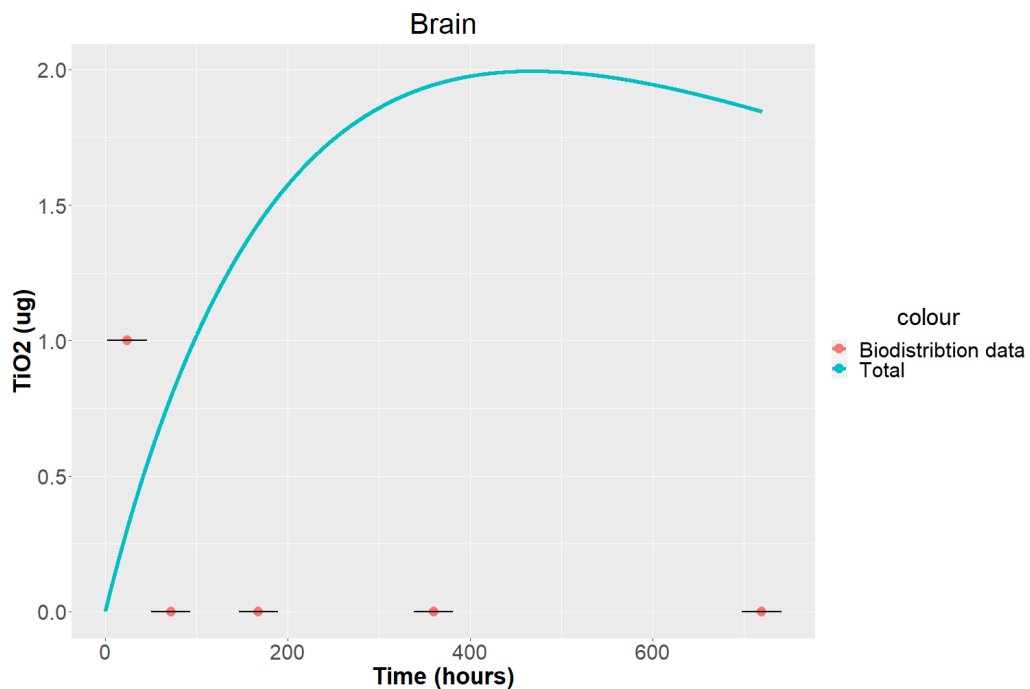
Στη συνέχεια, δίνεται ένα παράδειγμα ώστε να γίνει αντιληπτή η διαφορά μεταξύ των δύο δεικτών. Σε μία εκ των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν ([79]), το μοντέλο αδυνατεί να προβλέψει τη δυναμική και την τάξη μεγέθους της μάζας των νανοσωματιδίων που συγκεντρώνονται στη σπλήνα και στον εγκέφαλο, όπως φαίνεται στα σχήματα 5.43 και 5.44 αντίστοιχα. Η ποιοτική διαφορά μεταξύ των δύο σχημάτων είναι ότι στην πρώτη περίπτωση το μοντέλο υποεκτιμά τα πειραματικά δεδομένα για τη σπλήνα, ενώ στη δεύτερη περίπτωση υπερεκτιμά τη μάζα νανοσωματιδίων στον εγκέφαλο. Οι τιμές PBPK Indexes υπολογισμένες με βάση την αυθεντική σχέση 4.30 και την τροποποιημένη σχέση 5.1 για τα δύο όργανα δίνονται στον πίνακα 5.5. Παρατηρώντας τις τιμές του πίνακα και τα σχήματα 5.43 και 5.44 γίνεται εμφανής η συμπεριφορά που έχει ο αρχικός δείκτης PBPK Index ανάλογα με το αν υπάρχει υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση των δεδομένων. Συνεπώς, αυτό που επιτυγχάνεται με την τροποποίηση στον τρόπο υπολογισμού των δεικτών PBPK είναι ότι όσο πιο επιτυχημένη είναι η πρόβλεψη του μοντέλου για τα πειραματικά, τόσο μικρότερη είναι η τιμή του δείκτη και το αντίθετο. Έτσι, είναι εφικτή η σύγκριση της απόδοσης του μοντέλου ανάμεσα σε πολλαπλές έρευνες. Τέλος, στον πίνακα 5.6 παρουσιάζονται όλα τα απαραίτητα στοιχεία των μελετών των οποίων τα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για πρόβλεψη από το μοντέλο, ενώ στον πίνακα 5.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του Modified PBPK Index για κάθε μελέτη, αναλυτικά για κάθε όργανο αλλά και συνολικά για κάθε μελέτη. Τα αποτελέσματα της προβλέψης του μοντέλου για όλα τις μελέτες είναι διαθέσιμα στο παράρτημα.

Πίνακας 5.5: Συγκριτικά αποτελέσματα μεταξύ των τιμών των PBPK Indexes όπως υπολογίζονται από τους Krishnan *et al.* (1995)[77] και όπως υπολογίζονται έπειτα από την τροποποίηση.

Τιμές	Σπλήνα	Εγκέφαλος
PBPK Index (Krishnan)	0.997	5.495
Modified PBPK Index	183.084	0.702



Σχήμα 5.43: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα της Σπλήνας. Τα πειραματικά δεδομένα είναι από τη μελέτη των Xie *et al.*[79].



Σχήμα 5.44: Πρόβλεψη μάζας TiO₂ για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου. Τα πειραματικά δεδομένα είναι από τη μελέτη των Xie *et al.*[79].

Πίνακας 5.6: Συγκριτικός πίνακας εξωτερικών πειραματικών δεδομένων.

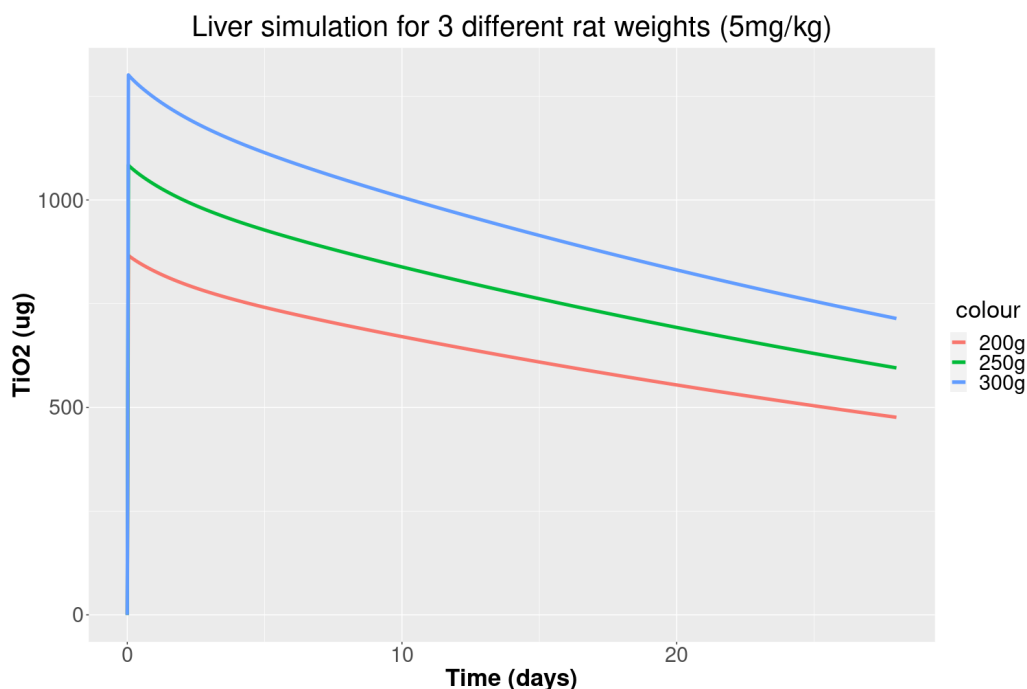
Μέγεθος (nm)	Δόση (mg/kg)	Μάζα αρουραίου (g)	Δόση (μg)	Τύπος	Μελέτη
70.00	-	263 ± 10	18.15	anatase	[63]
20 - 30	5	250 (υποτέθηκε)	1250.00	anatase/rutile (70/30)	[80]
20 - 30	10	250 ± 10	2500.00	rutile	[79]
50 - 70	8.4-9.8 (αρσενικοί)	234-237 (αρσενικοί)	2300.00	anatase	[81, 82]
	12.4-14.1 (θηλυκοί)	160-185 (θηλυκοί)			
21.00	8.4-9.8 (αρσενικοί)	234-237 (αρσενικοί)	2300.00	anatase	[81, 82]
	12.4-14.1 (θηλυκοί)	160-185 (θηλυκοί)			
26.00	8.4-9.8 (αρσενικοί)	234-237 (αρσενικοί)	2300.00	rutile	[81, 82]
	12.4-14.1 (θηλυκοί)	160-185 (θηλυκοί)			
26.00	8.4-9.8 (αρσενικοί)	234-237 (αρσενικοί)	2300.00	rutile	[81, 82]
	12.4-14.1 (θηλυκοί)	160-185 (θηλυκοί)			
21(±7)	1.00	215 (180 - 250)	215.00	anatase/rutile (70/30)	[83]
100 (tube length)	5.00	250 (200 - 300)	1250.00	Nanotubes	[84]
50 (nonuniform diameters length)	5.00	250 (200 - 300)	1250.00	Nanorods	[84]
100.00	5.00	250 (200 - 300)	1250.00	Nanoribbons	[84]
< 25	-	200 (180 - 220)	1700.00	anatase	[65]
21.00	1.00	243.5 (218 - 270)	1700.00	anatase/rutile (70/30)	[85]

Πίνακας 5.7: Πίνακας τιμών ΡΒΡΚ Index για όλες τις διαθέσιμες μελέτες.

Μελέτη	Πνεύμονες	Σπλήνα	Ήπαρ	Νεφροί	Καρδιά	Εγκέφαλος	Μήτρα	Σχελετός	Αίμα	Συνολικός Δείκτης
[85]	0.477	3.417	0.286	3.333	1.972	7.775	-	-	2.877	2.877
[80]	2.323	14.580	0.277	2.005	-	-	-	-	-	4.796
[79]	40.403	470.295	0.100	2.376	2.739	2.118	-	0.911	41.120	70.008
[81, 82]	5.490	24.717	0.467	1.921	3.024	2.482	83.187	-	27.971	18.657
[81, 82]	11.010	16.910	0.517	0.783	3.200	2.865	82.059	-	56.111	21.682
[81, 82]	9.260	26.379	0.806	0.582	1.057	1.414	-	-	-	6.583
[81, 82]	2.435	31.746	0.776	1.763	2.887	18.019	-	-	-	9.604
[83]	13.004	2.162	0.813	0.855	-	1.492	-	-	329.400	3.665
[84]	-	3.859	37.485	-	9.723	-	-	-	-	17.023
[84]	-	316.680	62.850	-	11.629	-	-	-	-	130.386
[84]	-	4.954	138.410	-	16.547	-	-	-	-	53.304
[65]	2.039	11.554	0.634	0.720	-	1.191	-	-	207.523	37.277
[63]	2.235	0.603	0.018	2.983	0.697	6.734	11.978	1.152	2.051	2.893

Παρατηρώντας τον πίνακα 5.7 εξάγονται αρκετά συμπεράσματα αναφορικά με το μοντέλο που έχει αναπτυχθεί στην παρούσα εργασία. Από το σχολιασμό που θα γίνει στη συνέχεια, οποιαδήποτε αναφορά γίνεται στα πειραματικά δεδομένα του πίνακα 5.7 δεν αφορά τα αποτελέσματα των Kamal *et al.*[84], διότι το μοντέλο εμφανίζει έντονη αδυναμία πρόβλεψης των πειραματικών τιμών για όλα τα όργανα. Ο λόγος που συμβαίνει αυτό είναι επειδή για κάθε όργανο έχουν λάβει μετρήσεις μόνο σε μία χρονική στιγμή, συνεπώς είναι αδύνατο να αξιολογηθεί το μοντέλο ως προς το αν προσεγγίζει τη δυναμική των δεδομένων. Επίσης, η μεγάλη απόκλιση από τις πειραματικές τιμές της συγκεκριμένης μελέτης, ενδέχεται να οφείλεται σε εσφαλμένη αποκωδικοποίηση των δεδομένων κατά το στάδιο αξιοποίησής τους. Ακόμα, πρέπει να σχολιαστεί αναφορικά με αυτή τη μελέτη, ότι εξετάζει τη βιοκατανομή της ίδιας δόσης τριών ναοσωματιδίων διαφορετικών σχημάτων. Ωστόσο, παρατηρείται σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ποσότητα που συσσωρεύεται από κάθε τύπο ναοσωματιδίου, παρόλο που η συνολική ποσότητα που χορηγείται είναι η ίδια. Συνεπώς, είναι πολύ πιθανό η αστοχία του μοντέλου να περιγράψει τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης να οφείλεται στις διαφοροποιήσεις που έχουν τα ναοσωματίδια ως προς το σχήμα τους. Επομένως, μελετώντας τις τιμές των δεικτών του μοντέλου για τις υπόλοιπες μελέτες, φαίνεται πως το μοντέλο ανταποκρίνεται με σχετικά υψηλή ακρίβεια στην πρόβλεψη της μάζας ναοσωματιδίων που συγκεντρώνονται στο ήπαρ, καθώς σε όλες τις μελέτες ο αντίστοιχος δείκτης PBPK είναι μικρότερος της μονάδας. Ικανοποιητικά αποτελέσματα φαίνεται πως δίνει και για τα όργανα των νεφρών και της καρδιάς, για τα οποία το μοντέλο πετυχαίνει μέγιστη τιμή δείκτη 3.333 και 3.200 αντίστοιχα για τα δύο όργανα. Αντιθέτως, για το όργανο της σπλήνας παρατηρούνται πολύ μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ των προβλέψεων του μοντέλου και των πειραματικών δεδομένων, με εξαίρεση τα δεδομένα των Kreyling *et al.*, μέσω των οποίων εκτιμήθηκαν οι στοχαστικές παράμετροι. Αυτή η έντονη απόκλιση οφείλεται στο γεγονός ότι τα πειραματικά δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την προσαρμογή του μοντέλου αποδίδουν ένα πολύ μικρό ποσοστό απορρόφησης ναοσωματιδίων από την αρχική δόση, σε σχέση με αυτό που έχει μετρηθεί στις περισσότερες μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν. Συνεπώς, οι παράμετροι εκτιμήθηκαν μέσα στο πλαίσιο ότι η μέγιστη χωρητικότητά της σπλήνας είναι πολύ χαμηλότερη σε σχέση με αυτό που ισχύει στις υπόλοιπες μελέτες. Αυτή διαφοροποίησή που εμφανίζεται ανάμεσα στη μελέτη των Kreyling *et al.* και των υπολοίπων είναι πολύ πιθανό να οφείλεται στο διαφορετικό μέγεθος των ναοσωματιδίων που έχουν χρησιμοποιηθεί, καθώς η διάμετρος είναι μία παράμετρος με άμεση επιρροή στην βιοκατανομή των ναοσωματιδίων στα διάφορα όργανα. Αναφορικά με τα όργανα των πνευμόνων, του εγκεφάλου και της μήτρας, το μοντέλο φαίνεται πως αδυνατεί να περιγράψει τα πειραματικά δεδομένα με συνέπεια σε όλες

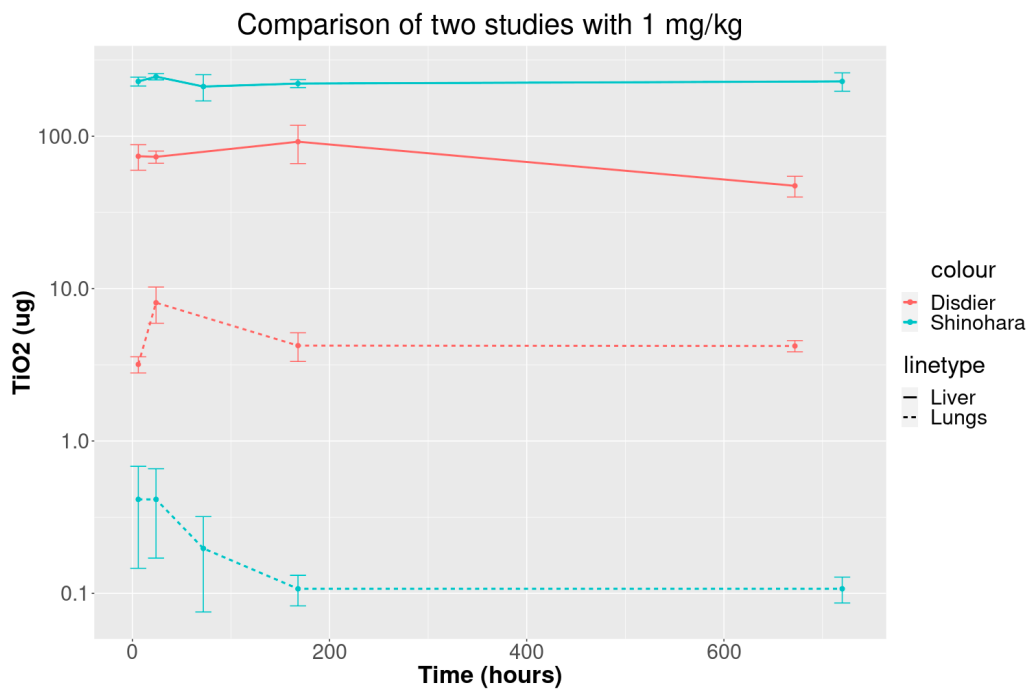
τις μελέτες. Όσον αφορά το διαμέρισμα του σκελετού, υπήρχε δυνατότητα να γίνει σύγκριση της πρόβλεψης με την πειραματική τιμή μόνο στη μελέτη των Xie *et al.*[79], όπου η συγκεκριμένη τιμή ήταν κάτω από τη μονάδα, δηλαδή τα περιέγραφε με επιτυχία. Ωστόσο, δεν μπορεί να εξαχθεί κάποιο ασφαλές γενικό συμπέρασμα για το διαμέρισμα του σκελετού διαθέτοντας μόνο μία μελέτη. Επιπλέον, παρατηρείται ότι ο δείκτης λαμβάνει υψηλές τιμές και για το διαμέρισμα του αίματος, κάτι το οποίο αποτελεί ένδειξη πως πρέπει να αναθεωρηθούν και οι παράμετροι που αφορούν το διαμέρισμα του αίματος. Τέλος, επισημαίνεται ότι σε πολλές από τις μελέτες του πίνακα 5.6 η μάζα των αρουραίων που χρησιμοποιήθηκαν δινόταν με τη μορφή εύρους τιμών, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται καταχρηστικά ο μέσος όρος των ακραίων τιμών του εύρους για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων του μοντέλου. Ωστόσο, είναι πολύ πιθανό αυτή η υπόθεση να μη συμπίπτει με την πραγματικότητα, δηλαδή να μη συμπίπτει το κέντρο της κατανομής των μαζών των αρουραίων με τον μέσο όρο της μικρότερης και της μέγιστης μάζας αρουραίων που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτή η αβεβαιότητα για την τιμή της μάζας προκαλεί αισθητή διαφοροποίηση στα αποτελέσματα του μοντέλου, καθώς ανάλογα την τιμή της μάζας του αρουραίου υπολογίζεται πληθώρα φυσιολογικών παραμέτρων. Στο διάγραμμα 5.45 φαίνεται η επίδραση που έχει η μάζα των αρουραίων στη διαμόρφωση της πρόβλεψης του μοντέλου για το όργανο του ήπατος. Επομένως, μία μη αντιπροσωπευτική τιμή μάζας μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση του δείκτη του μοντέλου.



Σχήμα 5.45: Αποτελέσματα του μοντέλου για το διαμέρισμα του Ήπατος για ίδια δόση και τρεις διαφορετικές τιμές μάζας αρουραίων.

Ένα επιπλέον ζήτημα που εγείρεται αναφορικά με τις εξωτερικές μελέτες είναι το γεγονός ότι

εμφανίζουν σημαντικές διαφορές ακόμα και μελέτες που έγιναν με ίδια δοσολογία και μέγεθος νανοσωματιδίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι μελέτες των Shinohara *et al.*[85] και Disdier *et al.*[83], οι οποίες παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές συσσώρευσης νανοσωματιδίων στο ήπαρ και στους πνεύμονες, ενώ η δόση και το μέγεθος των νανοσωματιδίων είναι ίδια. Παρατηρώντας το διάγραμμα 5.46, διαπιστώνεται ότι υπάρχει μεγάλη διακύμανση μεταξύ των τιμών των δύο μελετών για τα ίδια όργανα.



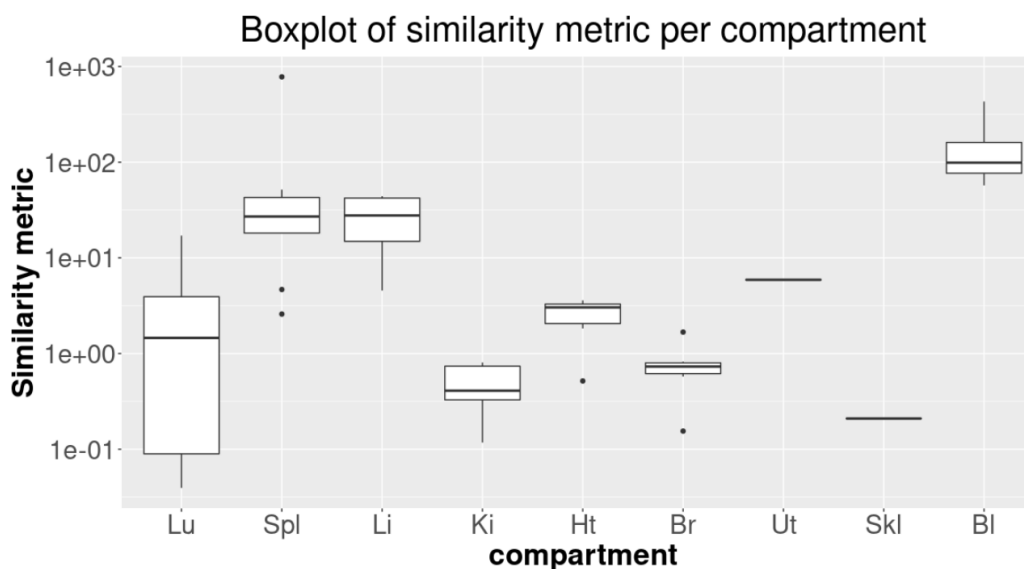
Σχήμα 5.46: Απεικόνιση απόκλισης των πειραματικών δεδομένων για τα όργανα του ήπατος και των πνευμόνων ανάμεσα στις μελέτες των Shinohara *et al.*[85] και Disdier *et al.*[83]. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα.

Στη συνέχεια, επιχειρήθηκε ανάλυση των δεδομένων του πίνακα 5.7 προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει κάποια σημαντική σχέση μεταξύ της τιμής των δεικτών των διαμερισμάτων του μοντέλου με το μέγεθος των νανοσωματιδίων και το ύψος της δόσης. Συγκεκριμένα, ορίστηκε ένας νέος δείκτης $S_{i,d}$ (Similarity metric), που εκφράζει πόσο καλύτερα ή χειρότερα περιγράφει το μοντέλο τα πειραματικά δεδομένα μίας εξωτερικής μελέτης σε σχέση με τα πειραματικά δεδομένα των Kreyling *et al.*[63], ο οποίος είναι ίση με:

$$S_{i,d} = \left| \frac{PBPk_{ext,i,d}^{mod}}{PBPk_{kreyling_i}^{mod}} - 1 \right| \quad (5.3)$$

όπου, $PBPk_{ext,i,d}^{mod}$ η τιμή του τροποποιημένου (modified) δείκτη PBPk για το διαμέρισμα i , για την εξωτερική μελέτη (external) d , ενώ η τιμή $PBPk_{kreyling_i}^{mod}$ αναφέρεται στον αντίστοιχο δείκτη

για τα δεδομένα των Kreyling *et al.*. Στο διάγραμμα 5.47 παρουσιάζονται οι κατανομές του δείκτη Similarity για κάθε διαμέρισμα, υπολογισμένος ως προς τις εξωτερικές μελέτες που αναφέρονται στον πίνακα 5.6. Αυτό που φαίνεται από το συγκεκριμένο διάγραμμα είναι το πόσο καλά καταφέρνει να περιγράψει το μοντέλο για τα εξωτερικά πειραματικά δεδομένα συγκριτικά με τα δεδομένα των Kreyling *et al.*. Συγκεκριμένα, το μοντέλο φαίνεται να περιγράφει με την ίδια τάση, επιτυχώς ή όχι, τα διαμερίσματα των πνευμόνων, των νεφρών και της καρδιάς. Ωστόσο, πρέπει να γίνει ξεκάθαρο ότι το διάγραμμα δεν απεικονίζει την ικανότητα πρόβλεψης του μοντέλου για τα διάφορα διαμερίσματα, αλλά το πόσο καλά περιγράφει εξωτερικές μελέτες σε σχέση με το πόσο καλά περιγράφει τη μελέτη αναφοράς, μέσω της οποίας εκτιμήθηκαν και οι παράμετροι του μοντέλου. Μία διαφορετική απεικόνιση της ίδιας πληροφορίας είναι αυτή που φαίνεται στο διάγραμμα τύπου violin (Σχήμα 5.48).

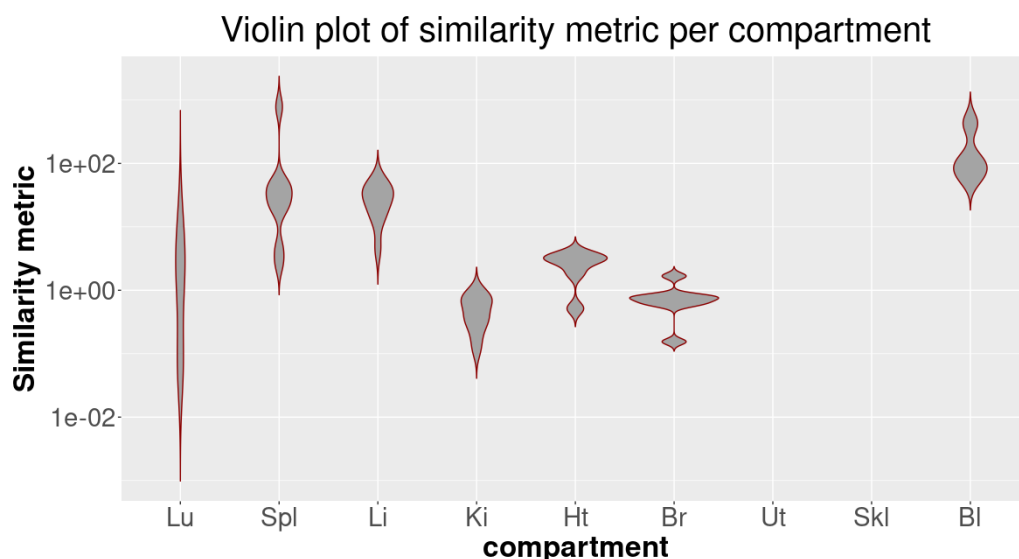


Σχήμα 5.47: Απεικόνιση των αποτελεσμάτων του δείκτη ομοιότητας για όλα τα όργανα αναφορικά με τις εξωτερικές μελέτες. Σε κάθε ορθογώνιο η άνω πλευρά αντιπροσωπεύει το 75ο και η κάτω πλευρά το 25ο εκατοστημόριο των τιμών του δείκτη ομοιότητας για κάθε όργανο, ενώ η οριζόντια γραμμή κάθε ορθογωνίου αναπαριστά το μέσο όρο του δείκτη. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα.

Ο έλεγχος της συσχέτισης μεταξύ του S_d για κάθε όργανο, του μεγέθους των νανοσωματιδίων και της δόσης που χρησιμοποιείται σε κάθε μελέτη, έγινε μέσω προσδιορισμού των παραμέτρων της σχέσης:

$$\log_{10} S_d = a_0 + a_1(size_d - size_{ref}) + a_2(dose_d - dose_{ref}) + a_3(dose_d - dose_{ref})(size_d - size_{ref}) \quad (5.4)$$

όπου, $size_d$ και $dose_d$ το μέγεθος και η δόση των νανοσωματιδίων στην εξωτερική μελέτη d ,



Σχήμα 5.48: Απεικόνιση της πυκνότητας της κατανομής του δείκτη ομοιότητας για κάθε διαμέρισμα του μοντέλου. Ο άξονας y έχει λογαριθμική κλίμακα.

ενώ $size_{ref}$ και $dose_{ref}$ τα αντίστοιχα μεγέθη για τη μελέτη αναφοράς, δηλαδή τη μελέτη των Kreyling *et al.*. Ο δεκαδικός λογάριθμος χρησιμοποιείται διότι εξορισμού ο δείκτης S_d είναι θετική ποσότητα, οπότε με αυτή την παραμετροποίηση, οι συντελεστές του δεξιού μέλους δεν υπόκεινται σε περιορισμούς. Το μοντέλο με το μέγεθος, τη δόση και την αλληλεπίδραση μεταξύ δόσης και μεγέθους δεν φάνηκε να δίνει αξιόλογα αποτελέσματα και έτσι, δομήθηκε ένα μοντέλο με ανεξάρτητη μεταβλητή μόνο τη δόση. Το μόνο όργανο για το οποίο εντοπίστηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του δείκτη S_d και της δόσης είναι το όργανο της σπλήνας. Αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί, καθώς η παράμετρος μέγιστης χωρητικότητας νανοσωματιδίων ανά μονάδα μάζας φαγοκυττάρων εκτιμήθηκε από πειραματικά δεδομένα με σημαντικά μικρότερη δόση σε σχέση με τις υπόλοιπες μελέτες που αξιοποιήθηκαν. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να επέρχεται άμεσα κορεσμός στη σπλήνα και η μέγιστη ποσότητα νανοσωματιδίων που μπορεί να συγχρατήσει στα φαγοκύτταρα είναι πολύ μικρή. Τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης για το διαμέρισμα της σπλήνας παρουσιάζονται στην εικόνα 5.49 και στο διάγραμμα 5.50.

Από τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης προκύπτουν ορισμένα σημαντικά ζητήματα ως προς το PBPK μοντέλο που αναπτύχθηκε αλλά και ως προς της μελέτες της βιοκατανομής νανοσωματιδίων του διοξειδίου του τιτανίου. Αρχικά, το μοντέλο φαίνεται ότι αδυνατεί να προβλέψει τη συσσώρευση νανοσωματιδίων στο όργανο της σπλήνας και απαιτείται επαναπροσδιορισμός των παραμέτρων του διαμερίσματος, πιθανότατα με τη χρήση περισσότερων πειραματικών δεδομένων. Ως προς το σκέλος των ερευνών, που είναι διαθέσιμες μέχρι αυτή τη στιγμή, παρατηρούνται έντονες διαφορές στις

```

Call:
lm(formula = log_similarity ~ dose_difference, data = df_log)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.4061 -0.2072 -0.1251  0.1432  0.9257

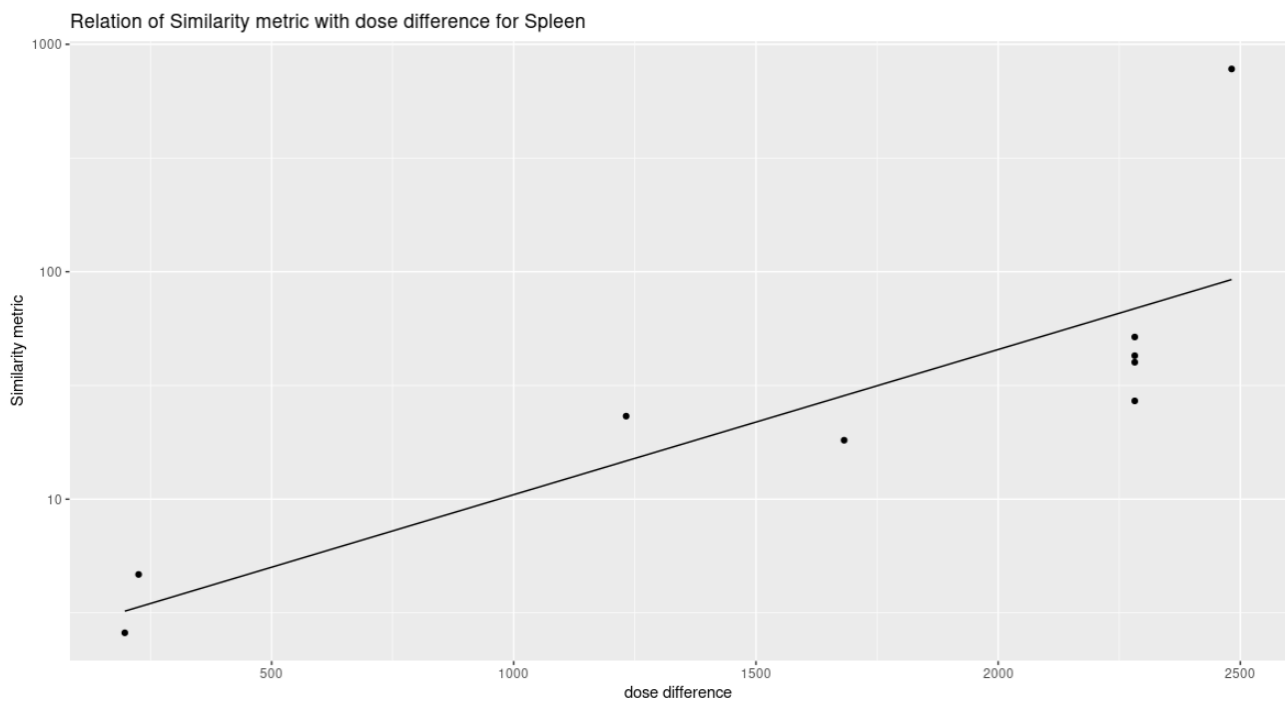
Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)   0.3819310   0.3064049    1.246  0.25268
dose_difference 0.0006381   0.0001640    3.892  0.00596 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.4214 on 7 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.6839,    Adjusted R-squared:  0.6388
F-statistic: 15.15 on 1 and 7 DF,  p-value: 0.005962

```

Σχήμα 5.49: Αποτελέσματα γραμμικής παλινδρόμησης.

μετρήσεις μεταξύ των ερευνών ακόμα κι όταν οι συνθήκες ήταν παρόμοιες. Κάτι τέτοιο είναι λογικό να μην μπορεί να το προβλέψει ένα μοντέλο, καθώς αν περιγράφει καλά τη μία μελέτη, τότε θα αστοχεί στο να περιγράψει τα πειραματικά δεδομένα μίας άλλης που εμφανίζει τόσο έντονες διαφορές, όπως αυτές που φαίνονται στο διάγραμμα 5.46. Επιπλέον, η ανακριβής αναφορά της μάζας των αρουραίων στις μελέτες, δηλαδή η αναφορά μόνο της ελάχιστης και της μέγιστης μάζας των αρουραίων και όχι του μέσου όρου των μαζών, δημιουργεί αυτομάτως μεγάλα σφάλματα στις προβλέψεις του μοντέλου.



Σχήμα 5.50: Συσχέτιση του δείκτη ομοιότητας S_d με τη διαφορά των δόσεων ανάμεσα στις εξωτερικές μελέτες και τη μελέτη αναφοράς.

Κεφάλαιο 6

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανάπτυξη ενός PBRK μοντέλου αποτελεί μία διαδικασία η οποία έχει πολλαπλά στάδια και απαιτεί ιδιαίτερη λεπτομέρεια σε καθένα από αυτά. Πιο καθοριστικό σημείο στην ανάπτυξη του μοντέλου αποδείχτηκε πως ήταν η επιλογή των στοχαστικών παραμέτρων που θα εκτιμηθούν μέσω των πειραματικών δεδομένων καθώς και η ανάπτυξη μία συλλογιστικής πορείας για την επιλογή αυτού του σετ. Στην παρούσα εργασία, η επιλογή των στοχαστικών παραμέτρων βασίστηκε σε μεγάλο βαθμό στην ολική ανάλυση ευαισθησίας που εφαρμόστηκε.

Οι δύο μέθοδοι ολικής ανάλυσης ευαισθησίας που εφαρμόστηκαν, η μέθοδος Morris και η Sobol, πρότειναν παραμετρικά σετ σημαντικών παραμέτρων τα οποία στη βάση τους συμφωνούν. Η διαφοροποίηση μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων είναι κάτι αναμενόμενο, καθώς διαφέρουν ριζικά τόσο στον τρόπο με τον οποίο υπολογίζουν τους δείκτες ευαισθησίας των παραμέτρων, όσο και στον τρόπο με τον οποίο εξερευνούν τον παραμετρικό χώρο. Εντούτοις, η μέθοδος Sobol πρότεινε ως σημαντικές μόνο δύο παραμέτρους, την παράμετρο $uptake_{li}$ και την $uptake_{spl}$. Η μέθοδος Morris αναγνώρισε κι αυτή ως πολύ σημαντικές παραμέτρους αυτές τις δύο, ενώ πρότεινε μερικές ακόμα. Επιπρόσθετα, φάνηκε ότι σημαντικό ρόλο στα αποτελέσματα και των δύο μεθόδων ανάλυσης διαδραμάτισαν οι κατανομές δειγματοληψίας των παραμέτρων. Κατανομές οι οποίες χαρακτηρίζονται ως *uninformative*, δηλαδή που δεν ενσωματώνουν πληροφορία από τη βιβλιογραφία, τείνουν να οδηγήσουν σε λιγότερο σαφή αποτελέσματα ολικής ανάλυσης ευαισθησίας, καθώς και οι δύο μέθοδοι σε αυτήν την περίπτωση αναδείχθηκε ως σημαντικό ένα πολύ ευρύτερο παραμετρικό σετ σε σχέση με την περίπτωση που οι κατανομές δειγματοληψίας ήταν *informative*. Ακόμη διαπιστώθηκε ότι η στάθμιση των τελικών δεικτών Sobol των παραμέτρων

μέσω των AUC των καμπυλών των πειραματικών δεδομένων είχε ως αποτέλεσμα να αναδείξει σε σημαντικές τις παραμέτρους εκείνες που καθορίζουν άμεσα τη μάζα νανοσωματιδίων σε όργανα τα οποία συγκεντρώνουν μεγαλύτερα ποσοστά της δόσης, ενώ ταπεινώσε τη σημαντικότητα εκείνων των παραμέτρων που συμμετέχουν σε όργανα, τα οποία συγκεντρώνουν μηδαμινά ποσοστά και συνεπώς είναι δευτερευούσης σημασίας ο προσδιορισμός τους. Μελλοντικά, αντί για στάθμιση με βάση μόνο των AUC, προτείνεται να χρησιμοποιηθεί η ποσότητα που συγκεντρώνεται σε ένα όργανο προς το σημείο αναχώρησης (point of departure), δηλαδή εκείνη τη δόση πάνω από την οποία παρατηρούνται διαταραχές στις κανονικές βιολογικές λειτουργίες ενός οργανισμού.

Ωστόσο, η χρήση των informative κατανομών δειγματοληψίας για την ανάλυση ευαισθησίας αποτελεί πολλές φορές σοβαρό εμπόδιο, λόγω της απουσίας πληροφοριών για τις τιμές αυτών των παραμέτρων. Η οπτική βελτιστοποίηση με δοκιμή και σφάλμα των τιμών αυτών των παραμέτρων, η οποία επιτεύχθηκε μέσω της οπτικής σύγκρισης των αποτελεσμάτων του μοντέλου με τα πειραματικά δεδομένα στα αντίστοιχα διαγράμματα μάζας-χρόνου, αποδείχτηκε ότι ήταν απαραίτητη, διότι οδήγησε σε καλύτερα και πιο ξεκάθαρα συμπεράσματα για την ολική ανάλυση ευαισθησίας. Επίσης, το στατιστικό μοντέλο που αναπτύχθηκε φάνηκε να ανταποκρίνεται καλύτερα όταν οι κατανομές δειγματοληψίας των παραμέτρων οδηγούσαν εξ αρχής σε καλά αποτελέσματα αναφορικά με τα πειραματικά δεδομένα.

Εν τέλει, η επιλογή του τελικού παραμετρικού σετ δεν βασίστηκε αποκλειστικά στα αποτελέσματα της ολικής ανάλυσης ευαισθησίας. Αυτό συνέβη διότι ο στόχος δεν ήταν αποκλειστικά ο προσδιορισμός των σημαντικότερων παραμέτρων, αλλά εκείνων των παραμέτρων οι οποίες οδηγούν σε καλή περιγραφή των πειραματικών δεδομένων σε όσο περισσότερα διαμερίσματα γίνεται. Ωστόσο, λόγω των εμφανών προβλημάτων ταυτοποιησιμότητας του συνόλου των παραμέτρων, υιοθετήθηκε η λογική προσδιορισμού μόνο τριών παραμέτρων και ενός προσθετικού σφάλματος για όλες τις παραμέτρους και στη συνέχεια αυξανόντουσαν οι παράμετροι, μία τη φορά, ενώ παράλληλα ελεγχόταν και η επιρροή που είχε στα αποτελέσματα η ενσωμάτωση επιπλέον παραμέτρων για την περιγραφή του σφάλματος στα διαμερίσματα. Ωστόσο, κρίθηκε απαραίτητος ο υπολογισμός ενός δείκτη για κάθε μία από τις εκδοχές που ελέγχθηκαν, ο οποίος θα δείχνει πόσο ποιοτικά περιγράφονται τα πειραματικά δεδομένα από το μοντέλο. Για το λόγο αυτό αξιοποιήθηκε ο δείκτης PBPK Index. Από τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν εξήχθησαν ενδιαφέροντα συμπεράσματα. Αρχικά, φάνηκε ότι η αύξηση των στοχαστικών παραμέτρων που προσδιορίζονται από 3 σε 5 οδήγησε σε μικρότερη τιμή PBPK Index, συνεπώς σε καλύτερη προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα. Είναι

αναμενόμενο ότι η αύξηση των εκτιμώμενων παραμέτρων οδηγεί και σε καλύτερα αποτελέσματα, ωστόσο, η από ένα σημείο και μετά προκύπτουν προβλήματα ταυτοποιησιμότητας. Οπότε, η λογική που ακολουθήθηκε ήταν η εκκίνηση των δοκιμών από έναν ελάχιστο αριθμό παραμέτρων, για τις οποίες δεν υπάρχει πρόβλημα ταυτοποιησιμότητας και στη συνέχεια ακολουθούσε σταδιακή αύξηση του παραμετρικού σετ, προσθέτοντας μία παράμετρο τη φορά. Ακόμα, πρέπει να τονιστεί ότι η μείωση που επιτεύχθηκε στο δείκτη PBPΚ Index με την χρήση τριών διαφορετικών παραμέτρων για το σφάλμα των διαμερισμάτων ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τη μείωση που προσέφερε η αύξηση των παραμέτρων. Μέσω αυτής της διαδικασίας επιλέχθηκαν οι στοχαστικές παράμετροι του μοντέλου και ο αριθμός των παραμέτρων που θα περιγράφουν το σφάλμα στα διαμερίσματα.

Η προσαρμογή των παραπάνω στοχαστικών παραμέτρων οδήγησε σε αρκετά καλή περιγραφή της βιοκατανομής του διοξειδίου του τιτανίου σχεδόν σε όλα τα διαμερίσματα. Εξαιρέση αποτελούν τα διαμερίσματα της μήτρας και του εγκεφάλου, όπου το μοντέλο αδυνατεί να προσεγγίσει τις τιμές των πειραματικών δεδομένων. Ωστόσο, αυτά τα δύο όργανα είναι εκείνα που συγκεντρώνουν σχεδόν μηδαμινά ποσοστά της δόσης που χορηγείται και είναι τα δύο όργανα με τη λιγότερη βαρύτητα. Αντιθέτως, το μοντέλο δείχνει να προσεγγίζει με μεγάλη αποτελεσματικότητα τη συσσώρευση των νανοσωματιδίων που πραγματοποιείται στο ήπαρ, όργανο στο οποίο συσσωρεύεται το μεγαλύτερο ποσοστό της δόσης. Εξίσου ικανοποιητικά περιγράφεται η μάζα του διοξειδίου του τιτανίου στα όργανα της σπλήνας, του σκελετού, των πνευμόνων, των μαλακών ιστών, καθώς και στο αίμα. Παρόλα αυτά, λιγότερο ικανοποιητική είναι η προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου για το διαμέρισμα της καρδιάς και των νεφρών, παραμένοντας όμως στην ίδια τάξη μεγέθους με τα πειραματικά δεδομένα.

Προκειμένου να είναι πιο ολοκληρωμένη η αξιολόγηση της προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου, χρησιμοποιήθηκε η τελική μορφή του μοντέλου ώστε να προβλέψει τα αποτελέσματα επιπλέον ερευνών. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 7 διαφορετικές μελέτες χορήγησης νανοσωματιδίων διοξειδίου του τιτανίου σε αρουραίους με ενδοφλέβια ένεση. Από την σύγκριση των προβλέψεων του μοντέλου με τα πειραματικά δεδομένα των ερευνών αυτών, προέκυψαν ενδιαφέροντα συμπεράσματα. Αρχικά, παρατηρήθηκε ότι το μοντέλο πραγματοποιεί ικανοποιητικές προβλέψεις για το διαμέρισμα του ήπατος για όλες τις μελέτες, προσεγγίζοντας τόσο της δυναμική της βιοκατανομής των νανοσωματιδίων στο συγκεκριμένο όργανο, όσο και το ύψος της μάζας που συσσωρεύεται. Αντιθέτως το μοντέλο αδυνατεί να περιγράψει την συσσώρευση των νανοσωματιδίων στο διαμέρισμα της σπλήνας σε όλες τις μελέτες, εκτός αυτής που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των

παραμέτρων του μοντέλου. Το βασικό συμπέρασμα που αναδείχθηκε με τη βοήθεια του γραμμικού μοντέλου συσχέτισης του δείκτη ομοιότητα με τη διαφορά της δόσης ανάμεσα στις εξωτερικές μελέτες και τη δόση της μελέτης που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των παραμέτρων του μοντέλου, είναι ότι έχει ρυθμιστεί σε πολύ χαμηλή τιμή η μέγιστη χωρητικότητα σε των φαγοκυττάρων σε νανοσωματίδια στο διαμέρισμα της σπλήνας. Συνεπώς όταν ζητείται από το μοντέλο να προβλέψει τη βιοκατανομή των νανοσωματιδίων στην περίπτωση που χορηγούνται μεγαλύτερες δόσεις, επέρχεται κατευθείαν κορεσμός στη σπλήνα, καλύπτοντας της μέγιστη χωρητικότητα των φαγοκυττάρων, συσσωρεύοντας ένα πολύ μικρό ποσοστό σε σχέση με αυτό που αναφέρουν τα δεδομένα. Επιπλέον, επειδή ισχύουν τα ισοζύγια μάζας, αν η σπλήνα συγκεντρώνει σημαντικά λιγότερη ποσότητα σε σχέση με τα δεδομένα, αυτό σημαίνει ότι η υπολειπόμενη ποσότητα θα προστεθεί σε άλλα διαμερίσματα, αυξάνοντας το σφάλμα και σε αυτά.

Επιπρόσθετα, κατά τον έλεγχο και σύγκριση των αποτελεσμάτων των εξωτερικών μελετών που χρησιμοποιήθηκαν παρατηρήθηκε μεγάλη διακύμανση για τα αποτελέσματα που έδιναν σε ίδια όργανα ακόμα και όταν χορηγούνταν η ίδια δόση στους αρουραίους. Αυτό προκαλεί πρώτον μεγάλη αβεβαιότητα στο στάδιο επικύρωσης του μοντέλου, καθώς το μοντέλο είναι αδύνατο να περιγράψει ταυτόχρονα δύο τόσο διαφορετικές καταστάσεις, λαμβάνοντας ως είσοδο την ίδια ποσότητα δόσης. Επιπλέον, αυτό γεννά ερωτήματα σχετικά με το ποιες μελέτες είναι καταλληλότερες για την αξιοποίησή τους ως δεδομένα για την εκτίμηση των στοχαστικών παραμέτρων του μοντέλου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαφορά στη βιοκατανομή δύο μελετών ίδιου μεγέθους και δόσης μπορεί να οφείλεται, πέρα από τη διαφορετική μεθοδολογία εκτίμησης της μάζας του TiO_2 στα όργανα, και σε παράγοντες που δεν αναφέρονται στα δεδομένα της μελέτης, για παράδειγμα στο δυναμικό Z (zeta potential) της ουσίας. Προφανώς, το ιδανικό θα ήταν να γίνει τροποποίηση του στατιστικού μοντέλου ώστε να αξιοποιεί την πληροφορία που περιέχεται σε πολλαπλές μελέτες. Έτσι, θα αποφεύγονται αστοχίες που πιθανό να έχει κάποια έρευνα για κάποιο όργανο και θα διορθώνεται σε μεγάλο βαθμό από τα δεδομένα των υπολοίπων μελετών, αν αυτές συμφωνούν. Επίσης, η αβεβαιότητα για την κατανομή της μάζας των αρουραίων που χρησιμοποιήθηκαν σε ορισμένες μελέτες δημιουργεί σοβαρή αβεβαιότητα στα αποτελέσματα του μοντέλου. Για το λόγο αυτό, θα έπρεπε να δίνεται η μέση τιμή των μαζών των αρουραίων και όχι απλά το εύρος τους. Έτσι, θα είναι εφικτό να υπολογιστεί με ακρίβεια όλο το σύνολο των φυσιολογικών παραμέτρων των αρουραίων, να δοθούν ακριβή αποτελέσματα της βιοκατανομής, αλλά και να προσδιοριστούν με μεγαλύτερη βεβαιότητα τα σφάλματα του μοντέλου για κάθε μελέτη. Στο σημείο αυτό να τονιστεί ότι το βέλτιστο θα ήταν να δίνονται αναλυτικά τα δεδομένα για κάθε αρουραίο αντί για στατιστικούς δείκτες.

Συμπερασματικά, λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα παραπάνω, θα μπορούσαν να ακολουθήσουν ορισμένες ενέργειες για τη βελτίωση του μοντέλου. Πρώτα, προτείνεται να αξιοποιηθούν πολλαπλές πειραματικές μελέτες κατά το στάδιο εφαρμογής του στατιστικού μοντέλου για την εκτίμηση των στοχαστικών παραμέτρων. Ωστόσο, πρέπει να δοθεί προσοχή στις συνθήκες κάτω από τις οποίες έγιναν οι μελέτες, καθώς το ύψος της δόσης φάνηκε να επηρεάζει τα αποτελέσματα του μοντέλου. Τέλος, προτείνεται η ενσωμάτωση του σχήματος των νανοσωματιδίων στη διαδικασία της μοντελοποίησης, ώστε να μπορεί να προβλεφθεί η βιοκατανομή των νανοσωματιδίων διαφορετικών σχημάτων, καθώς φάνηκε ότι ένα μοντέλο που χτίστηκε πάνω σε anatase TiO_2 ήταν αδύνατο να προβλέψει την βιοκατανομή nanorods, nanoribbons και nanotubes. Σε διαφορετική περίπτωση, θα πρέπει για κάθε διαφορετικό σχήμα, και ενδεχομένως μέγεθος, να δομείται διαφορετικό μοντέλο βασισμένο σε διαφορετικό πείραμα βιοκατανομής. Με τον τρόπο αυτό, ελαττώνεται σε σημαντικό βαθμό η ανάγκη εκτέλεσης πειραμάτων για τον προσδιορισμό των κινητικών κάθε σχήματος των νανοσωματιδίων.

Ως προς την ανάπτυξη του στατιστικού μοντέλου, θα μπορούσε να δοκιμαστεί η εφαρμογή διαφορετικού είδους στατιστικού σφάλματος. Συγκεκριμένα, στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν προσθετικά σφάλματα για την περιγραφή των σφαλμάτων του μοντέλου στα διάφορα διαμερίσματα, ενώ θα μπορούσαν να δοκιμαστούν και πολλαπλασιαστικά ή μικτά σφάλματα. Επιπρόσθετα, αξίζει να εξεταστεί αν η χρήση ενός ξεχωριστού στατιστικού σφάλματος για κάθε διαμέρισμα είναι εφικτή και οδηγεί σε μείωση της αβεβαιότητας των παραμέτρων, ή δημιουργεί προβλήματα ταυτοποιησιμότητας.

Γενικότερα, το θέμα της ταυτοποιησιμότητας είναι υψίστης σημασίας στην ανάπτυξη των μοντέλων και αποτέλεσε σημαντικό πρόβλημα και στην παρούσα μελέτη. Η εφαρμογή μεθόδων εξέτασης της ταυτοποιησιμότητας του μοντέλου είναι ένα πολύπλοκο ζήτημα λόγω του μαθηματικού υποβάθρου που απαιτείται για την προσέγγιση του θέματος. Ωστόσο, προτείνεται η εφαρμογή ελέγχου ταυτοποιησιμότητας κατά την ανάπτυξη του μοντέλου, καθώς και η μελέτη μεθόδων οι οποίες όχι μόνο εντοπίζουν προβλήματα ταυτοποιησιμότητας, αλλά προτείνουν και συνδυασμούς παραμέτρων οι οποίες είναι ταυτοποιήσιμες. Επιπλέον, η ανάλυση ταυτοποιησιμότητας συχνά συνδέεται με την ανάλυση ολικής ευαισθησίας των παραμέτρων. Ωστόσο, δεν έχει ξεκαθαριστεί αν η ανάλυση ευαισθησίας πρέπει να προηγείται ή να έπεται της ανάλυσης ταυτοποιησιμότητας. Αν η ανάλυση ευαισθησίας προηγηθεί, τότε θα αποκλειστούν οι ασήμαντες παράμετροι από την ανάλυση ταυτοποιησιμότητας, επομένως θα είναι πιο εύκολη υπολογιστικά η ανάλυση ταυτοποίησης.

Αντιθέτως, αν προηγηθεί η ανάλυση ταυτοποιησιμότητας, θα προταθούν παραμετρικά σεντ τα οποία είναι εφικτό να εκτιμηθούν και η ανάλυση ευαισθησίας θα πραγματοποιηθεί μόνο σε αυτές και όχι σε παραμέτρους οι οποίες δεν είναι εφικτό να προσδιοριστούν με ακρίβεια.

Βιβλιογραφία

- [1] Barrett, J., Fossler, M., Cadieu, K. and Gastonguay, M., 2008. *Pharmacometrics: A Multidisciplinary Field to Facilitate Critical Thinking in Drug Development and Translational Research Settings*. The Journal of Clinical Pharmacology, 48(5), pp.632-649.
- [2] U.S. Food and Drug Administration. 2020. *Division Of Pharmacometrics*. [online] Available at: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/division-pharmacometrics> [Accessed 31 July 2020].
- [3] Gabrielsson, J. and Weiner, D. (2012). *Non-compartmental analysis*. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), [online] 929(16), pp.377–389.
- [4] Thompson, M.D. and Beard, D.A. (2011). *Development of appropriate equations for physiologically based pharmacokinetic modeling of permeability-limited and flow-limited transport*. Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, 38(4), pp.405–421.
- [5] Marian, M. and Seghezzi, W., 2013. *Novel Biopharmaceuticals. Nonclinical Development of Novel Biologics, Biosimilars, Vaccines and Specialty Biologics*, pp.97-137.
- [6] Reddy, M., 2005. *Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling*. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, pp.1-2.
- [7] Wishart, D., 2007. *Improving Early Drug Discovery through ADME Modelling*. Drugs in R D, 8(6), pp.349-362.
- [8] Zhuang, X. and Lu, C., 2016. *PBPK modeling and simulation in drug research and development*. Acta Pharmaceutica Sinica B, 6(5), pp.430-440.
- [9] Schmidt, S. and Derendorf, H., 2014. *Applied Pharmacometrics*. 1st ed. Springer, p.8.

- [10] Jones, H. and Rowland-Yeo, K., 2013. *Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development*. CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 2(8), p.e63.
- [11] Teorell, T., 1937. *STUDIES ON THE DIFFUSION EFFECT UPON IONIC DISTRIBUTION*. The Journal of General Physiology, 21(1), pp.107-122.
- [12] Andersen, M., Yang, R., Clewell, H. and Reddy, M., 2005. *Introduction: A Historical Perspective of the Development and Applications of PBPK Models*. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling, pp.1-18.
- [13] Bischoff, K., Dedrick, R., Zaharko, D. and Longstreth, J., 1971. *Methotrexate Pharmacokinetics*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 60(8), pp.1128-1133.
- [14] Peters, S., 2012. *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling And Simulations: Principles, Methods, And Applications In The Pharmaceutical Industry*. John Wiley & Sons, p.18.
- [15] Chan, Y., Ng, K. and Sim, D., 2015. *Pharmacological Basis Of Acute Care*. 1st ed. Cham: Springer International Publishing, pp.12-13.
- [16] Nano.gov. 2020. *What Is Nanotechnology? | Nano*. [online] Available at: <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition> [Accessed 5 August 2020].
- [17] Zheng, H., Yin, L., Zhang, X., Zhang, H., Hu, R., Yin, Y., Qiu, T., Xiong, X. and Wang, Q., 2016. *Redox Sensitive Shell and Core Crosslinked Hyaluronic Acid Nanocarriers for Tumor-Targeted Drug Delivery*. Journal of Biomedical Nanotechnology, 12(8), pp.1641-1653.
- [18] Patra, J., Shukla, A. and Das, G., 2020. *Advances In Pharmaceutical Biotechnology*. 1st ed. Singapore: Springer, pp.247-259.
- [19] Sanvicens, N. and Marco, M., 2008. *Multifunctional nanoparticles – properties and prospects for their use in human medicine*. Trends in Biotechnology, 26(8), pp.425-433.
- [20] Torchilin, V., 2005. *Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers*. Nature Reviews Drug Discovery, 4(2), pp.145-160.

- [21] Mody, V., Siwale, R., Singh, A. and Mody, H., 2010. *Introduction to metallic nanoparticles*. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 2(4), p.282.
- [22] Ahmad, M., Akhter, S., Jain, G., Rahman, M., Pathan, S., Ahmad, F. and Khar, R., 2010. *Metallic nanoparticles: technology overview & drug delivery applications in oncology*. Expert Opinion on Drug Delivery, 7(8), pp.927-942.
- [23] Cai, W., 2008. *Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology*. Nanotechnology, Science and Applications, Volume 1, pp.17-32.
- [24] Vines, J., Yoon, J., Ryu, N., Lim, D. and Park, H., 2019. *Gold Nanoparticles for Photothermal Cancer Therapy*. Frontiers in Chemistry, 7.
- [25] GHOSH, P., HAN, G., DE, M., KIM, C. and ROTELLO, V., 2008. *Gold nanoparticles in delivery applications*. Advanced Drug Delivery Reviews, 60(11), pp.1307-1315.
- [26] Li, M., Al-Jamal, K., Kostarelos, K. and Reineke, J., 2010. *Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Nanoparticles*. ACS Nano, 4(11), pp.6303-6317.
- [27] Utembe, W., Clewell, H., Sanabria, N., Doganis, P. and Gulumian, M., 2020. *Current Approaches and Techniques in Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling of Nanomaterials*. Nanomaterials, 10(7), p.1267.
- [28] Park, J. and Oh, N., 2014. *Endocytosis and exocytosis of nanoparticles in mammalian cells*. International Journal of Nanomedicine, p.51.
- [29] REJMAN, J., OBERLE, V., ZUHORN, I. and HOEKSTRA, D., 2004. *Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis*. Biochemical Journal, 377(1), pp.159-169.
- [30] Li, D., Johanson, G., Emond, C., Carlander, U., Philbert, M. and Jolliet, O., 2014. *Physiologically based pharmacokinetic modeling of polyethylene glycol-coated polyacrylamide nanoparticles in rats*. Nanotoxicology, 8(sup1), pp.128-137.
- [31] Bachler, G., von Goetz, N. and Hungerbuhler, K., 2014. *Using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling for dietary risk assessment of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles*. Nanotoxicology, 9(3), pp.373-380.

- [32] Liang, X., Wang, H., Grice, J., Li, L., Liu, X., Xu, Z. and Roberts, M., 2016. *Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Long-Circulating Inorganic Nanoparticles*. Nano Letters, 16(2), pp.939-945.
- [33] Aborig, M., Malik, P., Nambiar, S., Chelle, P., Darko, J., Mutsaers, A., Edginton, A., Fleck, A., Osei, E. and Wettig, S., 2019. *Biodistribution and Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling of Gold Nanoparticles in Mice with Interspecies Extrapolation*. Pharmaceutics, 11(4), p.179.
- [34] Gelman, A., Carlin, J., Stern, H., Dunson, D., Vehtari, A. and Rubin, D., 2013. *Bayesian Data Analysis, Third Edition*. 3rd ed. Hoboken: CRC Press, pp.6-8, 39-42, 52-56, 275-280.
- [35] Brooks, S., Gelman, A., Jones, G. and Meng, X., 2011. *Handbook Of Markov Chain Monte Carlo*. 1st ed. Hoboken: Chapman & Hall/CRC, pp.4-7.
- [36] Montgomery, D. and Runger, G., 2014. *Applied Statistics And Probability For Engineers*. 6th ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, Inc., pp.242-243.
- [37] Stigter, J.D. and Molenaar, J. (2015). *A fast algorithm to assess local structural identifiability*. Automatica, 58, pp.118–124.
- [38] Saltelli, A., 2002. *Sensitivity Analysis for Importance Assessment*. Risk Analysis, 22(3), pp.579-590.
- [39] Iooss, B. and Lemaître, P., 2015. *A Review on Global Sensitivity Analysis Methods*. Uncertainty Management in Simulation-Optimization of Complex Systems, pp.101-122.
- [40] Morio, J., 2011. *Global and local sensitivity analysis methods for a physical system*. European Journal of Physics, 32(6), pp.1577-1583.
- [41] Felmler, M., Krzyzanski, W., Morse, B. and Morris, M., 2011. *Use of a Local Sensitivity Analysis to Inform Study Design Based on a Mechanistic Toxicokinetic Model for γ -Hydroxybutyric Acid*. The AAPS Journal, 13(2), pp.240-254.
- [42] Saltelli, A., 2008. *Global Sensitivity Analysis*. 1st ed. Chichester, England: John Wiley, p.1.
- [43] Di Stefano, J., 2014. *Dynamic Systems Biology Modeling And Simulation*. 1st ed. Amsterdam: Academic Press, pp.436-482.

- [44] Liu, D., Li, L., Rostami-Hodjegan, A., Bois, F.Y. and Jamei, M. (2020). *Considerations and Caveats when Applying Global Sensitivity Analysis Methods to Physiologically Based Pharmacokinetic Models*. The AAPS Journal, 22(5).
- [45] Morris, M.D. (1991). *Factorial Sampling Plans for Preliminary Computational Experiments*. Technometrics, 33(2), pp.161–174.
- [46] Saltelli, A., Tarantola, S. and Chan, K.P.-S. (1999). *A Quantitative Model-Independent Method for Global Sensitivity Analysis of Model Output*. Technometrics, 41(1), pp.39–56.
- [47] Saltelli, A. (2002). *Making best use of model evaluations to compute sensitivity indices*. Computer Physics Communications, 145(2), pp.280–297.
- [48] Campolongo, F., Cariboni, J. and Saltelli, A. (2007). An effective screening design for sensitivity analysis of large models. *Environmental Modelling and Software*, 22(10), pp.1509–1518.
- [49] McNally, K., Cotton, R. and Loizou, G.D. (2011). *A Workflow for Global Sensitivity Analysis of PBPK Models*. *Frontiers in Pharmacology*, 2.
- [50] Hsieh, N.-H., Reisfeld, B., Bois, F.Y. and Chiu, W.A. (2018). Applying a Global Sensitivity Analysis Workflow to Improve the Computational Efficiencies in Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling. *Frontiers in Pharmacology*, 9.
- [51] Sobol, I.M. (2001). *Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates*. *Mathematics and Computers in Simulation*, 55(1–3), pp.271–280.
- [52] Abdi, H. and Williams, L.J. (2010). *Principal component analysis*. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), pp.433–459.
- [53] Chen, T., Yan, J. and Li, Y. (2014). *Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1), pp.95–104.
- [54] Ziental, D., Czarczynska-Goslinska, B., Mlynarczyk, D.T., Glowacka-Sobotta, A., Stanisz, B., Goslinski, T. and Sobotta, L. (2020). *Titanium Dioxide Nanoparticles: Prospects and Applications in Medicine*. *Nanomaterials*, 10(2), p.387.

- [55] Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F. and Cogliano, V. (2006). *Carcinogenicity of carbon black, titanium dioxide, and talc*. *The Lancet Oncology*, 7(4), pp.295–296.
- [56] Frank, S.N. and Bard, A.J. (1977). *Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder*. *Journal of the American Chemical Society*, 99(1), pp.303–304.
- [57] Hoffmann, M.R., Martin, S.T., Choi, Wonyong. and Bahnemann, D.W. (1995). *Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis*. *Chemical Reviews*, 95(1), pp.69–96.
- [58] Fujishima, A. and Zhang, X. (2006). *Titanium dioxide photocatalysis: present situation and future approaches*. *Comptes Rendus Chimie*, 9(5–6), pp.750–760.
- [59] Bahadar, H., Maqbool, F., Niaz, K. and Abdollahi, M. (2016). *Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models*. *Iranian biomedical journal*, 20(1), pp.1–11.
- [60] Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P. and Schiestl, R.H. (2009). *Titanium Dioxide Nanoparticles Induce DNA Damage and Genetic Instability In vivo in Mice*. *Cancer Research*, 69(22), pp.8784–8789.
- [61] Liu, R., Yin, L., Pu, Y., Liang, G., Zhang, J., Su, Y., Xiao, Z. and Ye, B. (2009). *Pulmonary toxicity induced by three forms of titanium dioxide nanoparticles via intra-tracheal instillation in rats*. *Progress in Natural Science*, 19(5), pp.573–579.
- [62] Warheit, D.B., Brock, W.J., Lee, K.P., Webb, T.R. and Reed, K.L. (2005). *Comparative Pulmonary Toxicity Inhalation and Instillation Studies with Different TiO₂ Particle Formulations: Impact of Surface Treatments on Particle Toxicity*. *Toxicological Sciences*, 88(2), pp.514–524.
- [63] Kreyling, W.G., Holzwarth, U., Haberl, N., Kozempel, J., Hirn, S., Wenk, A., Schleh, C., Schäffler, M., Lipka, J., Semmler-Behnke, M. and Gibson, N. (2017). *Quantitative biokinetics of titanium dioxide nanoparticles after intravenous injection in rats: Part 1*. *Nanotoxicology*, 11(4), pp.434–442.
- [64] Rohatgi, A. (2020). *WebPlotDigitizer: Version 4.4*. [online] Automeris.io. Available at: <https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>.

- [65] Elgrabli, D., Beaudouin, R., Jbilou, N., Floriani, M., Pery, A., Rogerieux, F. and Lacroix, G. (2015). *Biodistribution and Clearance of TiO₂ Nanoparticles in Rats after Intravenous Injection*. PLOS ONE, 10(4), p.e0124490.
- [66] Haahr, T. (2020). *Parliament objects to legislation on food products that might be harmful to kids* | News | European Parliament. [online] www.europarl.europa.eu. Available at: <https://www.europarl.europa.eu/news/en/press-room/20201002IPR88447/parliament-objects-to-legislation-on-food-products-that-might-be-harmful-to-kids> [Accessed 3 Jan. 2021].
- [67] Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K., Fowler, P., Frutos Fernandez, M.J., Gürtler, R., Gundert-Remy, U., Husøy, T., Mennes, W., Agneta Oskarsson, P.M., Rainieri, S., Shah, R., Waalkens-Berendsen, I., Wölfle, D., Gaffet, E., Mast, J., Peters, R., Rincon, A.M. and Fürst, P. (2019). *Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution*. EFSA Journal, 17(7).
- [68] Carlander, U., Li, D., Jolliet, O., Emond, C. and Johanson, G. (2016). *Toward a general physiologically-based pharmacokinetic model for intravenously injected nanoparticles*. International Journal of Nanomedicine, p.625.
- [69] Brown, R.P., Delp, M.D., Lindstedt, S.L., Rhomberg, L.R. and Beliles, R.P. (1997). *Physiological Parameter Values for Physiologically Based Pharmacokinetic Models*. Toxicology and Industrial Health, 13(4), pp.407–484.
- [70] Lee, H. and Blaufox, M. (1985). *Blood Volume in the Rat*. . Journal of Nuclear Medicine.
- [71] Rotondo, F., Romero, M. del M., Ho-Palma, A.C., Remesar, X., Fernández-López, J.A. and Alemany, M. (2016). *Quantitative analysis of rat adipose tissue cell recovery, and non-fat cell volume, in primary cell cultures*. PeerJ, 4, p.e2725.
- [72] Malik, A.B., Kaplan, J.E. and Saba, T.M. (1976). *Reference sample method for cardiac output and regional blood flow determinations in the rat*. Journal of Applied Physiology, 40(3), pp.472–475.
- [73] www.systems-biology.com. (n.d.). Computational Biology: PK-Sim® and MoBi®. [online] Available at: <http://www.systems-biology.com/products/pk-sim/> [Accessed 23 Jan. 2021].

- [74] Iooss, B., Pujol, G., Janon, A. and Veiga, S. (2021). “sensitivity package” (v.1.24.0). [online] Rdocumentation.org. Available at: <https://www.rdocumentation.org/packages/sensitivity> [Accessed 24 Jan. 2021].
- [75] Stan Development Team. 2021. *Stan Modeling Language Users Guide and Reference Manual*, 2.19.2. <https://mc-stan.org>
- [76] Betancourt, M. (2018). *A Conceptual Introduction to Hamiltonian Monte Carlo*. [online] <https://arxiv.org/>. Available at: <https://arxiv.org/abs/1701.02434> [Accessed 28 Jan. 2021].
- [77] Krishnan, K., Haddad, S. and Pelekis, M. (1995). *A Simple Index for Representing the Discrepancy between Simulations of Physiological Pharmacokinetic Models and Experimental Data*. *Toxicology and Industrial Health*, 11(4), pp.413–421.
- [78] Bergstrand, M., Hooker, A.C., Wallin, J.E. and Karlsson, M.O. (2011). *Prediction-Corrected Visual Predictive Checks for Diagnosing Nonlinear Mixed-Effects Models*. *The AAPS Journal*, 13(2), pp.143–151.
- [79] Xie, G., Wang, C., Sun, J. and Zhong, G. (2011). *Tissue distribution and excretion of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles*. *Toxicology Letters*, 205(1), pp.55–61.
- [80] Fabian, E., Landsiedel, R., Ma-Hock, L., Wiench, K., Wohlleben, W. and van Ravenzwaay, B. (2008). *Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats*. *Archives of Toxicology*, [online] 82(3), pp.151–157.
- [81] Geraets, L., Oomen, A.G., Krystek, P., Jacobsen, N.R., Wallin, H., Laurentie, M., Verharen, H.W., Brandon, E.F. and de Jong, W.H. (2014). *Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats*. *Particle and Fibre Toxicology*, 11(1), p.30.
- [82] Union, P.O. of the E. (2014). *Titanium dioxide, NM-100, NM-101, NM-102, NM-103, NM-104, NM-105 : characterisation and physico-chemical properties*. [online] op.europa.eu. Available at: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/0ca3a430-cd22-4eea-9d29-e2953b290b71/language-en> [Accessed 18 Feb. 2021].
- [83] Disdier, C., Devoy, J., Cosnefroy, A., Chalansonnet, M., Herlin-Boime, N., Brun, E., Lund, A. and Mabondzo, A. (2015). *Tissue biodistribution of intravenously administrated titanium*

dioxide nanoparticles revealed blood-brain barrier clearance and brain inflammation in rat.

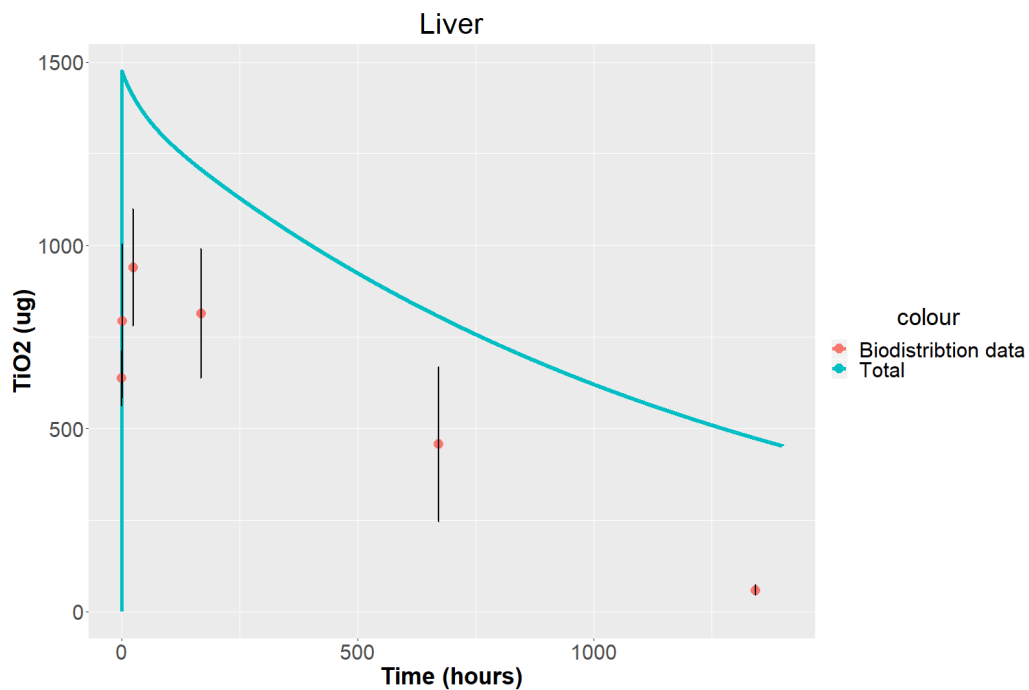
Particle and Fibre Toxicology, 12(1).

- [84] Kamal, N., Zaki, A., El-Shahawy, A.A., Sayed, O.M. and El-Dek, S. (2020). *Changing the morphology of one-dimensional titanate nanostructures affects its tissue distribution and toxicity.* Toxicology and Industrial Health, 36(4), pp.272–286.
- [85] Shinohara, N., Danno, N., Ichinose, T., Sasaki, T., Fukui, H., Honda, K. and Gamo, M. (2013). *Tissue distribution and clearance of intravenously administered titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles.* Nanotoxicology, 8(2), pp.132–141.

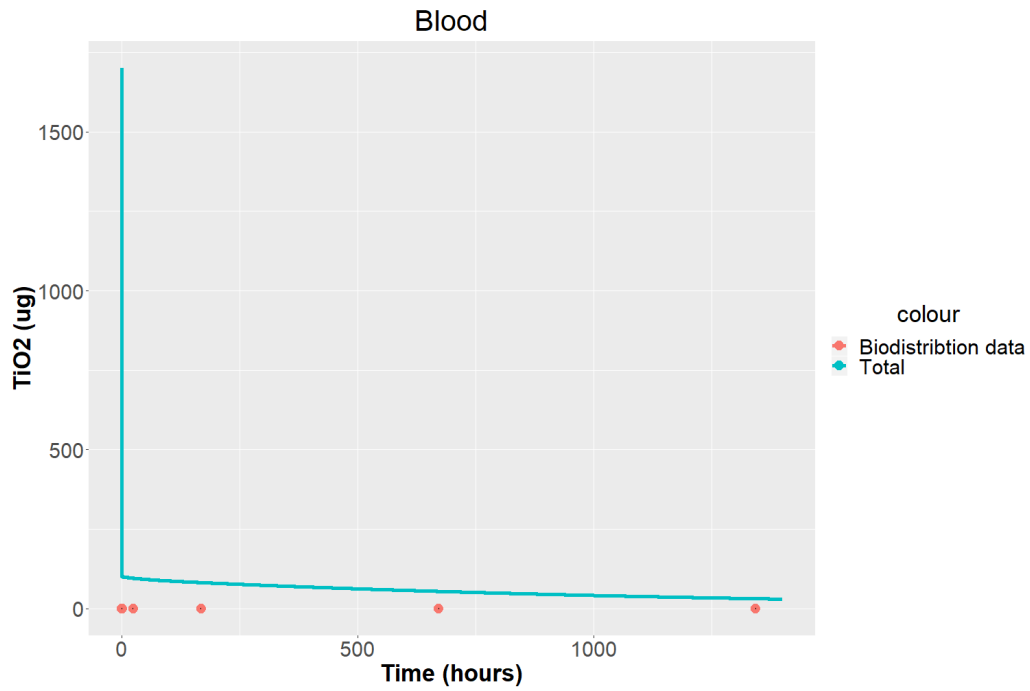
Παράρτημα Α΄

Διαγράμματα πρόβλεψης εξωτερικών δεδομένων

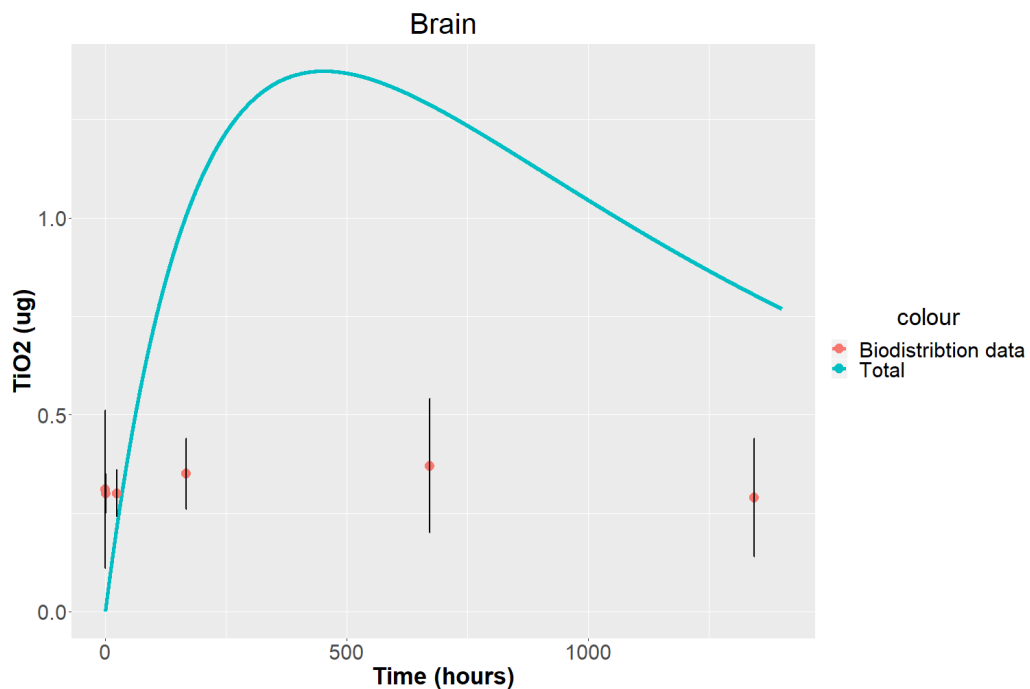
Α΄.1 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Elgrabli *et al.*[65]



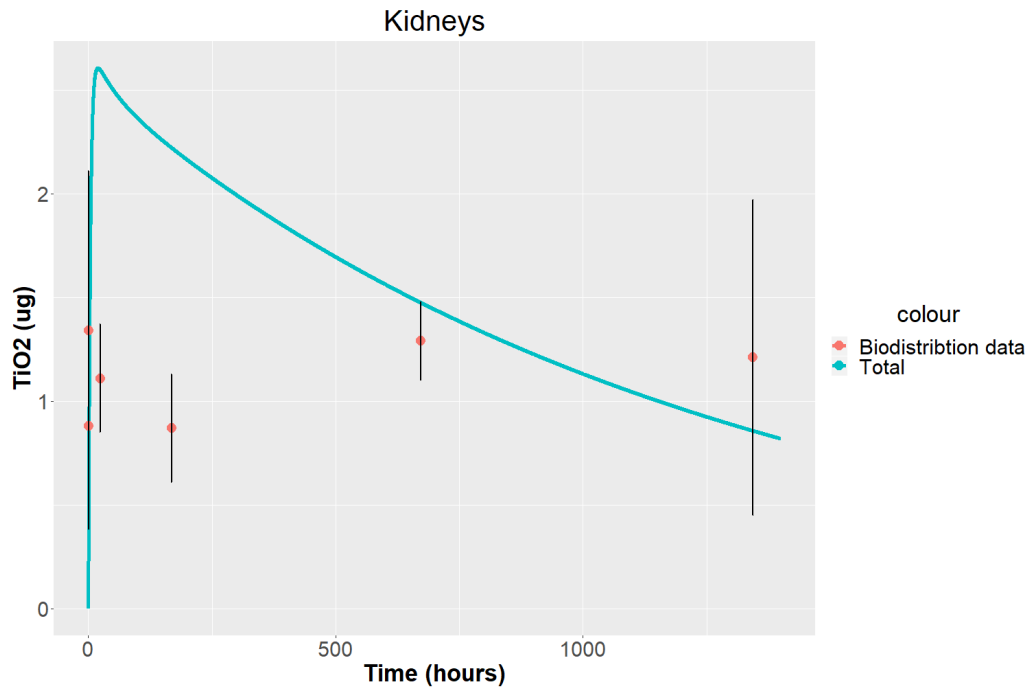
Σχήμα Α΄.1: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65] για το διαμέρισμα του Ήπατος.



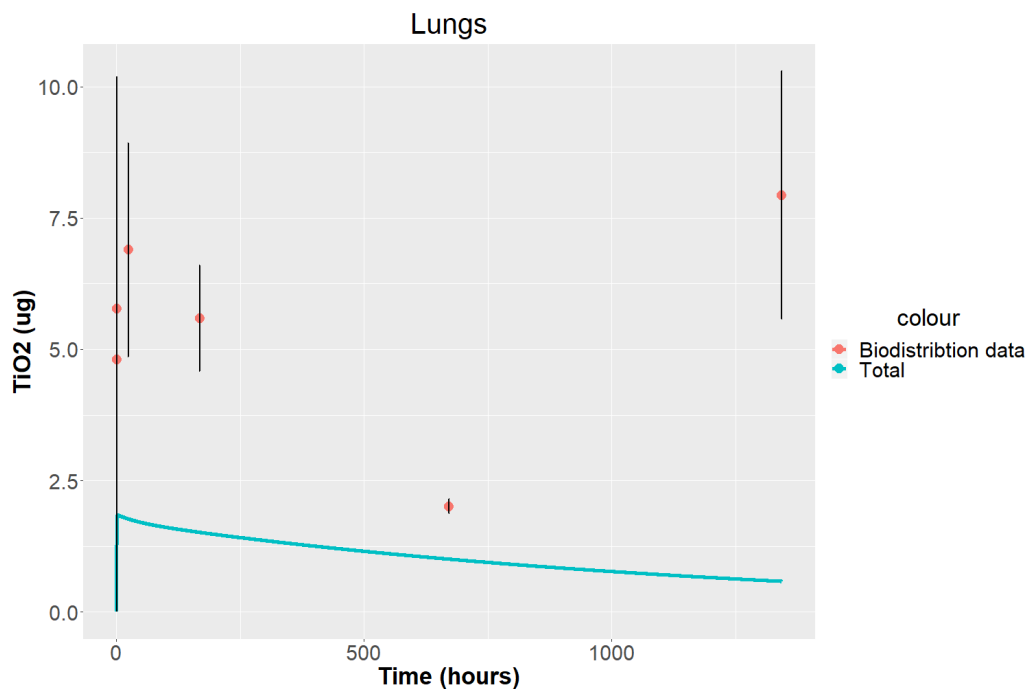
Σχήμα Α'.2: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα του Αίματος.



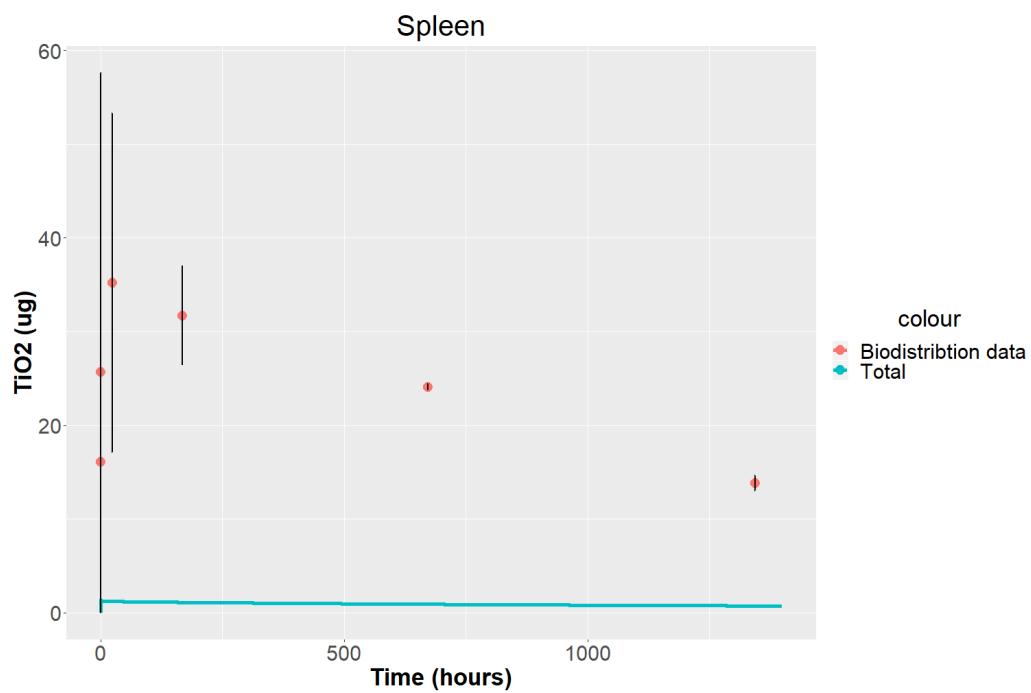
Σχήμα Α'.3: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



Σχήμα Α'.4: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli et al.[65]για το διαμέρισμα των Νεφρών.

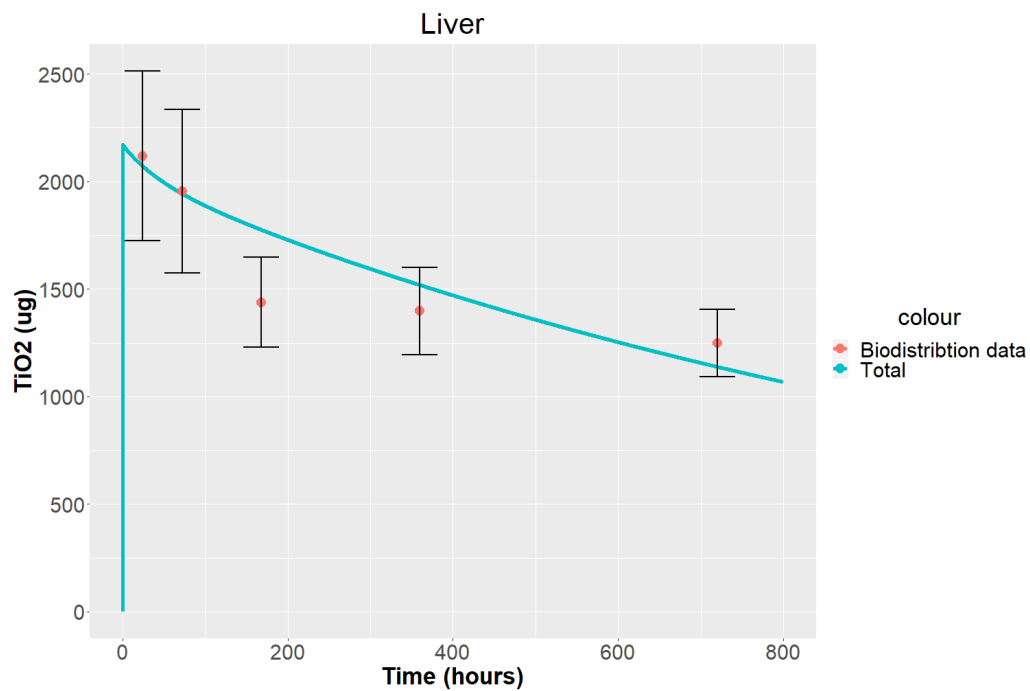


Σχήμα Α'.5: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli et al.[65]για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.

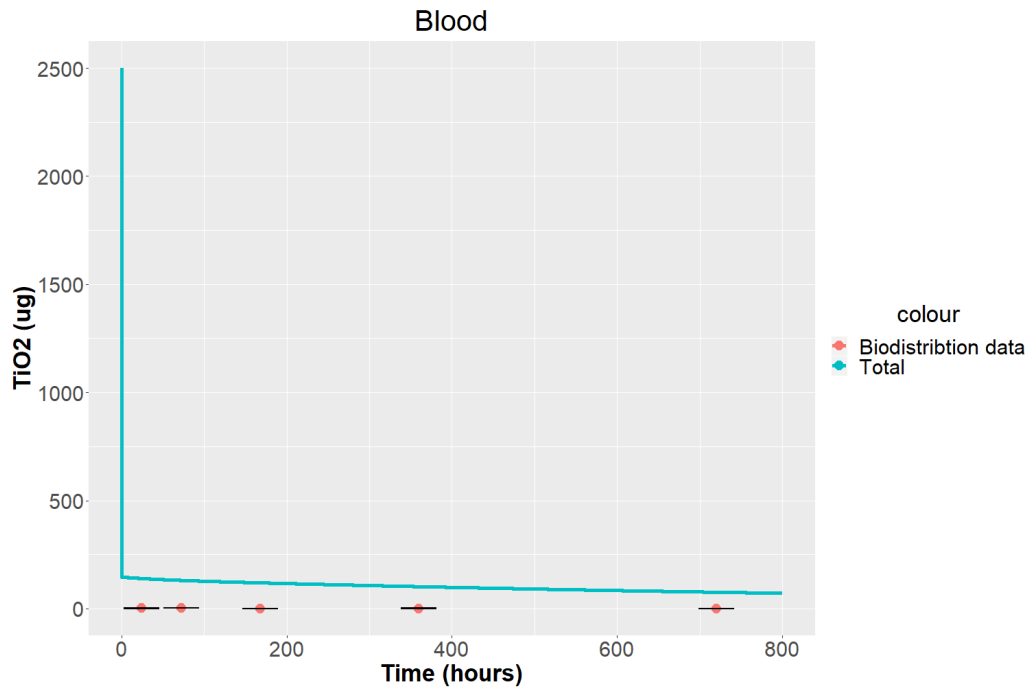


Σχήμα Α'.6: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Elgrabli *et al.*[65]για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

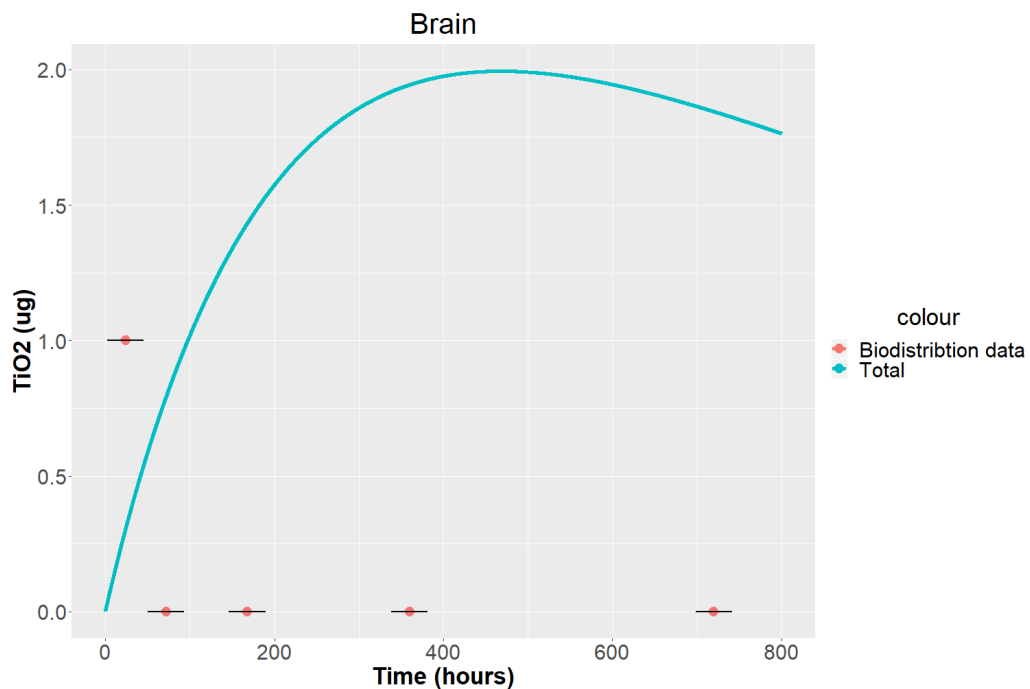
A'.2 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Xie et al.[79]



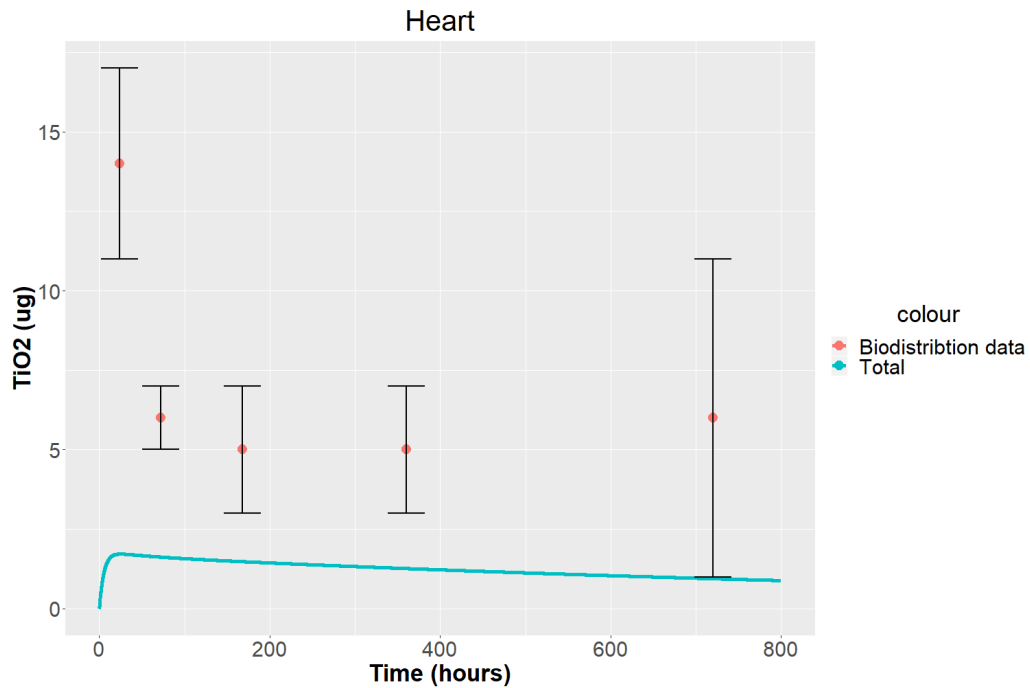
Σχήμα A'.7: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie et al.[79]για το διαμέρισμα του Ήπατος.



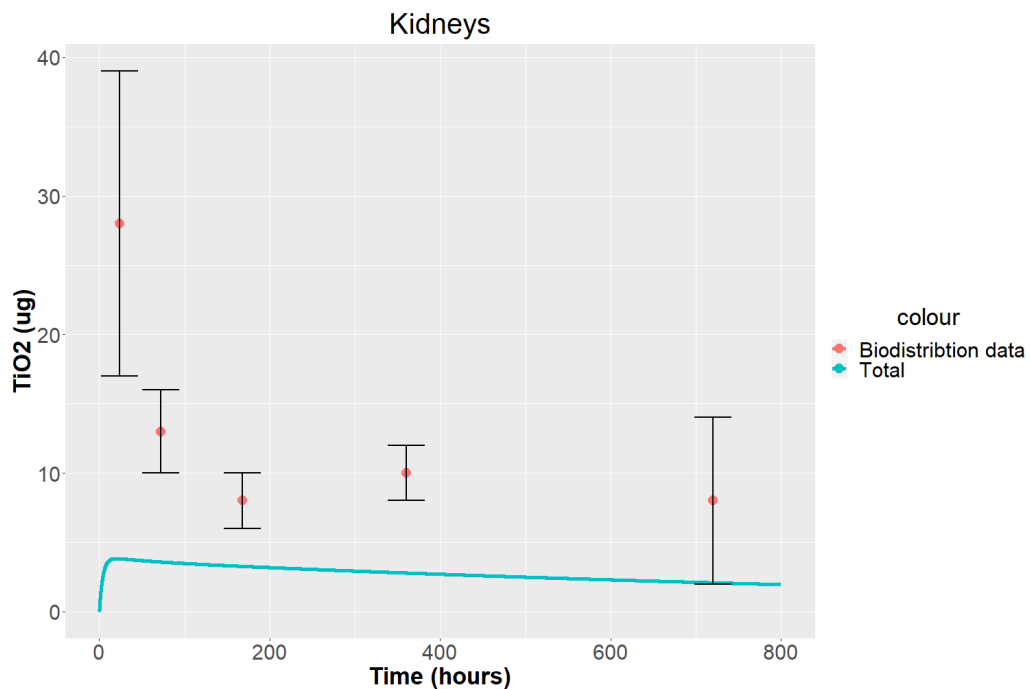
Σχήμα Α'.8: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie *et al.*[79]για το διαμέρισμα του Αίματος.



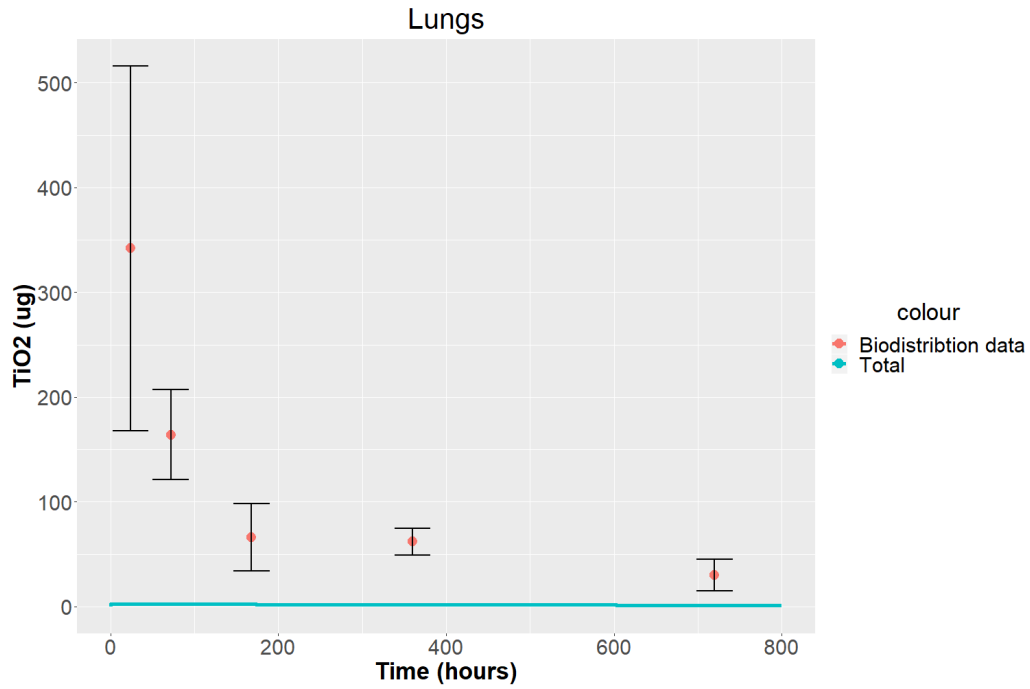
Σχήμα Α'.9: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie *et al.*[79]για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



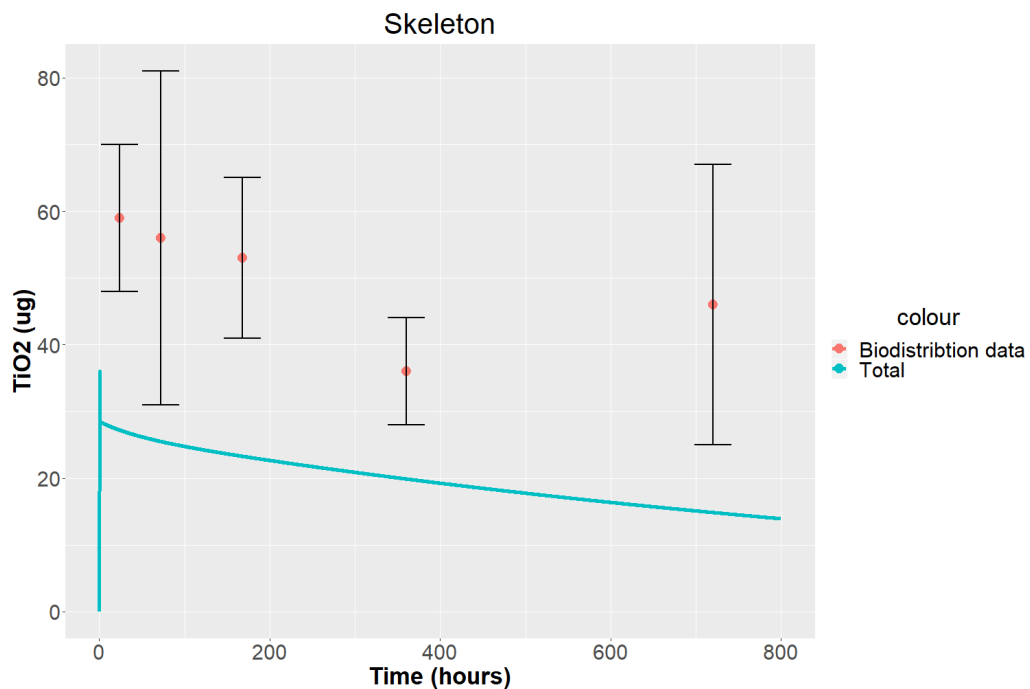
Σχήμα Α'.10: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie et al.[79]για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



Σχήμα Α'.11: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie et al.[79]για το διαμέρισμα των Νεφρών.



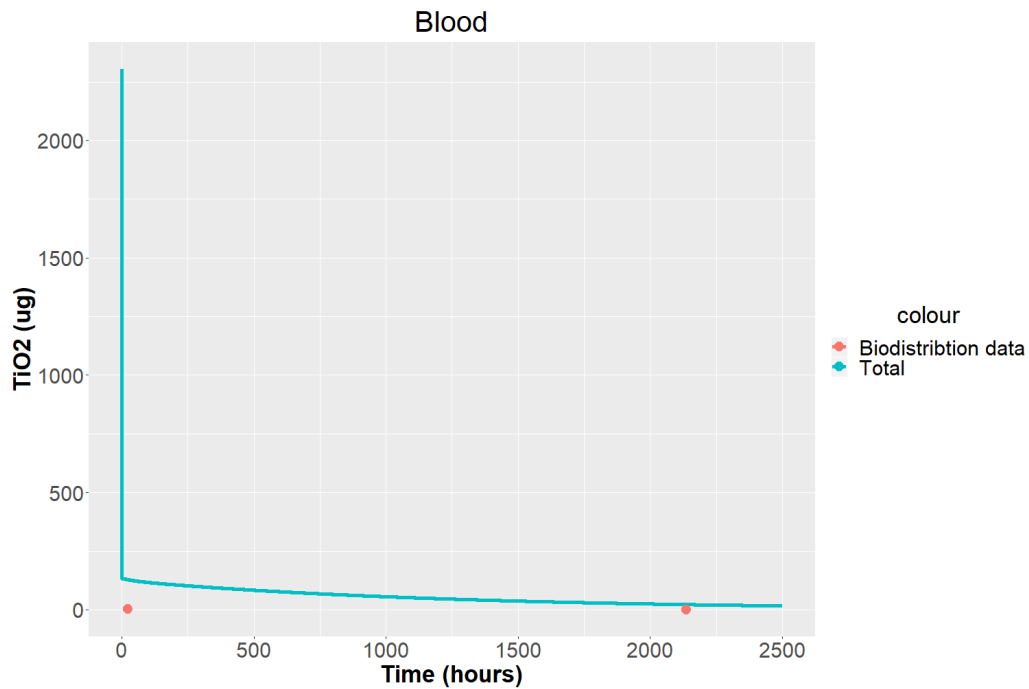
Σχήμα Α'.12: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie *et al.*[79]για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



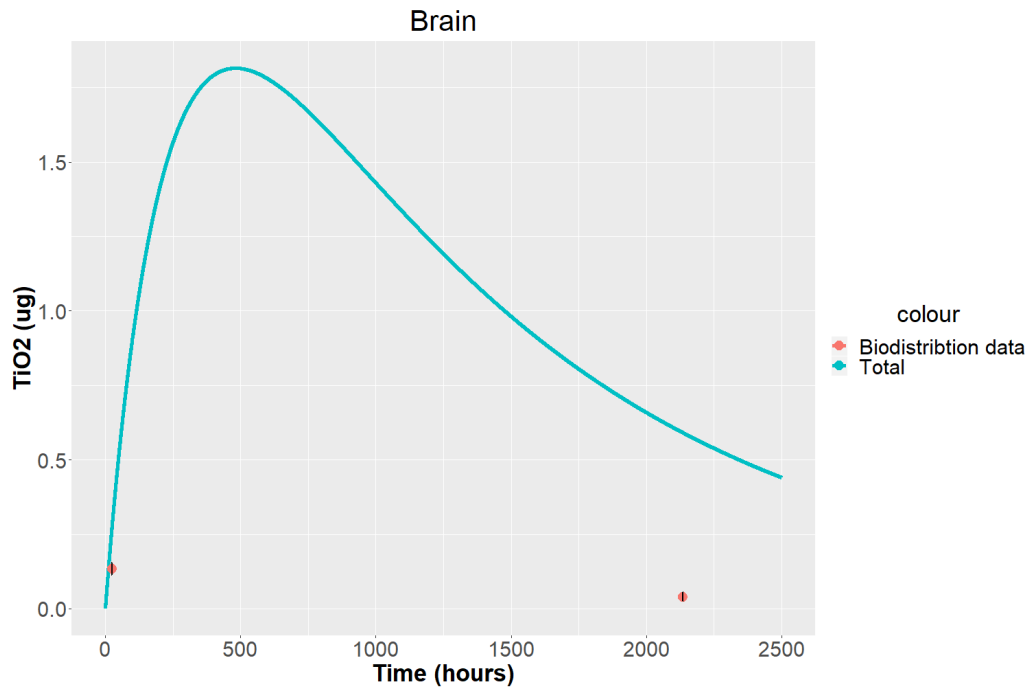
Σχήμα Α'.13: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Xie *et al.*[79]για το διαμέρισμα του Σκελετού.

Α'.3 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Garaets et al.[81]

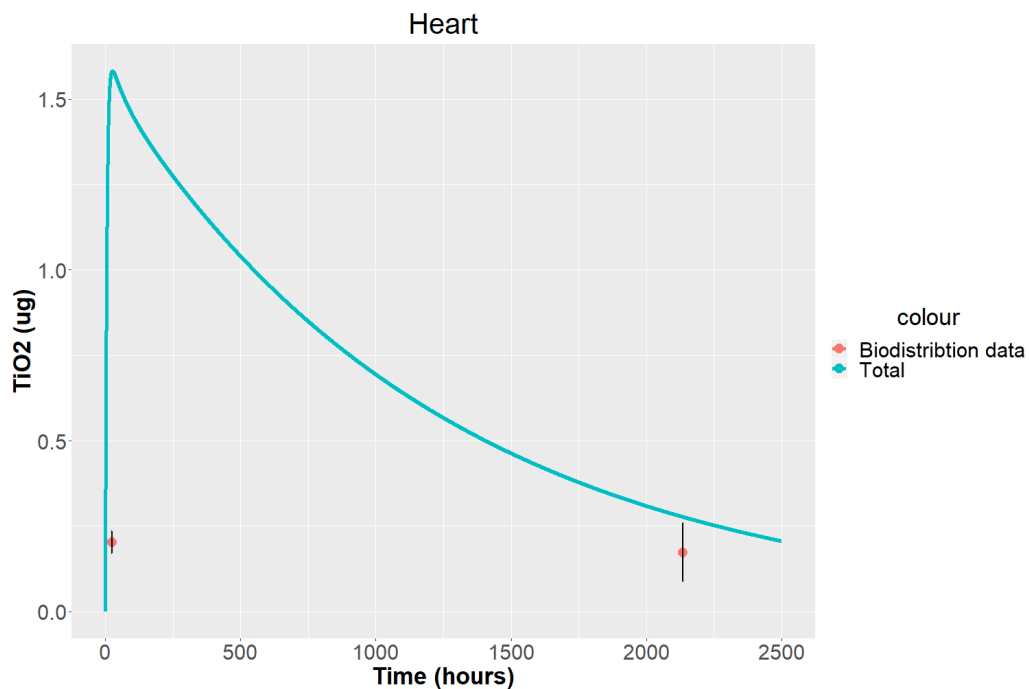
Α'.3.1 Νανοσωματίδια NM100



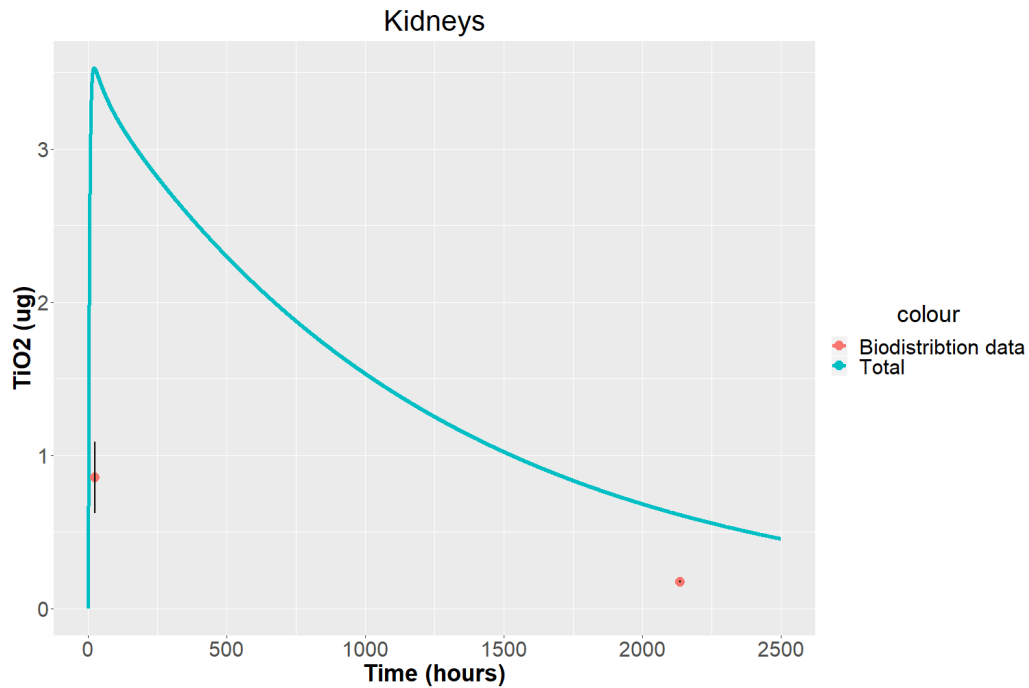
Σχήμα Α'.14: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM100) για το διαμέρισμα του Αίματος.



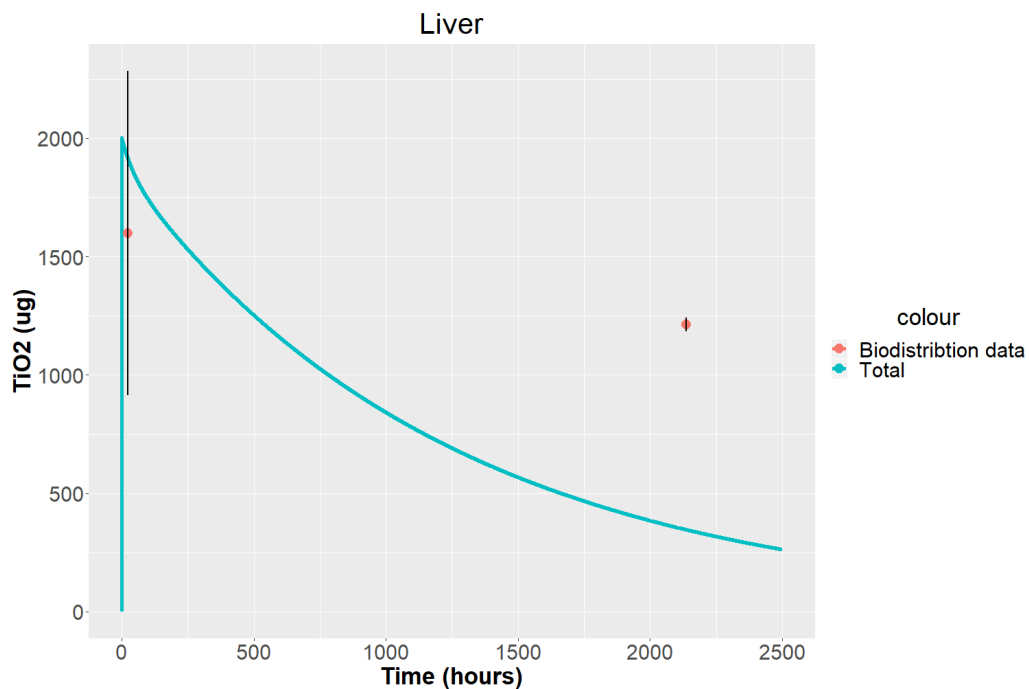
Σχήμα Α'.15: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



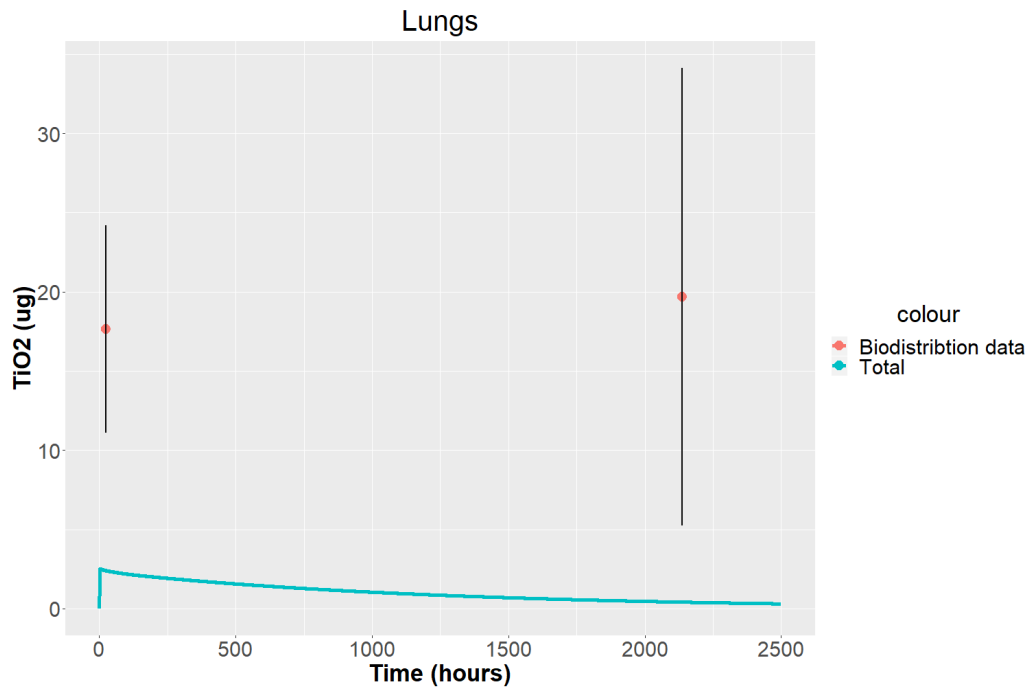
Σχήμα Α'.16: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



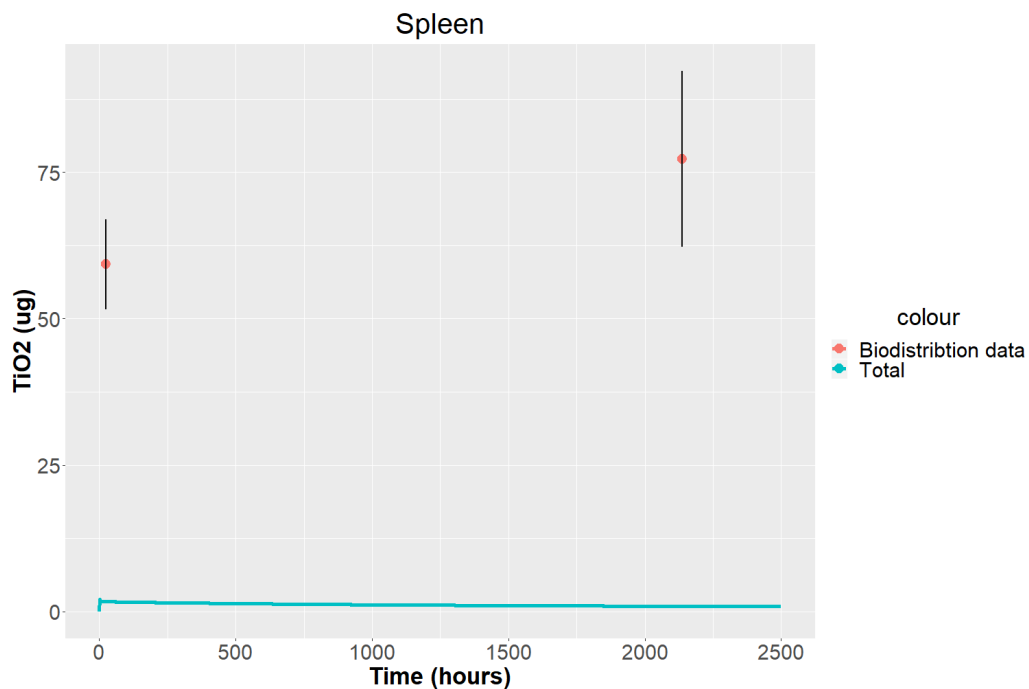
Σχήμα Α.17: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM100) για το διαμέρισμα των Νεφρών.



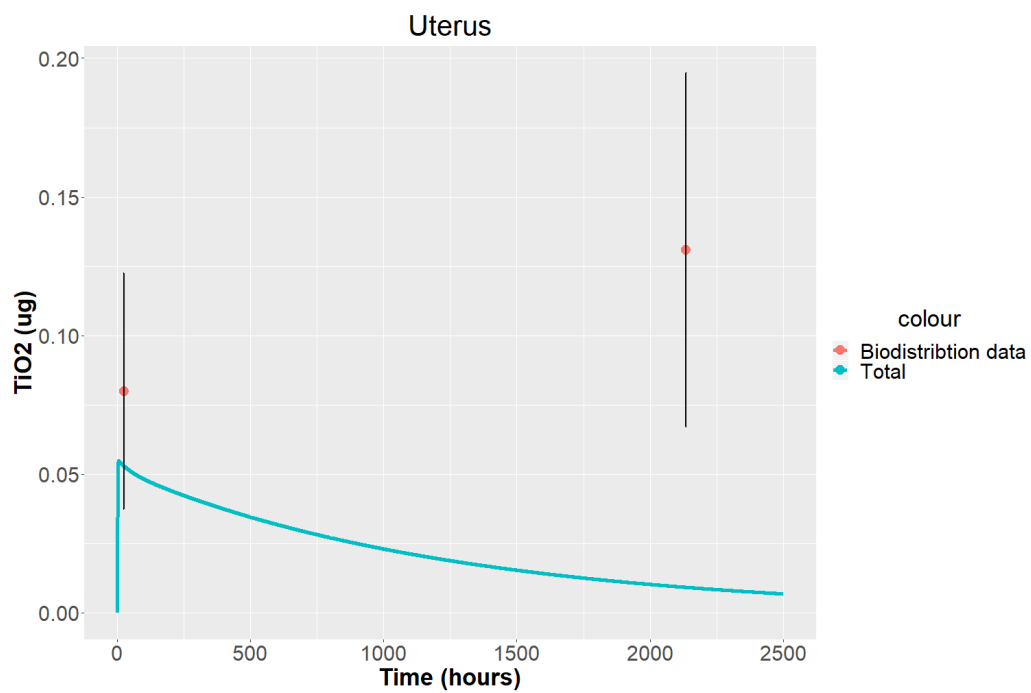
Σχήμα Α.18: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM100) για το διαμέρισμα του Ήπατος.



Σχήμα Α'.19: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.

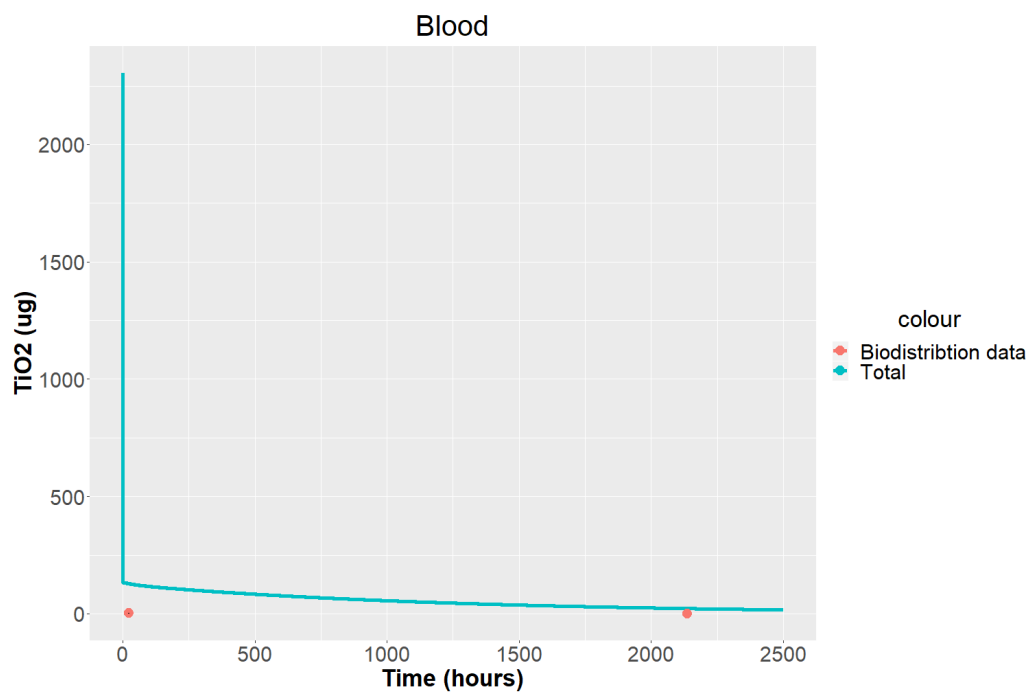


Σχήμα Α'.20: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM100) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

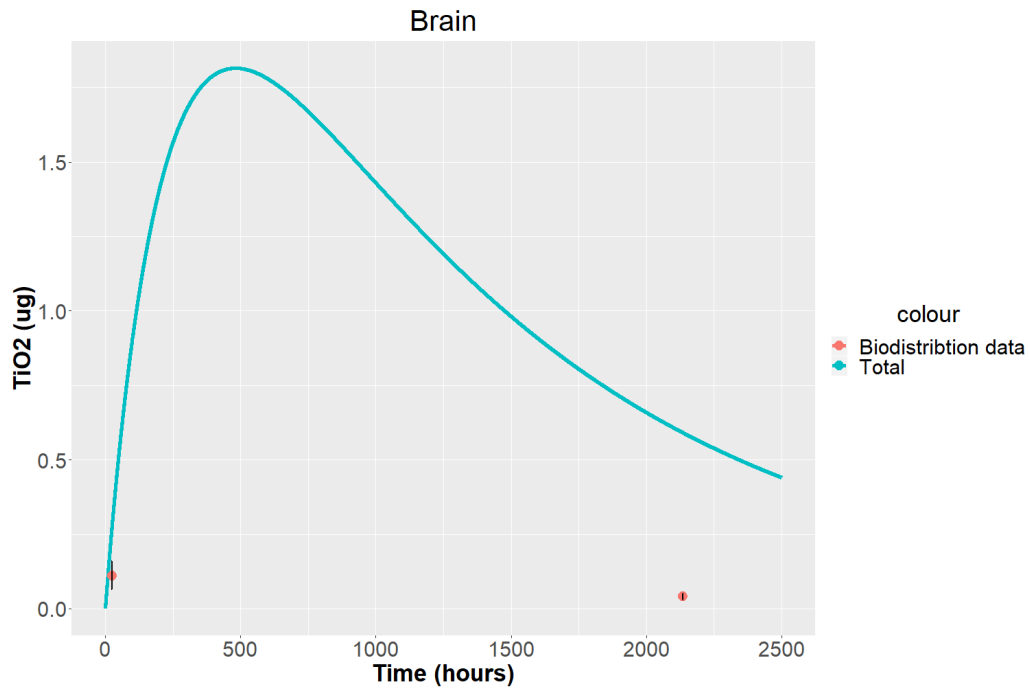


Σχήμα Α.21: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM100) για το διαμέρισμα της Μήτρας.

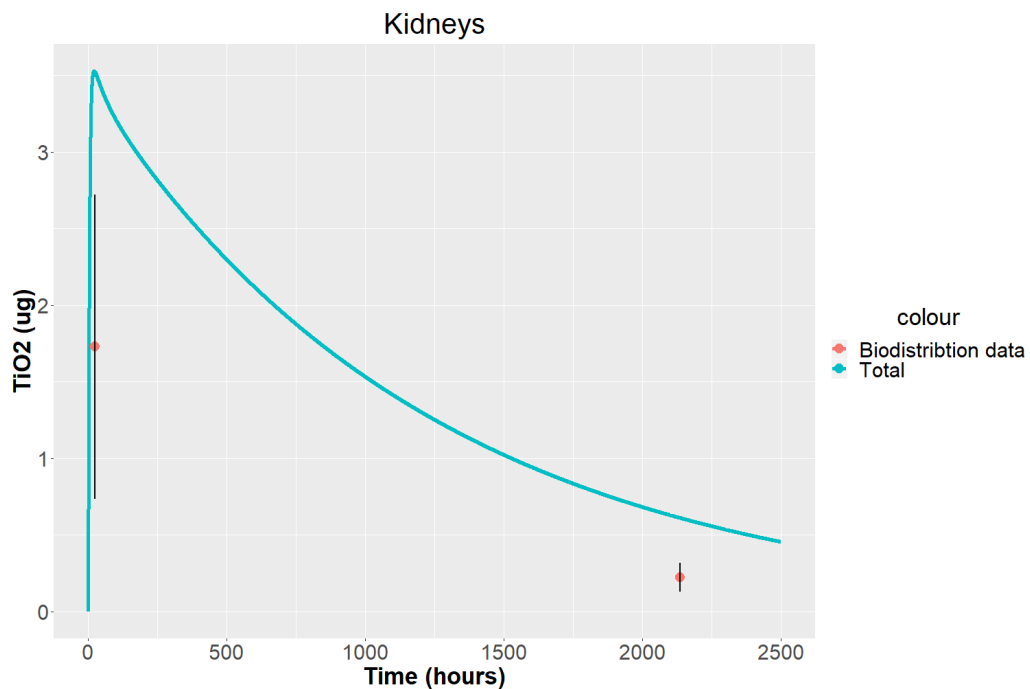
Α'.3.2 Νανοσωματίδια NM102



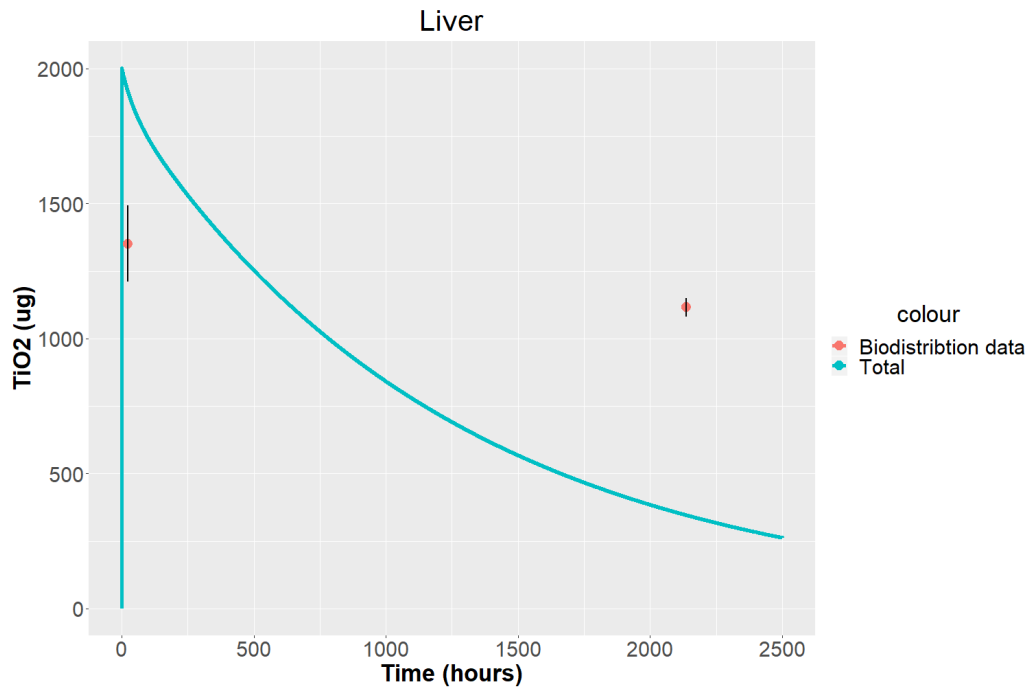
Σχήμα Α'.22: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Αίματος.



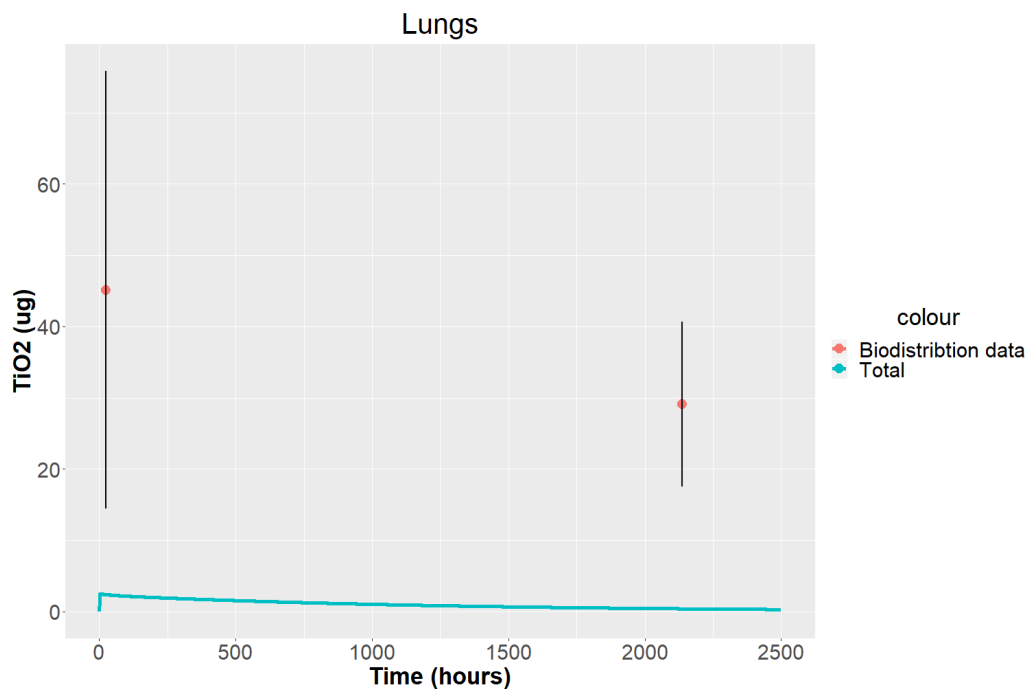
Σχήμα A'.23: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



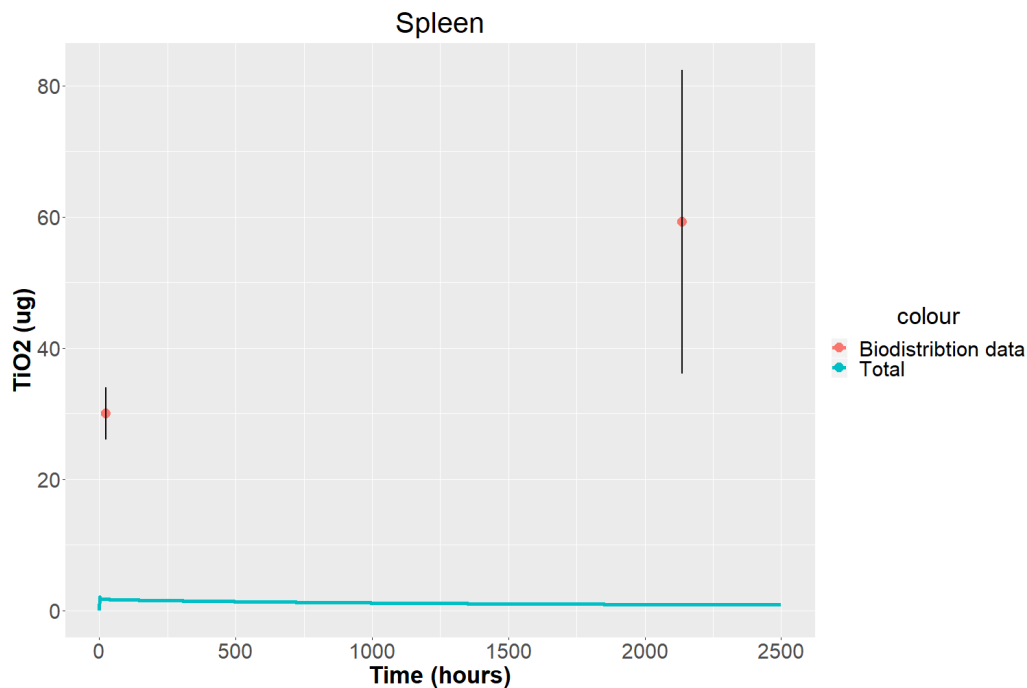
Σχήμα A'.24: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM102) για το διαμέρισμα των Νεφρών.



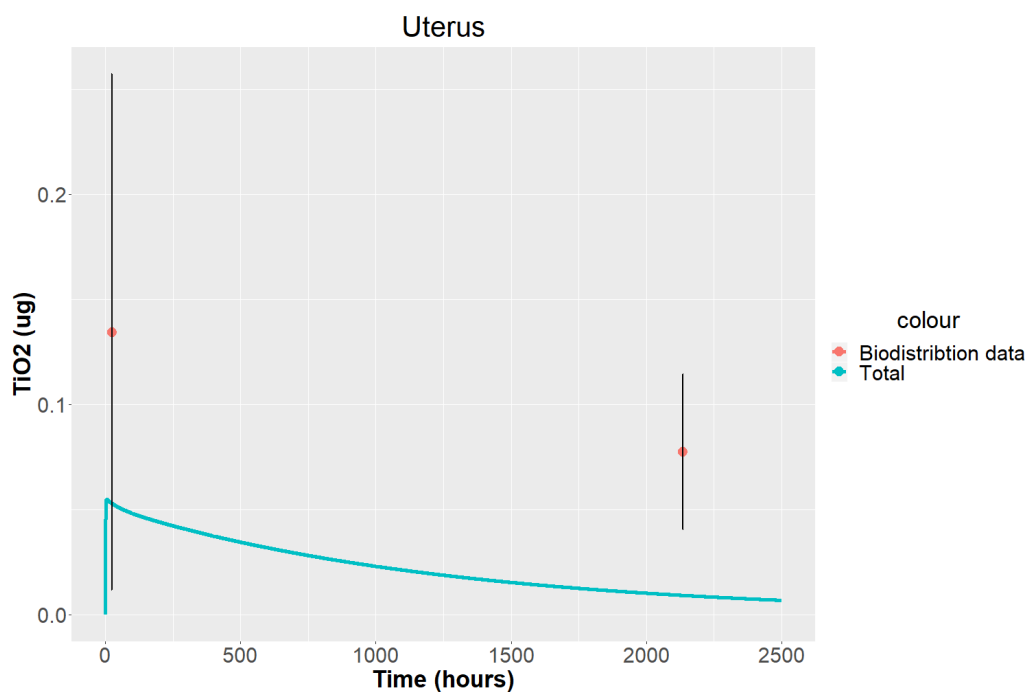
Σχήμα Α'.25: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα του Ήπατος.



Σχήμα Α'.26: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM102) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.

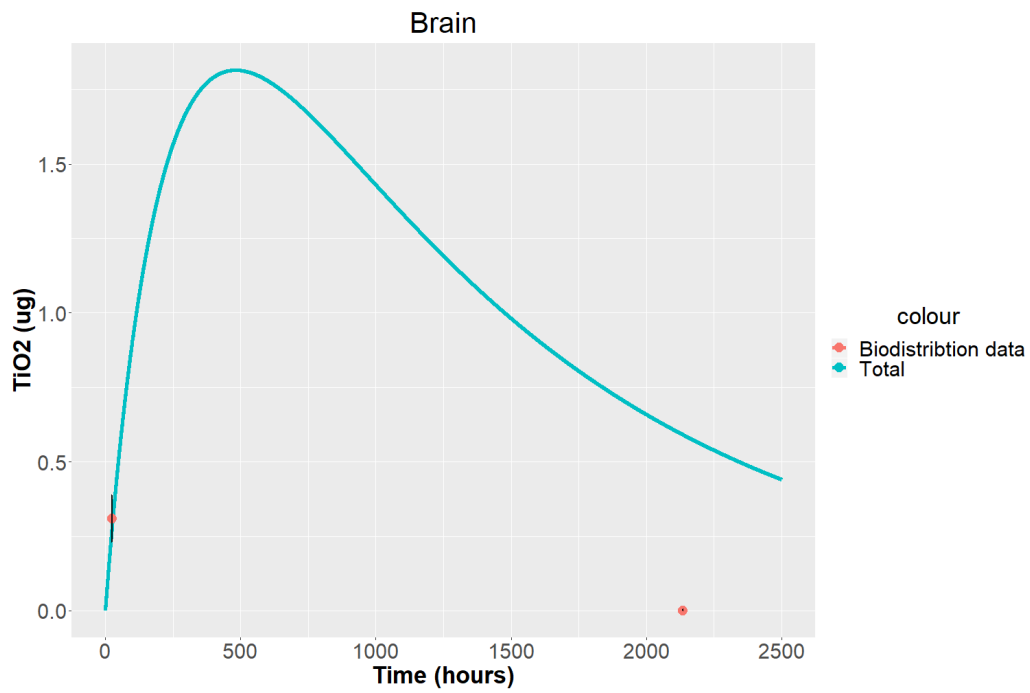


Σχήμα Α'.27: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM102) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

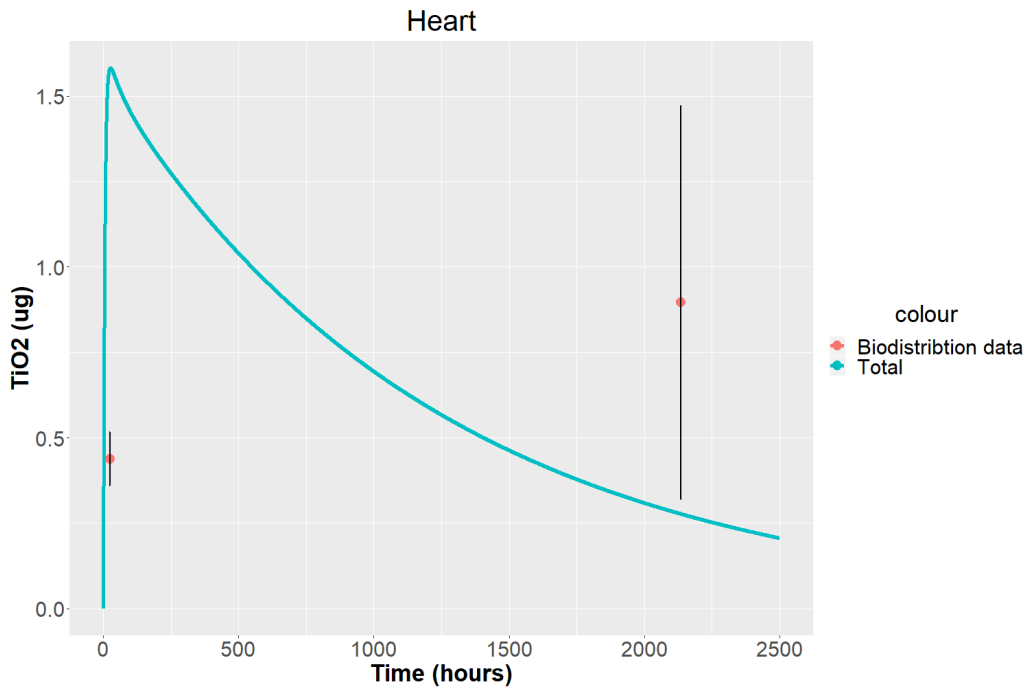


Σχήμα Α'.28: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM102) για το διαμέρισμα της Μήτρας.

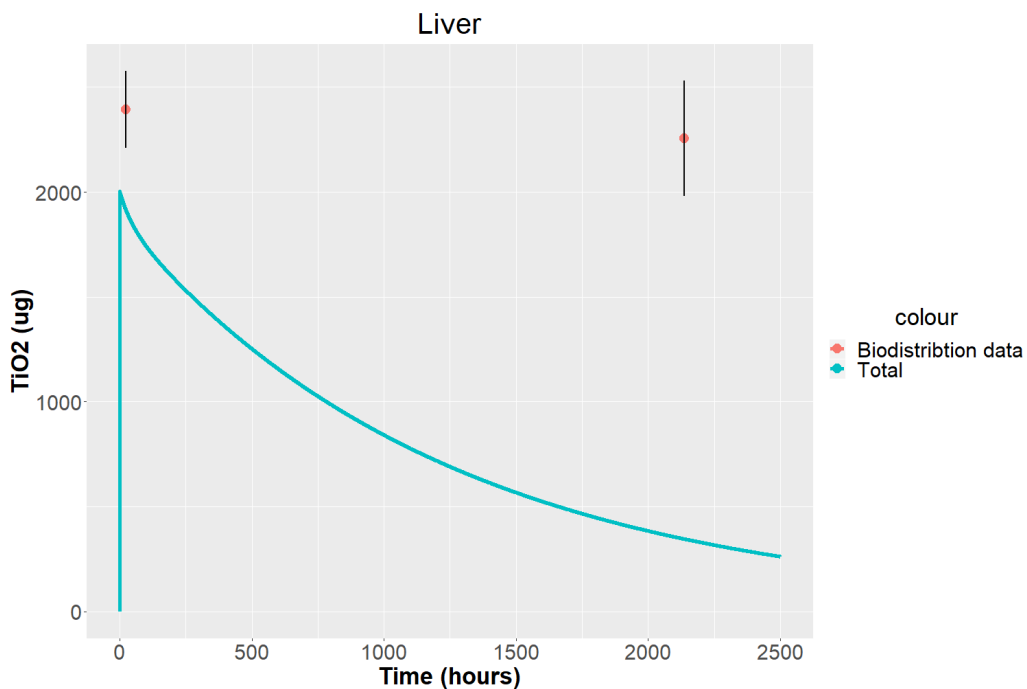
Α'.3.3 Νανοσωματίδια NM103



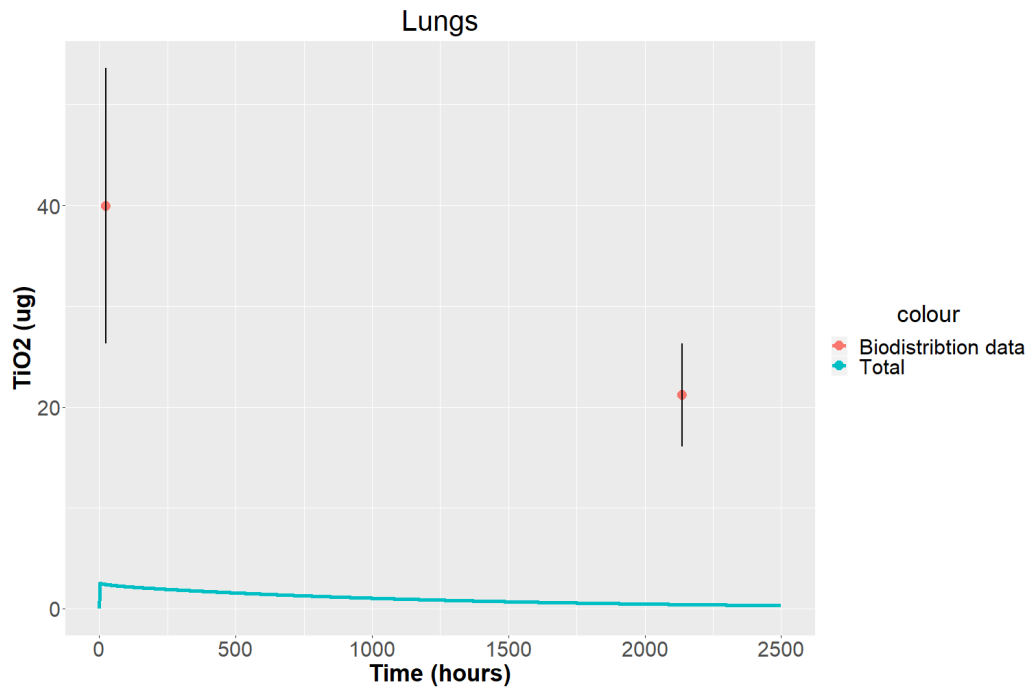
Σχήμα Α'.29: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα του Εγχεράλου.



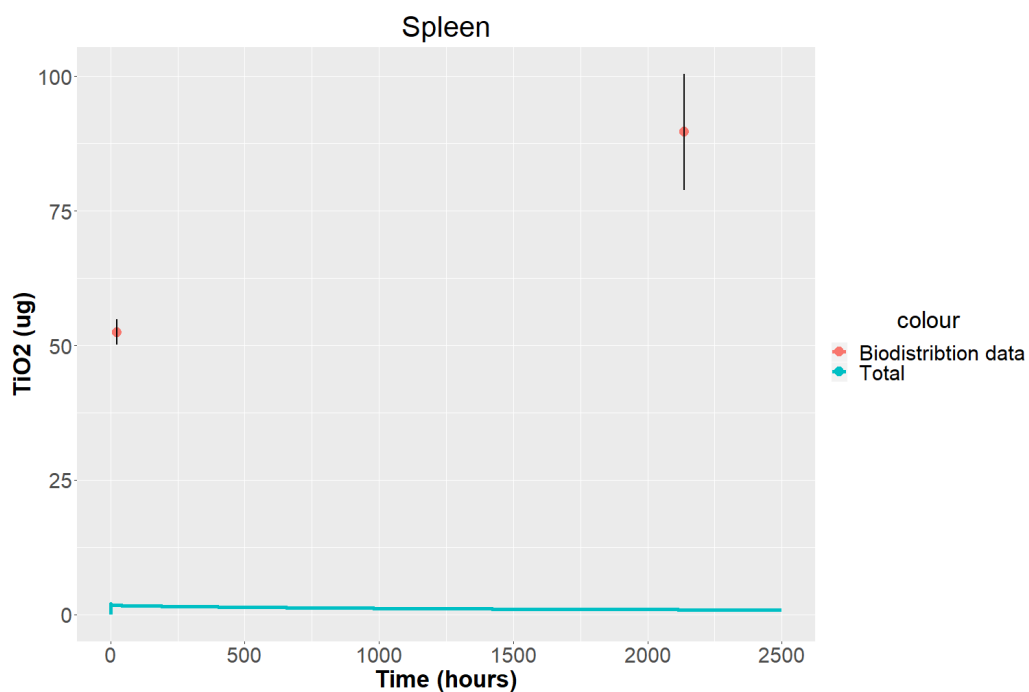
Σχήμα A'.30: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM103) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



Σχήμα A'.31: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM103) για το διαμέρισμα του Ήπατος.

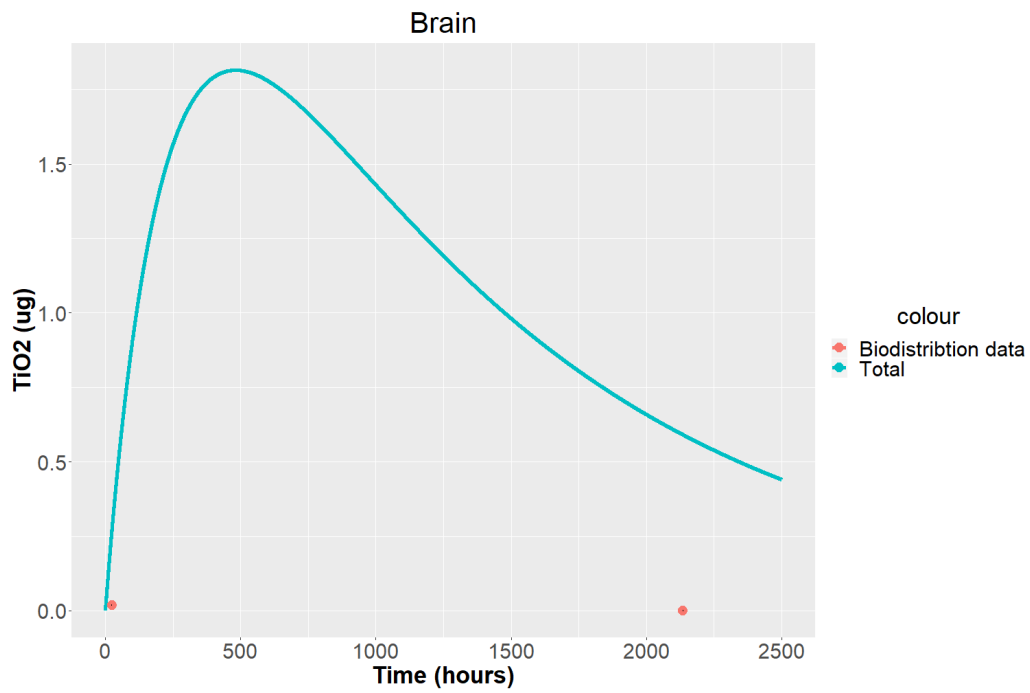


Σχήμα Α'.32: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.

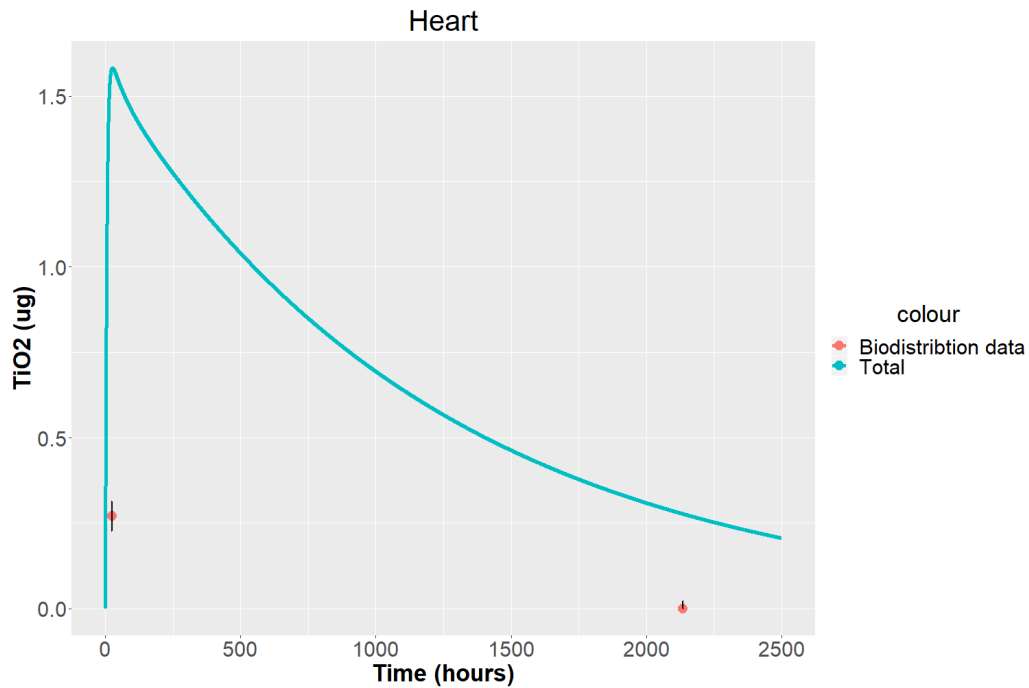


Σχήμα Α'.33: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM103) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

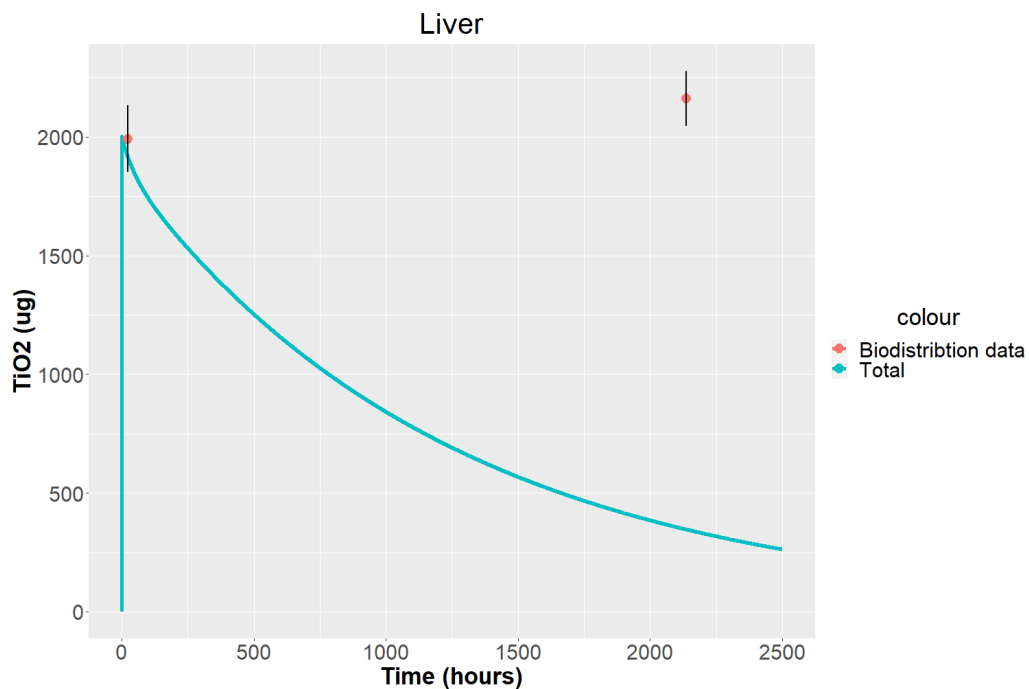
Α.3.4 Νανοσωματίδια NM104



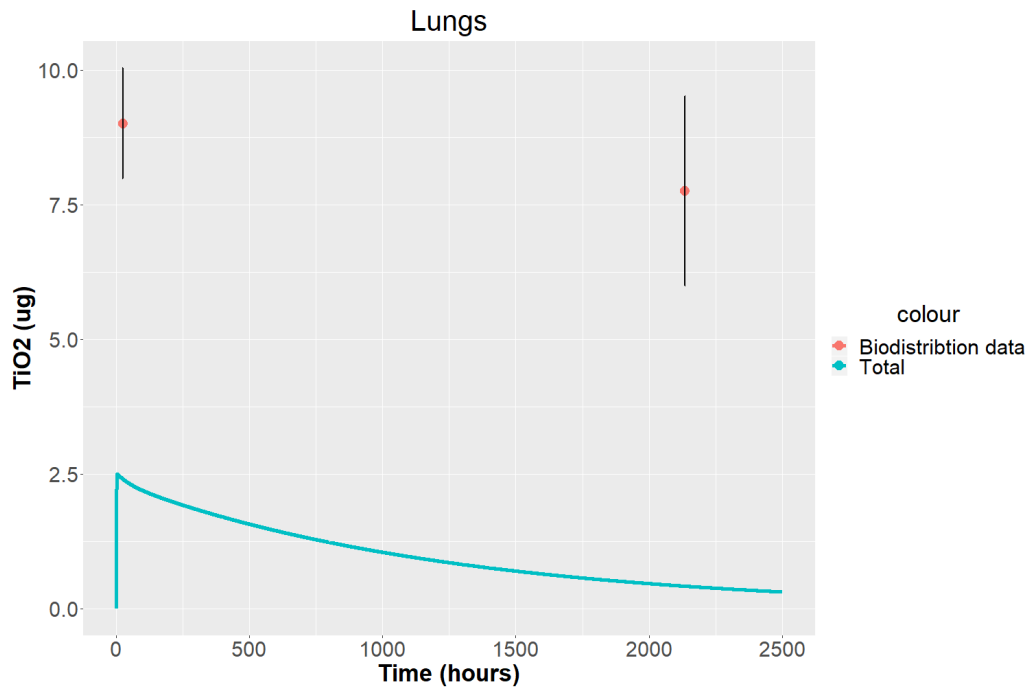
Σχήμα Α.34: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα του Εγχεράλου.



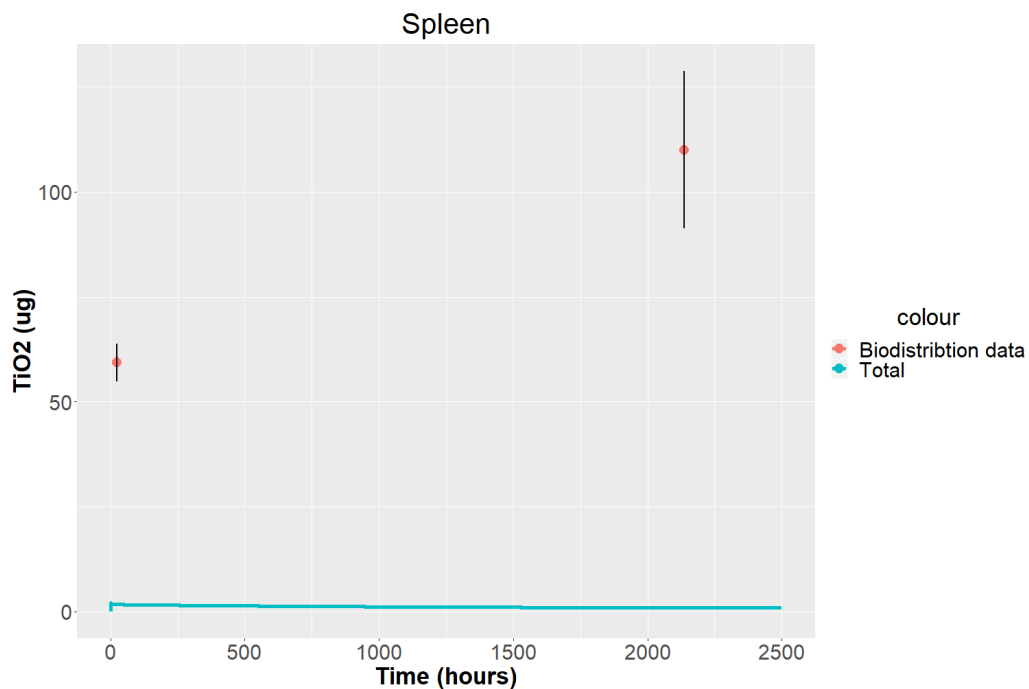
Σχήμα Α'.35: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



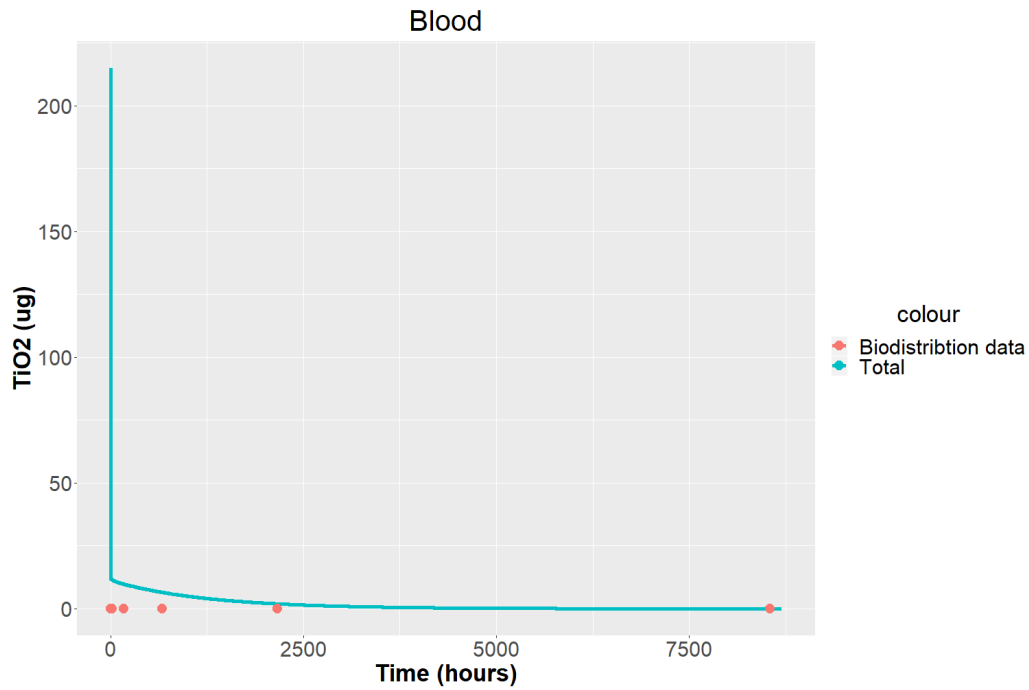
Σχήμα Α'.36: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets *et al.*[81] (NM104) για το διαμέρισμα του Ήπατος.



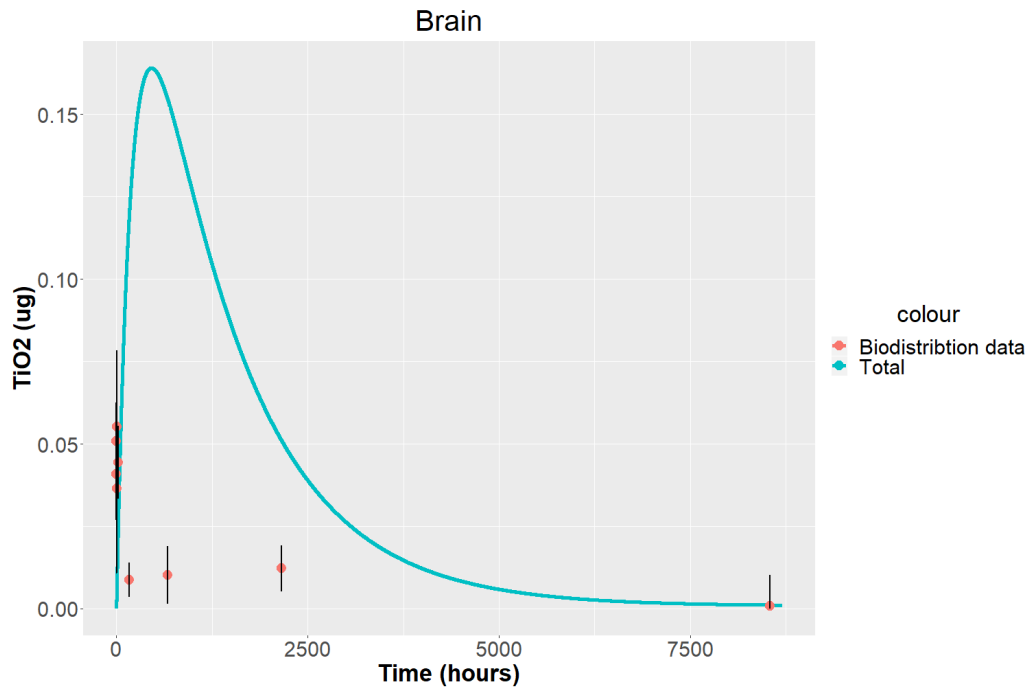
Σχήμα Α.37: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM104) για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



Σχήμα Α.38: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Garaets et al.[81] (NM104) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

Α'.4 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Disdier *et al.*[83]

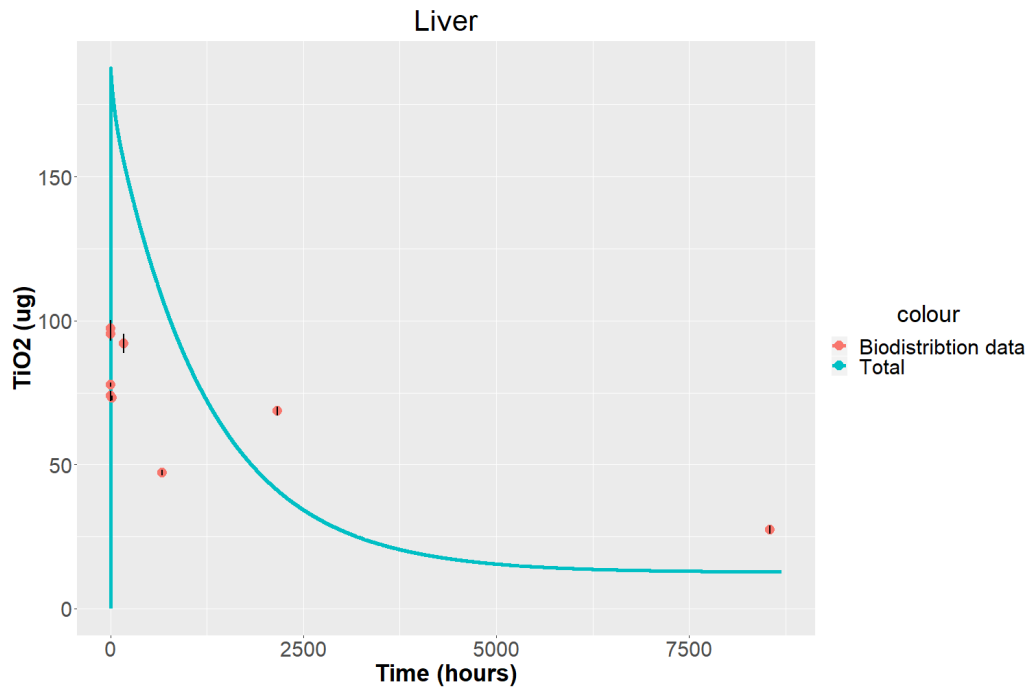
Σχήμα Α'.39: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα του Αίματος.



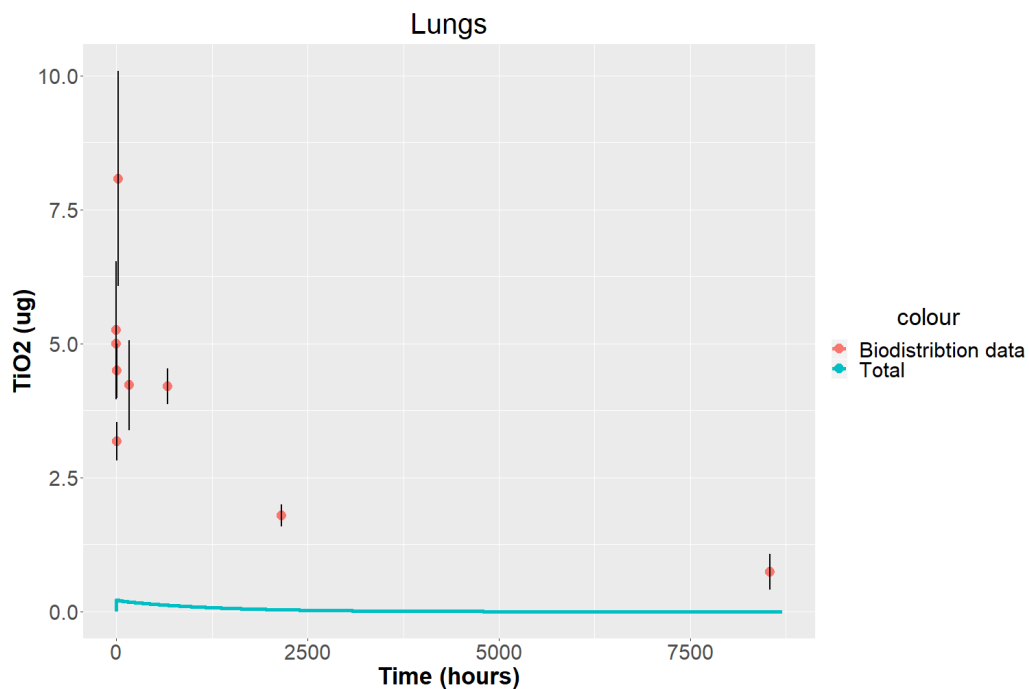
Σχήμα A'.40: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των *Disdier et al.*[83] για το διαμέρισμα του Εγκεφάλου.



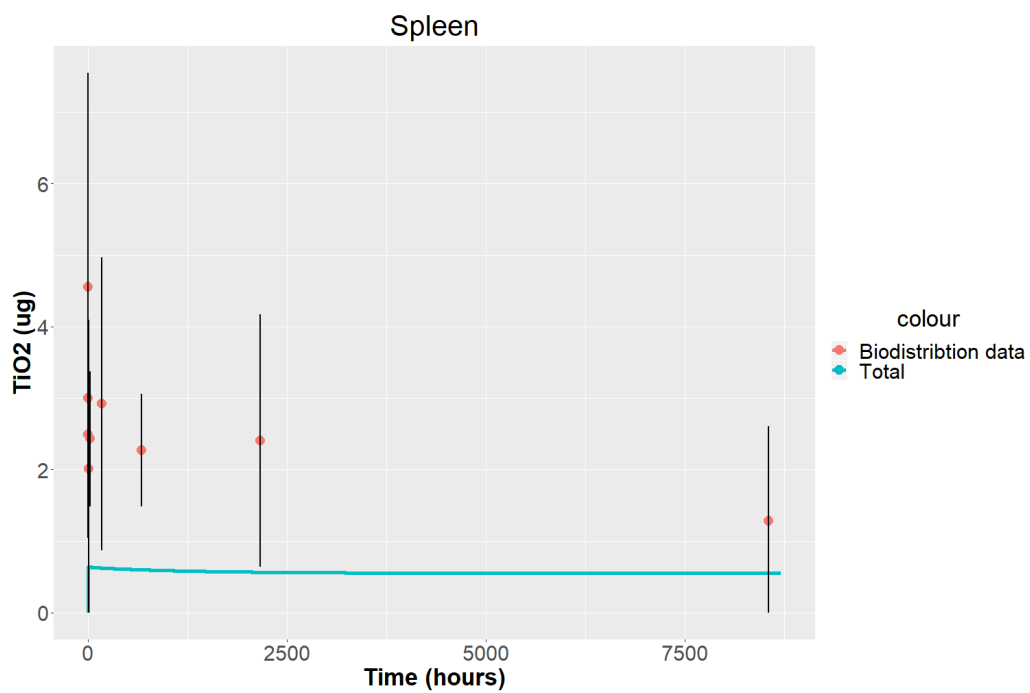
Σχήμα A'.41: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των *Disdier et al.*[83] για το διαμέρισμα των Νεφρών.



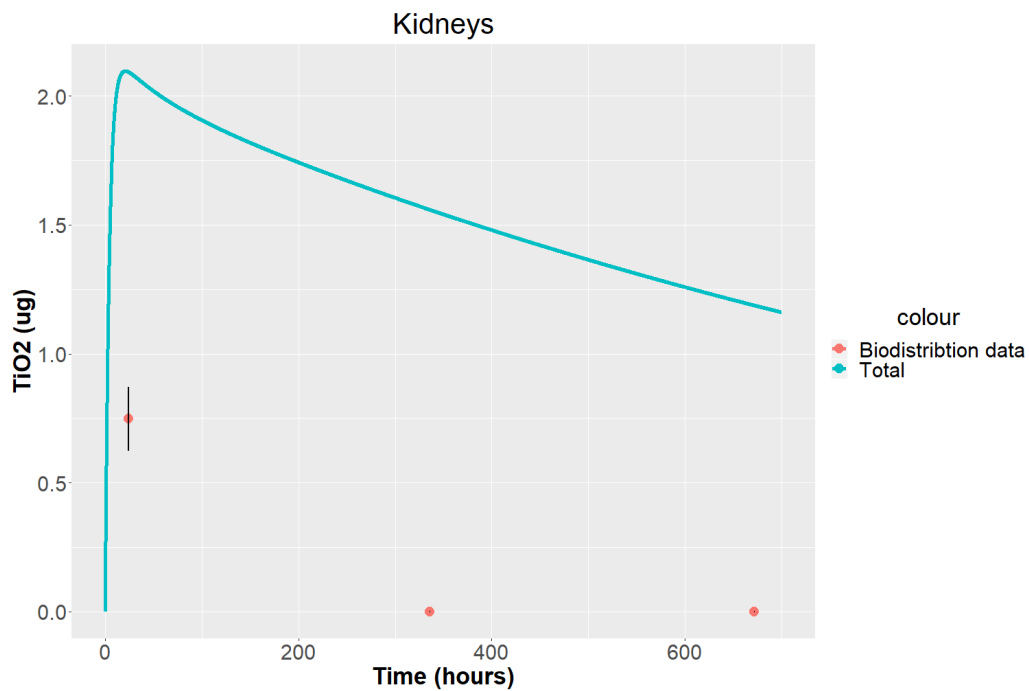
Σχήμα Α'.42: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα του Ήπατος.



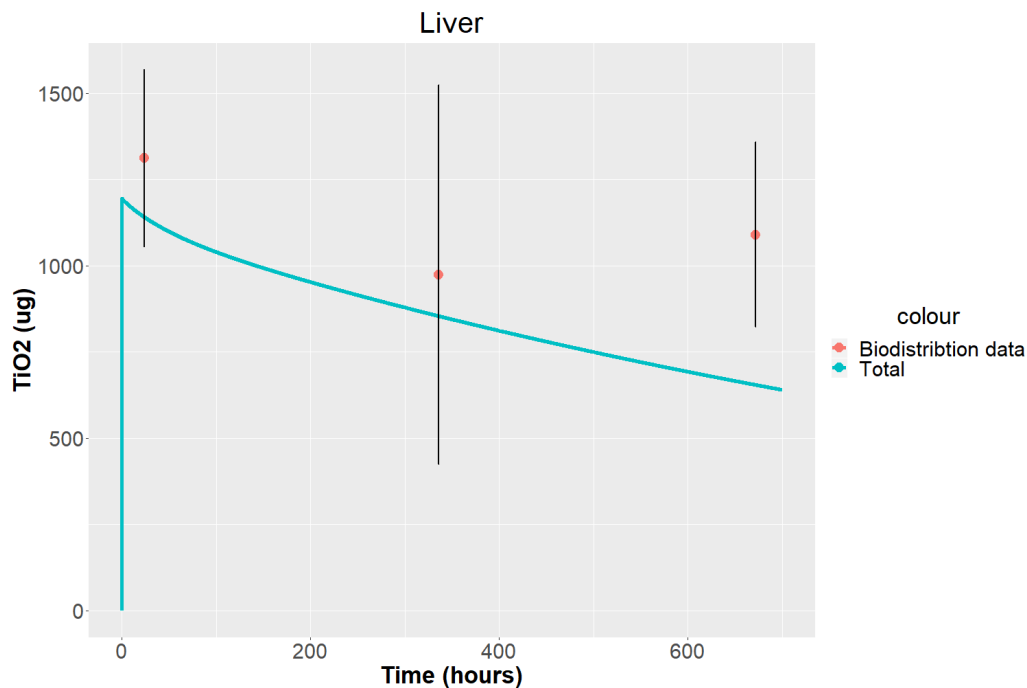
Σχήμα Α'.43: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Disdier *et al.*[83] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



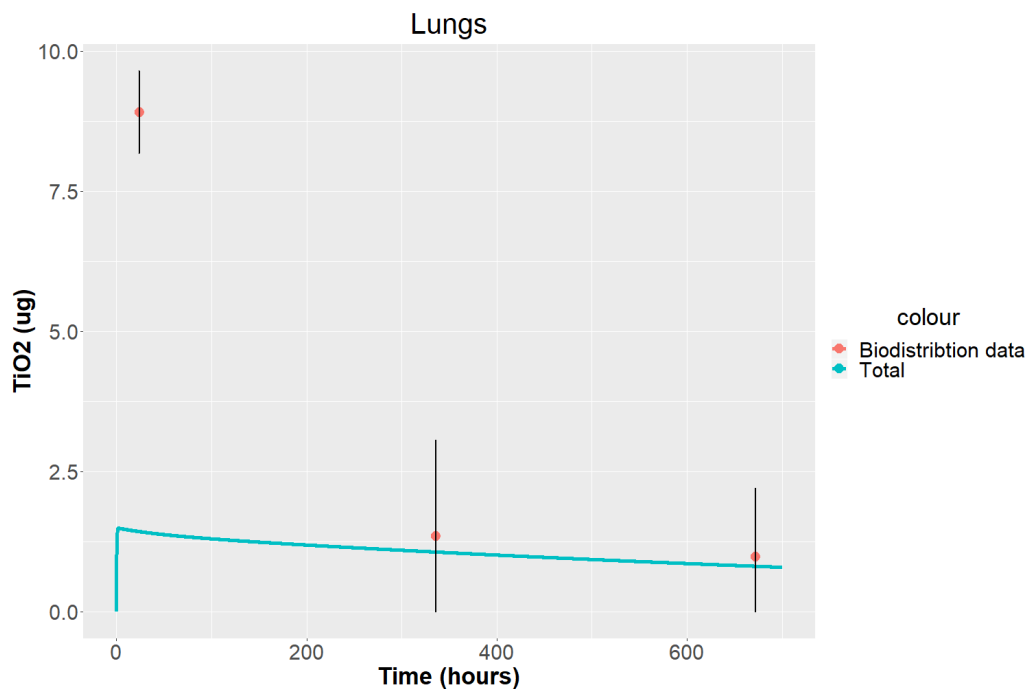
Σχήμα A'.44: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των *Disdier et al.*[83] για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

Α'.5 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Fabian *et al.*[80]

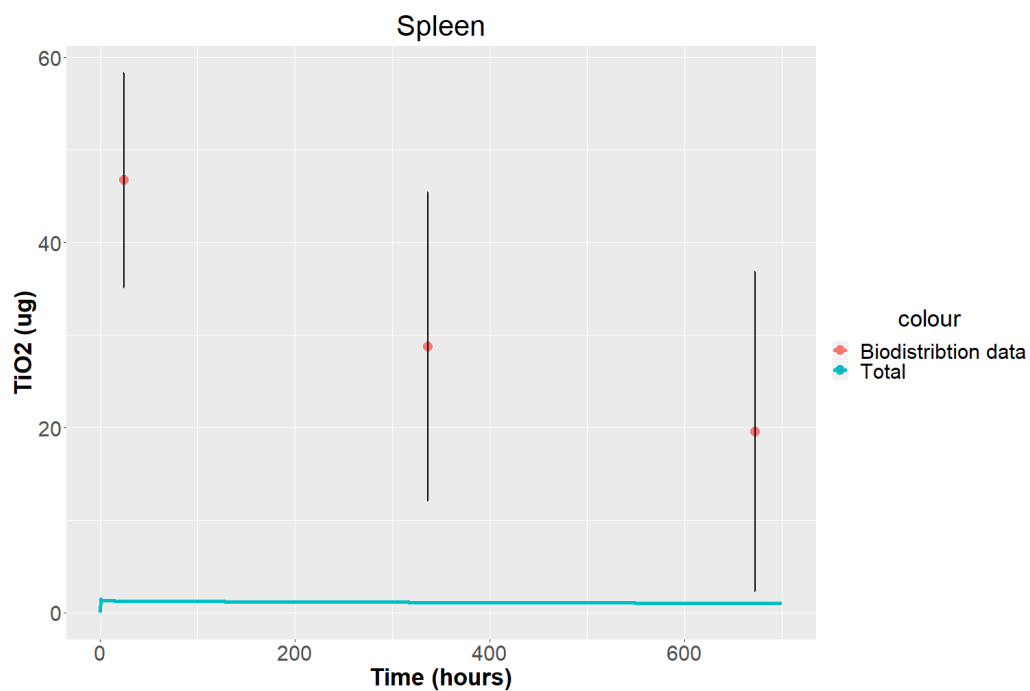
Σχήμα Α'.45: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα των Νεφρών.



Σχήμα Α'.46: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian et al.[80] για το διαμέρισμα του Ήπατος.



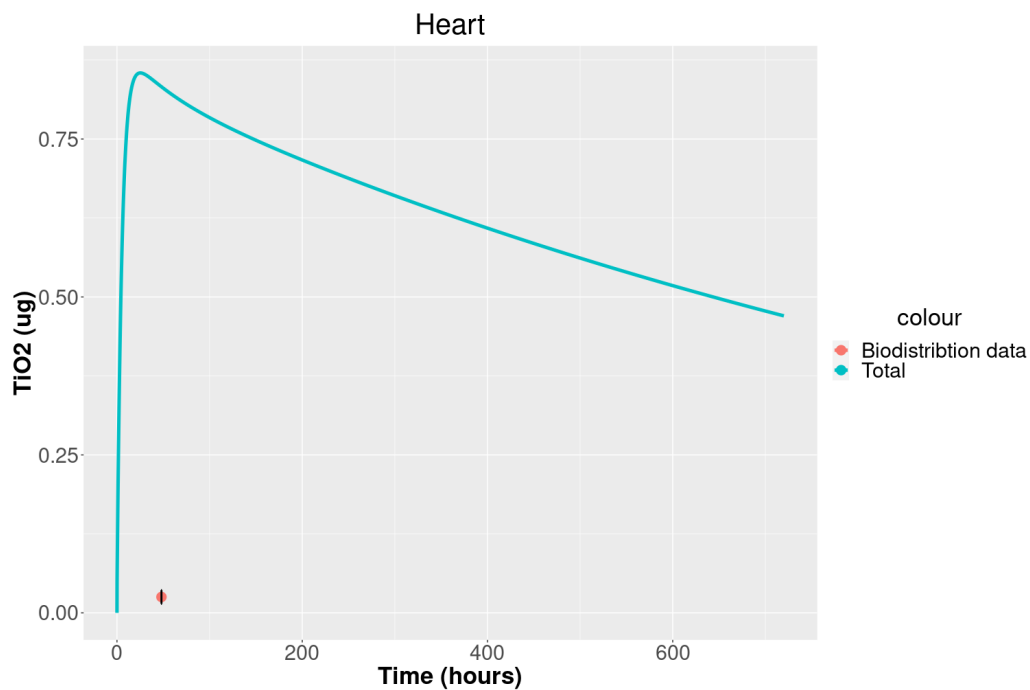
Σχήμα Α'.47: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian et al.[80] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



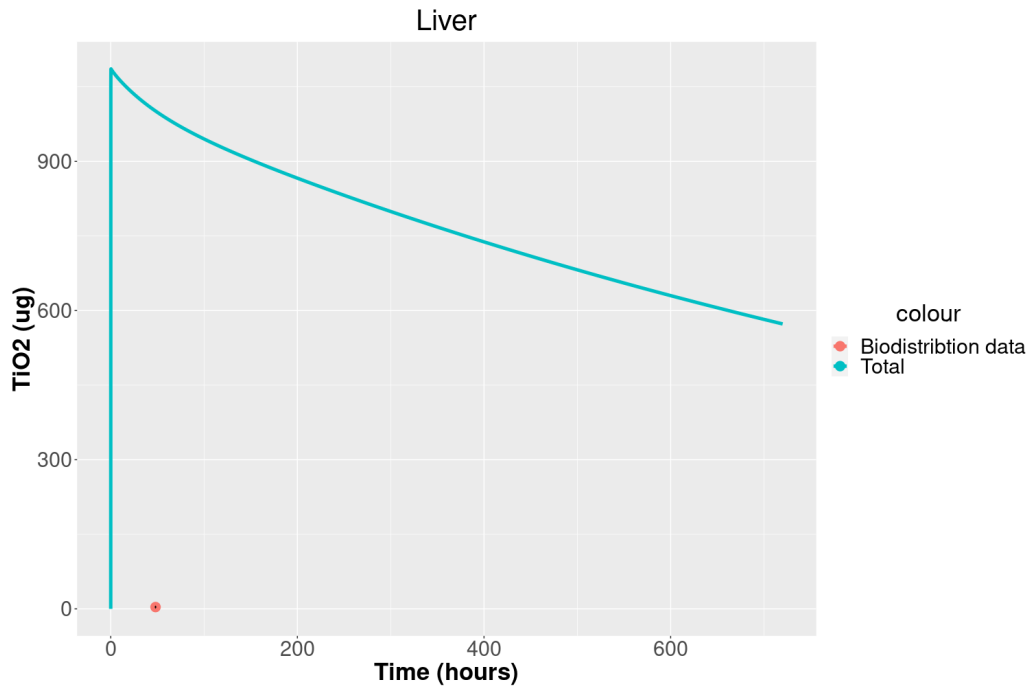
Σχήμα Α'.48: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Fabian *et al.*[80] για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

Α'.6 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Kamal et al.[84]

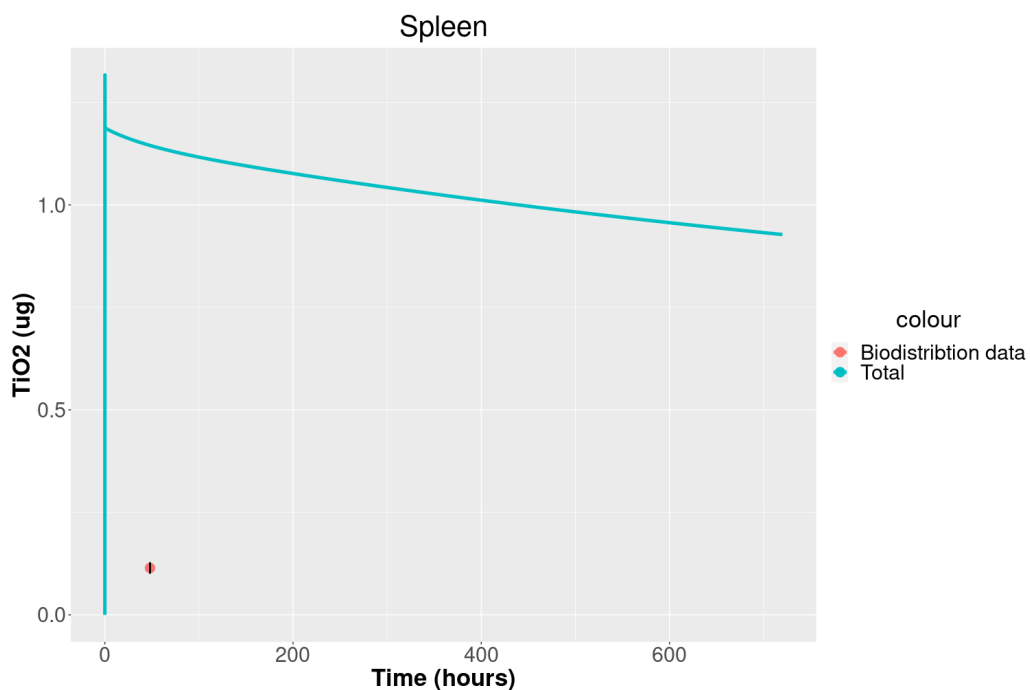
Α'.6.1 Nanoribbons



Σχήμα Α'.49: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal et al.[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.

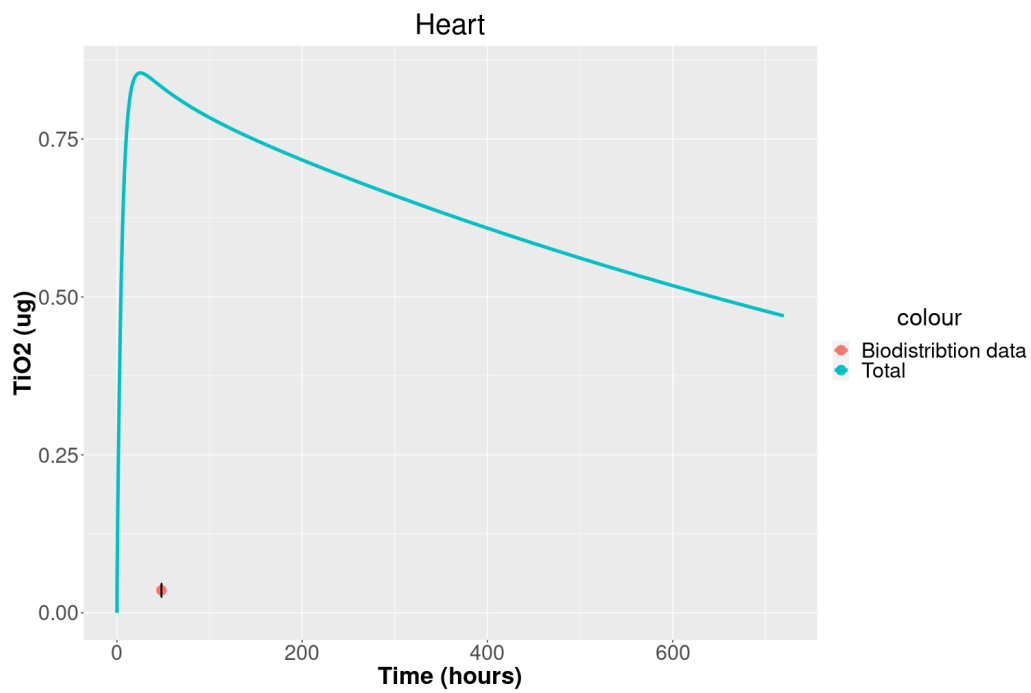


Σχήμα Α'.50: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα του Ήπατος.

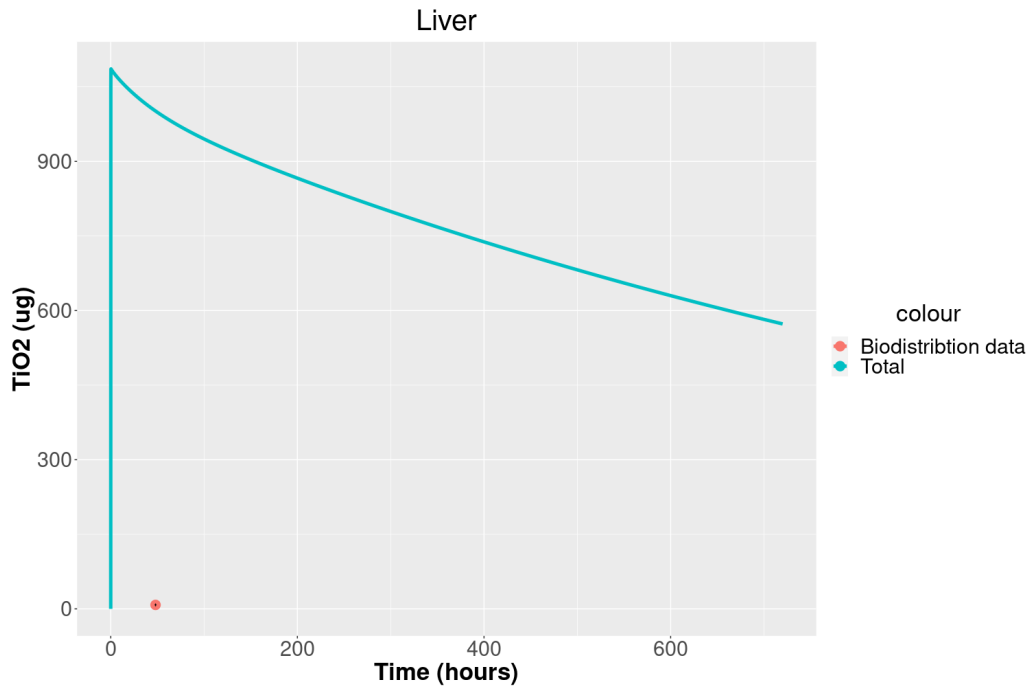


Σχήμα Α'.51: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanoribbons) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

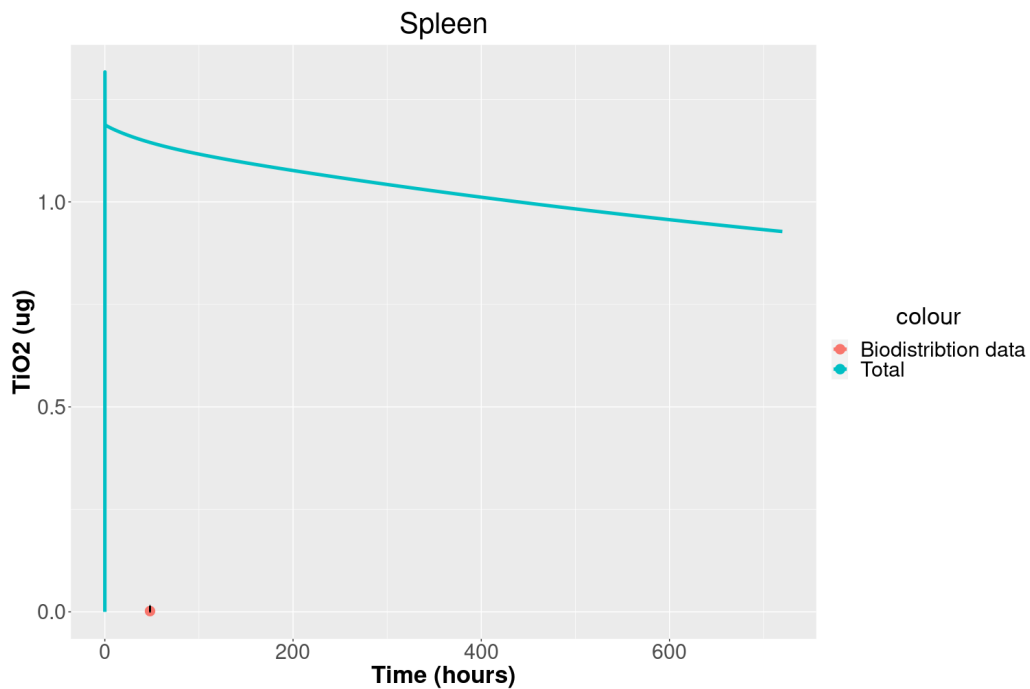
Α.6.2 Nanorods



Σχήμα Α.52: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal et al.[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.

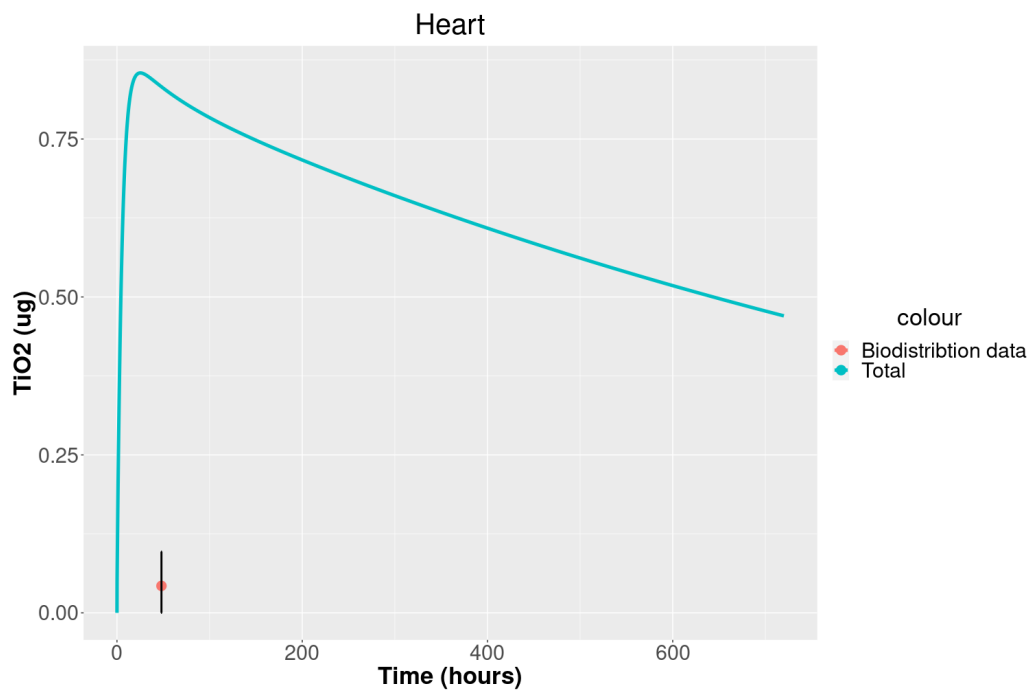


Σχήμα Α'.53: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα του Ήπατος.

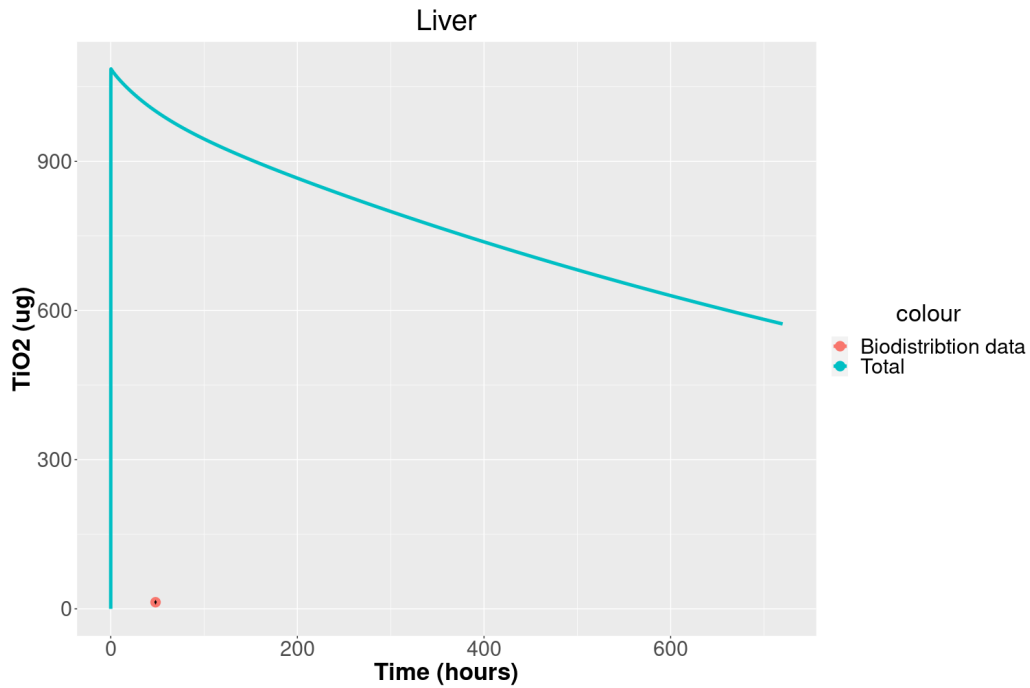


Σχήμα Α'.54: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanorods) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

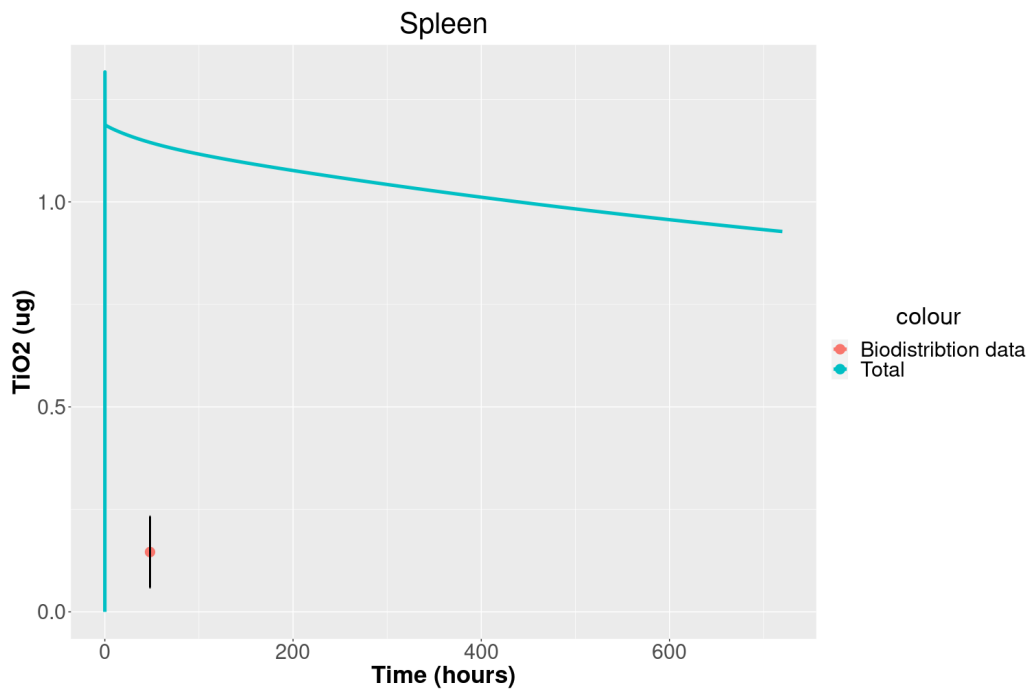
Α.6.3 Nanotubes



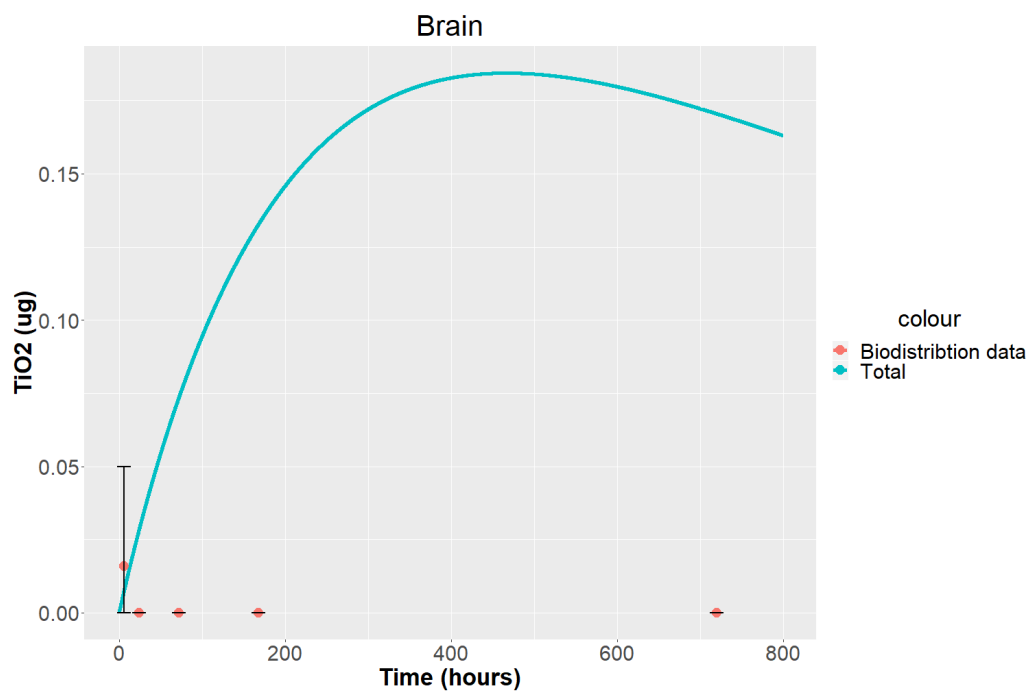
Σχήμα Α.55: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal et al.[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



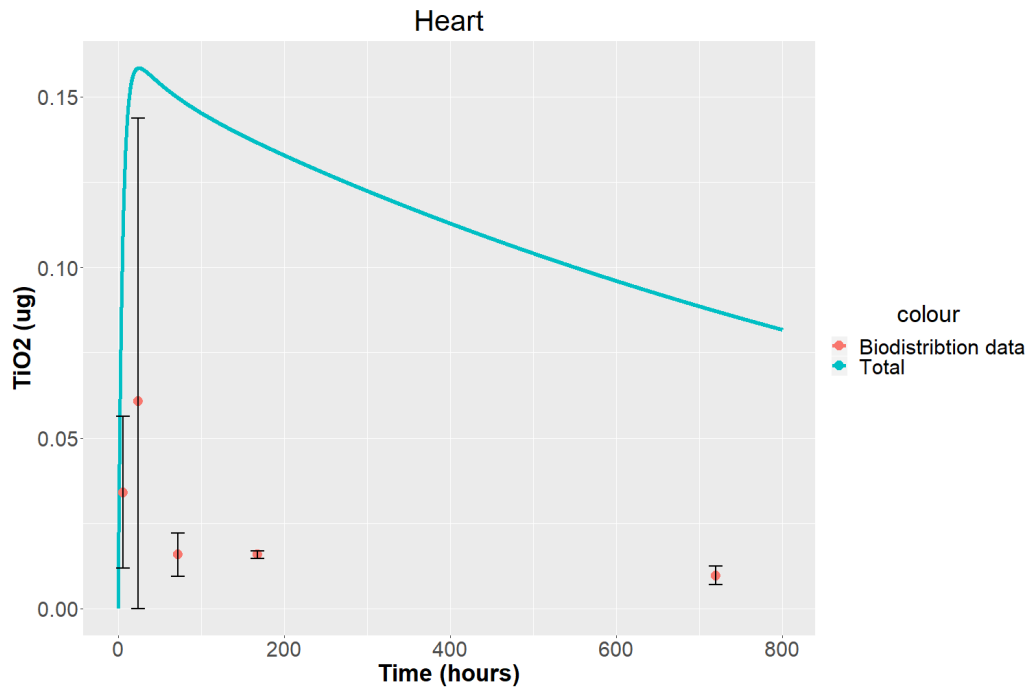
Σχήμα Α'.56: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα του Ήπατος.



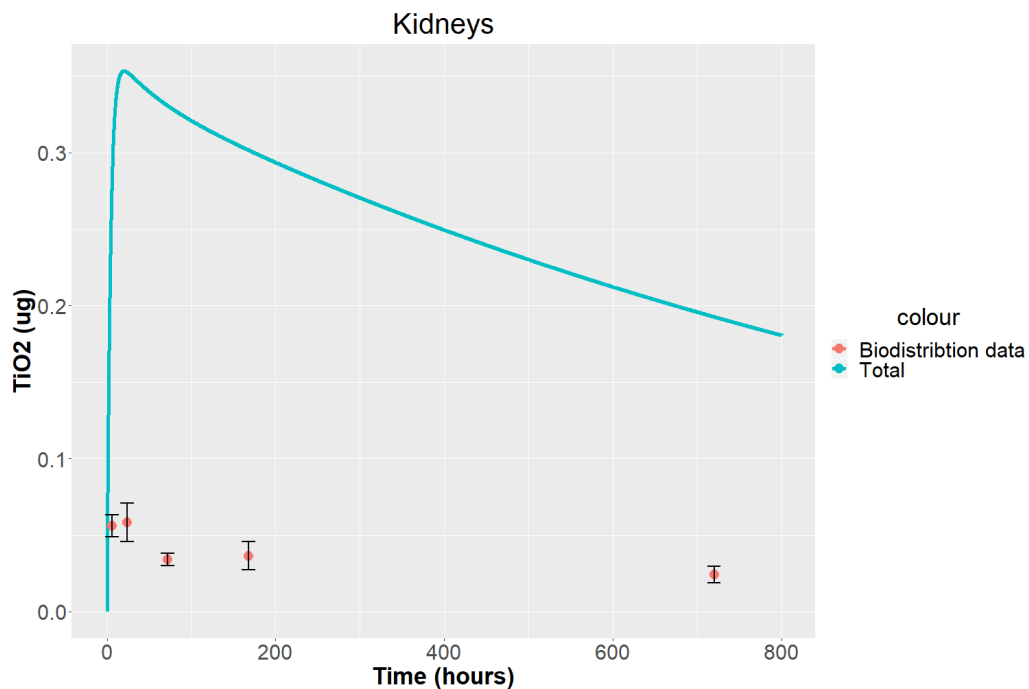
Σχήμα Α'.57: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Kamal *et al.*[84] (Nanotubes) για το διαμέρισμα της Σπλήνας.

Α'.7 Διαγράμματα πρόβλεψης δεδομένων Shinohara *et al.*[85]

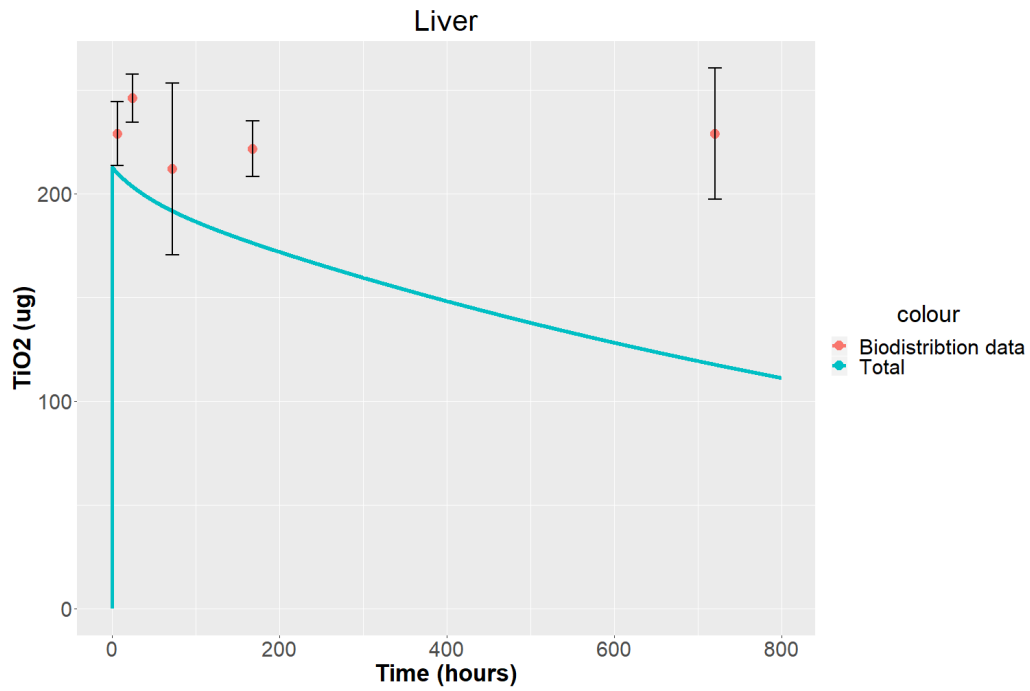
Σχήμα Α'.58: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα του Εγχεφάλου.



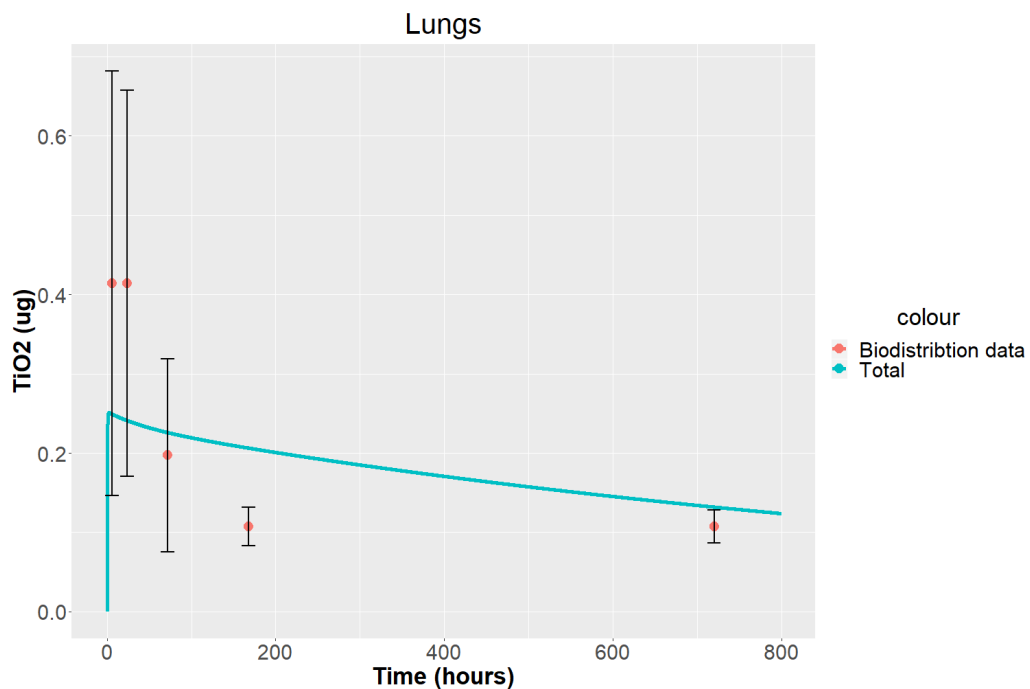
Σχήμα Α'.59: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα της Καρδιάς.



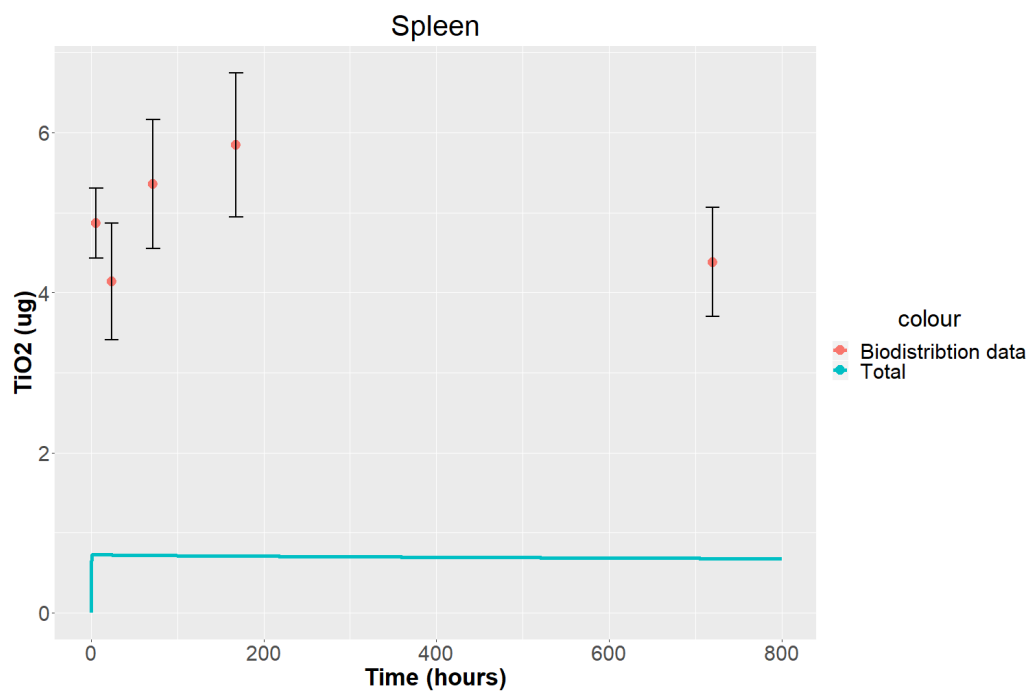
Σχήμα Α'.60: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα των Νεφρών.



Σχήμα Α'.61: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara et al.[85] για το διαμέρισμα του Ήπατος.



Σχήμα Α'.62: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara et al.[85] για το διαμέρισμα των Πνευμόνων.



Σχήμα Α'.63: Διάγραμμα προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου ως προς τα πειραματικά δεδομένα της μελέτης των Shinohara *et al.*[85] για το διαμέρισμα της Σπλήνας.