



ISSN 2241-3081

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS

ΤΟΜΟΣ 27 | ΤΕΥΧΟΣ III
VOLUME | ISSUE

ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015
JULY - SEPTEMBER

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ARCOXIA®

Τα κάτωθι αποτελούν αποσπασματικές πληροφορίες εκ της περιλήψης χαρακτηριστικών του προϊόντος(ΠΧΠ). Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA®, συμβουλευθείτε την πλήρη περιλήψη χαρακτηριστικών του προϊόντος . Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών/ατομικών κινδύνων του ασθενούς. Επειδή οι κίνδυνοι για το καρδιαγγειακό σύστημα με την ετορικοξίμπη μπορεί να αυξηθούν με τη δόση και τη διάρκεια της έκθεσης, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας. Το ARCOXIA® διατίθεται σε 4 διαφορετικές περιεκτικότητες. NEA ENΔΕΙΞΗ: 90 mg, Για τη μικρή διάρκεια θεραπεία μέτριου πόνου που σχετίζεται με οδοντιατρική χειρουργική επέμβαση (μέγιστη διάρκεια χορήγησης 3 ημέρες).

Αντενδείξεις:

- Ιστορικό υπερευαισθησίας στη δραστική ουσία ή σε οποιοδήποτε έκδοχο.
- Ενεργό πεπτικό έλκος ή ενεργή αιμορραγία από το γαστρεντερικό
- Ασθενείς που έχουν παρουσιάσει βρογχόσπασμο, οξεία ρινίτιδα, ρινικούς πολύποδες, αγγειονευρωτικό οίδημα, κνίδωση,αντιδράσεις αλλεργικού τύπου μετά τη χορήγηση ακετυλοσαλικυλικού οξέος ή ΜΣΑΦ, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων COX-2 (της κυκλοοξυγενάσης-2).
- Κύηση και γαλουχία.
- Σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία (αλβουμίνη του ορού < 25 g/l ή βαθμολογία Child-Pugh ≥ 10)
- Προσδιορισθείσα τιμή κθάαρσης κρεατινίνης <30 ml/min.
- Παιδιά και έφηβοι ηλικίας μικρότερης των 16 ετών
- Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
- Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (NYHA II-IV)
- Ασθενείς με υπέρταση, οι οποίοι έχουν εμμένουσες αυξημένες τιμές αρτηριακής πίεσης πάνω από 140/90 mmHg και οι οποίες δεν έχουν ελεγχθεί επαρκώς.
- Διαγνωσμένη ισχαιμική καρδιοπάθεια, περιφερική αρτηριοπάθεια και/ ή αγγειακή εγκεφαλική νόσος.

Ειδικές προειδοποιήσεις και ιδιαίτερες προφυλάξεις κατά τη χρήση:

Επίδραση στο γαστρεντερικό

Έχουν παρουσιασθεί σε ασθενείς που έλαβαν ετορικοξίμπη επιπλοκές του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος (διατρήσεις, έλκη ή αιμορραγίες (ΔΕΑ), μερικές από τις οποίες οδήγησαν σε θανατηφόρο αποτέλεσμα. Συνιστάται προσοχή κατά τη θεραπεία ασθενών που είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο να παρουσιάσουν γαστρεντερικές επιπλοκές με ΜΣΑΦ: ηλικιωμένοι, ασθενείς που λαμβάνουν κάποιο άλλο ΜΣΑΦ ή ακετυλοσαλικυλικό οξύ ταυτόχρονα ή ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό γαστρεντερικής νόσου, όπως εξέλκωση και γαστρεντερική αιμορραγία. Υπάρχει περαιτέρω αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών του γαστρεντερικού (γαστρεντερική εξέλκωση ή άλλες επιπλοκές από το γαστρεντερικό) όταν η ετορικοξίμπη λαμβάνεται ταυτόχρονα με ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ακόμη και σε χαμηλές δόσεις).

Καρδιαγγειακές επιδράσεις

Οι κλινικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 ως κατηγορία φαρμάκων μπορεί να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θρομβωτικών επεισοδίων (ιδιαιτέρως έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο) σε σχέση με το εικονικό φάρμακο και μερικά ΜΣΑΦ. Επειδή οι κίνδυνοι για το καρδιαγγειακό σύστημα με την ετορικοξίμπη μπορεί να αυξηθούν με τη δόση και τη διάρκεια της έκθεσης, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας. Η ανάγκη του ασθενούς για συμπτωματική ανακούφιση και η απόκριση στη θεραπεία πρέπει να επανεκτιμάται περιοδικά, ιδιαίτερα σεασθενείς με οστεοαρθρίτιδα. Οι ασθενείς με σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων (π.χ. υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα) πρέπει να αντιμετωπίζονται θεραπευτικά με ετορικοξίμπη μόνο μετά από προσεκτική εκτίμηση. Οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 δεν μπορούν να υποκαταστήσουν το ακετυλοσαλικυλικό οξύ για προφύλαξη καρδιαγγειακών θρομβοεμβολικών παθήσεων λόγω έλλειψης αντιαιμοπεταλιακής δράσης. Επομένως, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή δεν πρέπει να διακόπτεται.

Επίδραση στη νεφρική λειτουργία. Οι νεφρικές προσταγλανδίνες είναι δυνατόν να παίζουν αντιρροπιστικό ρόλο στη διατήρηση της νεφρικής διήθησης. Για αυτόν το λόγο σε καταστάσεις επιβαρυνμένης νεφρικής διήθησης, η χορήγηση της ετορικοξίμπης μπορεί να προκαλέσει μείωση στο σχηματισμό των προσταγλανδινών και δευτερογενώς μείωση της νεφρικής αιμάτωσης και ως εκ τούτου να οδηγήσει σε περαιτέρω επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας. Οι ασθενείς που είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο εν προκειμένω, είναι εκείνοι με προϋπάρχουσα σημαντική επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας, μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια ή κίρρωση. Σε αυτούς τους ασθενείς πρέπει να παρακολουθείται η νεφρική λειτουργία.

Κατακράτηση υγρών, οίδημα και υπέρταση. Όπως και με άλλα φάρμακα που αναστέλλουν τη σύνθεση των προσταγλανδινών έχει παρατηρηθεί κατακράτηση υγρών, οίδημα και υπέρταση σε ασθενείς που ελάμβαναν ετορικοξίμπη. Πρέπει να γίνεται προσοχή στους ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας, δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας ή υπέρταση και σε ασθενείς με προϋπάρχον οίδημα οποιασδήποτε άλλης αιτιολογίας. Εάν παρατηρηθεί επιδείνωση της κλινικής κατάστασης αυτών των ασθενών θα πρέπει να γίνονται απαραίτητοι έλεγχοι και εάν χρειασθεί μπορεί να διακοπεί η ετορικοξίμπη. Η ετορικοξίμπη μπορεί να σχετίζεται με πιο συχνά εμφανιζόμενη και σοβαρή υπέρταση έναντι άλλων ΜΣΑΦ και εκλεκτικών COX-2 αναστολέων, ιδιαίτερα σε μεγάλες δόσεις. Για αυτό το λόγο, θα πρέπει να δίνεται

ιδιαίτερη προσοχή στην παρακολούθηση της αρτηριακής πίεσης κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Εάν η αρτηριακή πίεση αυξηθεί σημαντικά, τότε θα πρέπει να ληφθεί υπόψη άλλη εναλλακτική θεραπεία .

Επιδράσεις στο ήπαρ.

Αυξήσεις επιπέδων της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και /ή της ασπαρτάμης (AST) (περίπου τρεις ή περισσότερες φορές από το ανώτερο φυσιολογικό όριο) έχουν αναφερθεί σε περίπου 1% των ασθενών που συμμετείχαν σε κλινικές μελέτες και στους οποίους χορηγήθηκε για διάστημα μέχρι ένα έτος ετορικοξίμπη 30mg ,60 και 90 mg ημερησίως. Εάν κάποιος ασθενής εμφανίσει συμπτώματα και/ή σημεία που δεικνύουν ηπατική δυσλειτουργία, ή καταγραφεί κάποια μη φυσιολογική εργαστηριακή δοκιμασία της ηπατικής λειτουργίας, τότε ο ασθενής πρέπει να παρακολουθείται στενά. Εάν εμφανισθούν σημεία ηπατικής ανεπάρκειας, ή εάν εξακολουθούν να καταγράφονται μη φυσιολογικές τιμές των εργαστηριακών δοκιμασιών (τρεις φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο), η ετορικοξίμπη θα πρέπει να διακοπεί.

Γενικές

Εάν κατά τη διάρκεια της θεραπείας οι ασθενείς παρουσιάσουν επιδείνωση της λειτουργίας, οποιοδήποτε οργανικό συστήματος που αναφέρεται παραπάνω, πρέπει να ληφθούν κατάλληλα μέτρα και να εξετασθεί η διακοπή της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Πρέπει να υφίσταται κατάλληλη ιατρική παρακολούθηση όταν η ετορικοξίμπη δίδεται σε ηλικιωμένους και σε ασθενείς με νεφρική, ηπατική, ή καρδιακή δυσλειτουργία. Πρέπει να γίνεται ιδιαίτερη προσοχή όταν γίνεται έναρξη της θεραπείας με ετορικοξίμπη σε ασθενείς με αφυδάτωση. Συνιστάται η ενυδάτωση των ασθενών πριν την έναρξη της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Έχουν αναφερθεί πολύ σπάνια σοβαρές δερματικές αντιδράσεις, ορισμένες από τις οποίες θανατηφόρες, που περιλαμβάνουν αποφολιδωτική δερματίτιδα, σύνδρομο Stevens-Johnson,και τοξική επιδερμική νεκρόλυση σε σχέση με την χρήση των ΜΣΑΦ και ορισμένων εκλεκτικών αναστολέων COX-2 κατά τη διάρκεια παρακολούθησης μετά την κυκλοφορία. Φαίνεται ότι οι ασθενείς διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση τέτοιων αντιδράσεων στην αρχή της θεραπείας όπου η έναρξη της αντίδρασης λαμβάνει χώρα, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, μέσα στον πρώτο μήνα θεραπείας. Έχουν αναφερθεί σοβαρές αντιδράσεις υπερευαισθησίας (όπως αναφυλαξία, και αγγειοοίδημα) σε ασθενείς που λαμβάνουν ετορικοξίμπη. Μερικοί εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 έχουν σχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο δερματικών αντιδράσεων σε ασθενείς με ιστορικό φαρμακευτικής αλλεργίας κάθε τύπου. Η χορήγηση της ετορικοξίμπης θα πρέπει να διακοπεί με την πρώτη εμφάνιση δερματικού εξανθήματος, βλάβης του βλεννογόνου, ή οποιοδήποτε άλλου σημείου υπερευαισθησίας.

Η ετορικοξίμπη μπορεί να καλύψει τον πυρετό και άλλα συμπτώματα της φλεγμονής. Θα πρέπει να γίνεται προσοχή όταν συγχρηγείται ετορικοξίμπη με βαρφαρίνη ή άλλα από του στόματος χορηγούμενα αντιπηκτικά Η χρήση της ετορικοξίμπης, όπως και κάθε φαρμακευτικού προϊόντος που είναι γνωστό ότι αναστέλλει την σύνθεση κυκλοοξυγενάσης / προσταγλανδίνης δεν συνιστάται σε γυναίκες που προσπαθούν να συλλάβουν.

Τα δισκία ARCOXIA περιέχουν λακτόζη. Ασθενείς με σπάνια κληρονομικά προβλήματα δυσανεξίας στη γαλακτόζη, με έλλειψη της Lapp λακτάσης ή δυσασυρόφησης της γλυκόζης-γαλακτόζης δεν θα πρέπει να λαμβάνουν αυτό το φάρμακο.

Ανεπιθύμητες ενέργειες

Οι ακόλουθες ανεπιθύμητες ενέργειες αναφέρθηκαν σε κλινικές μελέτες σε ποσοστό μεγαλύτερο από το placebo, σε ασθενείς με OA ή PA, χρόνια χαμηλή οσφυαλγία, ή αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, που ελάμβαναν αγωγή με ετορικοξίμπη 30mg, 60 mg ή 90 mg για διάστημα έως 12 εβδομάδες ή κατά το πρόγραμμα των μελετών MEDAL ή από την εμπειρία μετά την κυκλοφορία του φαρμάκου: οίδημα/κατακράτηση υγρών,ζάλη, κεφαλαλγία, αίσθημα παλμών, υπέρταση/ώωωωωωω, γαστρεντερικές διαταραχές (π.χ. κοιλιακό άλγος, μετεωρισμός, οπισθοστερνικός καύσος) διάρροια, δυσπεψία, δυσφορία από το επιγάστριο, ναυτία, εκχύμωση, εξασθένιση/κόπωση, αυξημένη ALT, αυξημένη AST.

Αλληλεπιδράσεις με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα

Αντιπηκτικά από του στόματος: Σε άτομα σταθεροποιημένα, σε χρόνια θεραπεία με βαρφαρίνη, η χορήγηση ετορικοξίμπη 120 mg ημερησίως συνδέθηκε με περίπου 13% αύξηση στο χρόνο προθρομβίνης (International Normalised Ratio,INR). Διουρητικά, αναστολείς MEA και Ανταγωνιστές της Αγγειοτασίνης II: Τα ΜΣΑΦ ενδέχεται να μειώσουν την επίδραση των διουρητικών και άλλων αντιυπερτασικών φαρμάκων. Σε ορισμένους ασθενείς με επιβαρυνμένη νεφρική ανεπάρκεια (όπως π.χ ασθενείς με αφυδάτωση ή ηλικιωμένοι ασθενείς με επιβαρυνμένη νεφρική λειτουργία) η συγχορήγηση αναστολέα MEA ή ανταγωνιστή της Αγγειοτασίνης II: με παράγοντες που αναστέλλουν την κυκλοοξυγενάση μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, συμπεριλαμβανομένης πιθανής οξείας νεφρικής ανεπάρκειας, η οποία συνήθως είναι αντιστρεπτή Ακετυλοσαλικυλικό οξύ: Η ετορικοξίμπη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα με το ακετυλοσαλικυλικό οξύ σε δόσεις που χορηγούνται για την καρδιαγγειακή προφύλαξη (χαμηλή δόση ακετυλοσαλικυλικού οξέος). Πάντως, η ταυτόχρονη χορήγηση χαμηλής δόσης ακετυλοσαλικυλικού οξέος με ετορικοξίμπη μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του ρυθμού εμφάνισης των ελκών του γαστρεντερικού ή άλλων επιπλοκών σε σχέση με την χρήση μόνο ετορικοξίμπης

Άλλες:

Σε μελέτες αλληλεπίδρασης με άλλα φάρμακα, το ARCOXIA® δεν φάνηκε να έχει σημαντικά αποτελέσματα στη φαρμακοκινητική της Πρεδνιζόνης/πρεδνιζολόνης, Διογίνης. Η κετοκοναζόλη, ένας ισχυρός αναστολέας του CYP3A4, δεν είχε σημαντική κλινικά επίδραση στην εφάπαξ δόση φαρμακοκινητική της ετορικοξίμπης.

Πριν την συνταγογράφηση του ARCOXIA, συμβουλευθείτε την περιλήψη χαρακτηριστικών του προϊόντος__

ΜΕ ΕΝΔΕΙΞΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΔΟΝΤΙΚΟ ΠΟΝΟ¹

Το ARCOXIA[®] τώρα ενδείκνυται και για τη μικρής διάρκειας θεραπεία του μετεγχειρητικού μέτριου οδοντικού πόνου¹



**Για τη μικρής διάρκειας
θεραπεία του¹**

**Μετεγχειρητικού
Μέτριου Οδοντικού Πόνου**

**90mg μια φορά την ημέρα
μέγιστη διάρκεια 3 ημέρες.**

Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών ατομικών κινδύνων του ασθενούς.¹

Δόσεις υψηλότερες από αυτές που συνιστώνται για κάθε ένδειξη είτε δεν έχουν εμφανίσει επιπρόσθετη αποτελεσματικότητα ή δεν έχουν ακόμα μελετηθεί. Λόγω των καρδιαγγειακών κινδύνων, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση του ARCOXIA για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας.¹

Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA[®], συμβουλευθείτε την περίληψη χαρακτηριστικών του προϊόντος για αντενδείξεις, προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και ανεπιθύμητες ενέργειες.

Βιβλιογραφία: 1. Arcoxia GRSPC



BIANEΞ A.E. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ
ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΤΟΥ ΟΜΙΛΟΥ ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΥ

LICENSEE/DISTRIBUTOR OF **MERCK SHARP & DOHME**, Division of MERCK & Co., Inc., Whitehouse Station, N.J., U.S.A.

Γραφεία Επιστημονικής Ενημέρωσης

ΑΘΗΝΑ: Οδός Τατοίου 146 71 Ν. Ερυθραία, Τηλ.: 210 8009111 • **E-Mail:** mailbox@vianex.gr • **INTERNET:** <http://www.vianex.gr> • **ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ:** Ακαδημίου 113, Κόμβος Μακρυγιάννη, Εύσαςμος Θεσσαλονίκης, ΤΚ 56224, Τηλ: 2310 861683 • **ΠΑΤΡΑ:** Μαιζώνος 131, Τηλ.: 2610 221397

† Registered Trademark of Merck & Co., Inc., of Whitehouse Station New Jersey, U.S.A. & used under licence from MERCK & Co., INC.

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΟΣ 27, ΤΕΥΧΟΣ ΙΙΙ,
ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

A. Τσαντίλη

Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
tsantili@pharm.uoa.gr

ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

Γ.Α. Καρίκας

Καθηγητής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Αθηνών, karikasg@teiath.gr

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. Δεμέτζος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

B. Δημόπουλος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

N. Κόλμαν

Galenica SA

X. Κοντογιώργης

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Κουρουνάκης

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Μαχαίρας

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σ. Νικολαρόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ. Πάιρας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

E. Παντερή

Αναπλ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δ. Ρέκκας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

E-mail για κατάθεση εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»
και οδηγίες προς συγγραφείς
επισκεφτείτε την διεύθυνση: www.hsmc.gr

Τα άρθρα που δημοσιεύονται
στην «Φαρμακευτική» καταχωρούνται
στα *Chemicals Abstracts*, *EMBASE* και *SCOPUS*

PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS
VOLUME 27, ISSUE III,
JULY - SEPTEMBER 2015

EDITOR

A. Tsantili

Professor, University of Athens,
tsantili@pharm.uoa.gr

CO EDITOR

G.A. Karikas

Professor, Technological Educational
Institute of Athens, karikasg@teiath.gr

EDITORIAL BOARD

C. Demetzos

Professor, University of Athens

V.J. Demopoulos

Professor, University of Thessaloniki

N. Kolman

Galenica SA

Ch. Kontogiorgis

PhD, University of Thessaloniki

P. Kourounakis

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki

P. Macheras

Professor, University of Athens

S. Nikolaropoulos

Associate Professor, University of Patras

G. Pairas

Associate Professor, University of Patras

I. Panderi

Associate Professor, University of Athens

D. Rekkas

Associate Professor, University of Athens

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@teiath.gr

For "Pharmakeftiki" electronic edition
and instructions to authors
please visit www.hsmc.gr

Articles published in "Pharmakeftiki"
are indexed in *Chemical Abstracts*,
EMBASE and *SCOPUS*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

Λιποϊκό Οξύ: Μια νέα θεραπευτική προσέγγιση στη διαχείριση των χρόνιων νόσων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες <i>Λάσκαρης Γρηγόρης</i> _____	51-72	Lipoic Acid: A New Therapeutic Approach in the Management of Chronic Diseases Related to Oxidative Stress <i>Gregory Laskaris</i> _____	51-72
Χημειομετρία - Χημειοπληροφορική ως εργαλείο στις ποσοτικές σχέσεις δομής - ιδιότητας & δομής - δράσης <i>Νικόλαος Κρητικός, Θεοδοσία Βαλλιανάτου, Ιωάννης Ντότσικας, Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου</i> _____	73-100	Chemometrics - chem(o)informatics as a tool in quantitative structure - property and structure - activity relationships, qspr & qsar <i>Nikolaos Kritikos, Theodosia Vallianatou, Yannis Dotsikas, Anna Tsantili - Kakoulidou</i> _____	73-100
Νέα - Εξελίξεις_____	101-106	News & Developments _____	101-106
Εκδηλώσεις_____	109	Meetings _____	109

Γραφείο Διοίκησης Ελληνικής Εταιρείας
Φαρμακοχημείας
ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου
19002, Παιανία, Ελλάδα
Τηλ.: + 30 211 100 1772
E-mail: t.tassou@zita-management.com

Hellenic Society of Medicinal Chemistry
Management Office
ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1st klm Peanias - Markopoulou
19002, Peania, Greece
Tel.: + 30 211 100 1772
E-mail: t.tassou@zita-management.com



Ο έρωτας μπορεί να πονέσει.

Για όλα τα άλλα υπάρχει η xylocream,
η κρέμα που διώχνει το αίσθημα του πόνου.

xylocream®

LIDOCAINE + PRILOCAINE

(2,5+2,5)% β/β

Κρέμα 30g



Λιποϊκό Οξύ: Μια νέα θεραπευτική προσέγγιση στη διαχείριση των χρόνιων νόσων που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες

Λάσκαρης Γρηγόρης

Εθνικός Οργανισμός Παροχής Υπηρεσιών Υγείας, Φαρμακείο ΕΟΠΥΥ, Καραολή Δημητρίου 12, Εύοσμος Θεσσαλονίκης, Τ.Κ. 56225

Περίληψη

Το λιποϊκό οξύ είναι μία ενδογενώς παραγόμενη ουσία που συμμετέχει στην παραγωγή κυτταρικής ενέργειας μέσω παροχής αναγωγικής ισχύος (NADH) στο επίπεδο του μιτοχονδρίου. Το λιποϊκό οξύ ανάγεται εν μέρει στον οργανισμό προς το εξίσου δραστικό διυδρολιποϊκό οξύ. Το λιποϊκό οξύ κατέχει ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων και αποτελεί ένα κλινικά καταξιωμένο συμπλήρωμα δρώντας σε αποσφηνισμένα βιοχημικά μονοπάτια με κρίσιμο ρόλο στο κυτταρικό στρες.

Μία πλειάδα πειραματικών και κλινικών ερευνών υποδεικνύουν ότι η από του στόματος χρήση του σε δόση περίπου 600 mg/d συμβάλλει στην αντιμετώπιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων που κυμαίνονται από ορθοπεδικού τύπου σύνδρομα (αυχενικό σύνδρομο, οσφυαλγία, σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα) μέχρι διαβητικές επιπλοκές, με κυρίαρχο το ρόλο του στη διαχείριση της περιφερικής διαβητικής νευροπάθειας και ιδίως στην ανακούφιση από τον πόνο, την παραισθησία και το μούδιασμα. Ο κοινός παθοβιολογικός παρονομαστής αυτών των δυσλειτουργιών είναι η οξειδωτική βλάβη την οποία το λιποϊκό

οξύ ανατάσσει άμεσα μέσω τριών μηχανισμών: συμπλοκοποίηση μετάλλων που καταλύουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών, σάρωση των Ενεργών Μορφών Οξυγόνου (ROS) και αναγέννηση άλλων ενδογενών αντιοξειδωτικών ουσιών με προεξάρχουσα τη γλουταθειόνη (GSH). Πέραν αυτών των οδών, το λιποϊκό οξύ ανατάσσει τις βλαπτικές εκδηλώσεις της οξειδωτικής ανισορροπίας και κατά έμμεσο τρόπο, είτε μέσω επαγωγής της κινάσης PKB/Akt, είτε μέσω ενεργοποίησης μεταγραφικών παραγόντων με κρίσιμο ρόλο στη οξειδωαναγωγική τροποποίηση-φλεγμονώδη απόκριση, όπως ο NF-κΒ και ο Nrf2. Επιπρόσθετα το λιποϊκό οξύ δρα ως αντιστρεπτός αναστολέας της διεγερσιμότητας των αισθητικών νευραξόνων, τροποποιώντας τους T-διαύλους (T-channels) και περιορίζοντας την πυροδότηση της νευρικής διέγερσης. Για αρκετές εκ των παραπάνω φαρμακολογικών ιδιοτήτων η δράση είναι παρατεταμένη και το IC50 αντιστοιχεί σε λίγα μΜ, δηλαδή σε συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται εύκολα με τις συνηθισμένες από του στόματος δόσεις.

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: Λιποϊκό Οξύ, Διυδρολιποϊκό Οξύ, Οξειδωτικό Στρες, Οξειδοαναγωγική Τροποποίηση, Περιφερική Διαβητική Νευροπάθεια

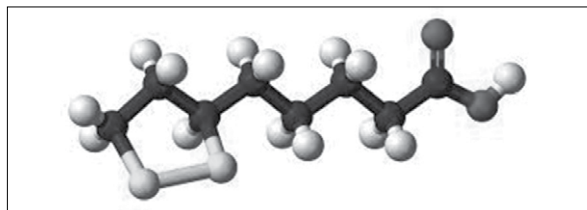
* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Λάσκαρης Γρηγόρης, Ph.D
Φαρμακοποιός ΕΟΠΥΥ, gregoracius@yahoo.com

Εισαγωγή

Ο ρόλος του λιποϊκού οξέος (LA) (**Σχήμα 1**) στον κυτταρικό μεταβολισμό είναι γνωστός εδώ και δεκαετίες. Απομονώθηκε για πρώτη φορά από τον Reed και χαρακτηρίστηκε ως παράγοντας μεταφοράς ακετυλο - ομάδων¹. Αρχικά ταξινομήθηκε ως βιταμίνη, αλλά αργότερα ανακαλύφθηκε ότι ο οργανισμός των ζώων και του ανθρώπου είναι σε θέση να βιοσυνθέτει λιποϊκό οξύ. Παρόλα αυτά, η βιοχημική οδός της de novo σύνθεσης του στον άνθρωπο δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί πλήρως. Όλα τα δεδομένα συγκλίνουν στο ότι η πρόδρομη βιοσυνθετική ένωση του LA είναι το οκτανοϊκό οξύ επί του οποίου επικολλώνται άτομα θείου, κυστεϊνικής προέλευσης.

Στον ανθρώπινο οργανισμό το λιποϊκό οξύ αποτελεί συμπαραγοντα (cofactor) των πολυενζυμικών συμπλεγμάτων των 2 - κέτο - αφυδρογονασών, ενζύμων που συμμετέχουν στην παραγωγή ενέργειας στο κύτταρο. Πιο γνωστό μεταξύ αυτών είναι η πυροσταφυλική αφυδρογονάση (pyruvate dehydrogenase), το ένζυμο δηλαδή που στέκεται στην πύλη του κύκλου του Krebs, ο οποίος με τη σειρά του αποτελεί τον μεταβολικό κόμβο όπου συγκλίνουν οι καταβολικές οδοί σακχάρων, λιπών και αμινοξέων. Στις 2 - κέτο - αφυδρογονάσες το λιποϊκό οξύ συνδέεται με το ενεργό κέντρο μέσω μίας λυσίνης και μεταφέρει ακετυλο - ομάδες από το πυροσταφυλικό οξύ στο συνένζυμο A (CoA), συνθέτοντας ακετυλο - συνένζυμο A (Ac - CoA), δηλαδή τον κύριο μεταφορέα ακετυλίων του ανθρώπινου οργανισμού. Κατά τη διαδικασία αυτή το λιποϊκό οξύ ανάγεται σε διυδρολιποϊκό οξύ το οποίο με τη βοήθεια του ενζύμου διυδρολιποϊκή αφυδρογονάση επανοξειδώνεται προς λιποϊκό οξύ με ταυτόχρονη παραγωγή NADH. Ουσιαστικά αυτό που επιτελείται μέσω της όλης διαδικασίας είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων από το υπόστρωμα (π.χ. πυροσταφυλικό) προς το NAD⁺ με σκοπό την παραγωγή αναγωγικής ισχύος (NADH).

Οι ελάχιστες ποσότητες λιποϊκού οξέος που είναι απαραίτητες για την επιτέλεση του βιολογικού του ρόλου προέρχονται είτε από ενδογενή βιοσύνθεση είτε μέσω διατροφής, κυρίως από το κρέας. Το LA που λαμβάνεται από τις τροφές είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο με λυσίνη (lipoyllysine) ενώ το LA που λαμβάνεται ως συμπλήρωμα διατροφής είναι ελεύθερο οξύ.



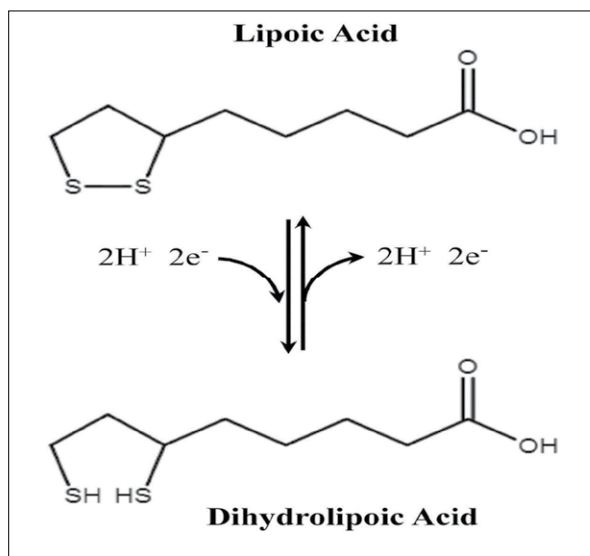
Σχήμα 1: Δομή Λιποϊκού οξέος

Φαρμακοκινητική - Βιοδιαθεσιμότητα - Μεταβολισμός

Οι θεραπευτικές δόσεις που χρησιμοποιούνται στην κλινική καθημερινότητα (~ 200 - 1800 mg) είναι πολύ μεγαλύτερες από τις ενδογενώς παραγόμενες. Πειράματα σε υγιείς ανθρώπους έχουν δείξει ότι το λιποϊκό οξύ απορροφάται σε ποσοστό περίπου 30% και στις δόσεις που χρησιμοποιούνται (π.χ. για την αντιμετώπιση της διαβητικής νευροπάθειας) επιτυγχάνονται συγκεντρώσεις στο πλάσμα της τάξεως των 5 - 50 μM, ή 1 - 10 μg/ml² Με μία από του στόματος δόση 1200 mg σε κάψουλα επιτυγχάνεται C_{max} 10,3 μg/ml, συγκέντρωση που αντιστοιχεί με αυτή που επιτυγχάνουν θεραπευτικές δόσεις λιποϊκού οξέος σε in vitro πειράματα³. Ο χρόνος ημιζωής (t_{1/2}) του LA είναι περίπου 30 min.

Υπάρχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι το LA απορροφάται μέσω πολλαπλών μεταφορέων συμπεριλαμβανομένου του μεταφορέα των μονοκαρβοξυλικών οξέων και του νατριο - εξαρτώμενου των βιταμινών. Από αυτή την άποψη, η απορρόφηση του μπορεί να υπόκειται σε συναγωνισμό υποστρώματος (substrate competition), κάτι που έχει φανεί και πειραματικά καθότι η τροφή μειώνει την απορρόφηση του LA από το στομάχι μέχρι και κατά 30%⁴.

Το λιποϊκό οξύ (LA) είναι ένα δισουλφίδιο το οποίο στον οργανισμό μπορεί να αναχθεί προς την εξίσου δραστική διθειολική του μορφή (- SH), η οποία ονομάζεται διυδρολιποϊκό οξύ (DHLA) (**Σχήμα 2**). Η αναγωγή του LA προς DHLA τελείται στα μιτοχόνδρια από το ένζυμο διυδρολιποϊκή αφυδρογονάση με κατανάλωση NADH, ενώ εκτός μιτοχονδρίων η αναγωγή καταλύεται από την αναγωγή της θειορεδοξίνης και την αναγωγή της γλουταθειόνης με δότη υδρογόνου το NADPH. Στο πλάσμα, οι δύο μορφές βρίσκονται σε ισορροπία. Επειδή το LA φέρει ένα ασύμμετρο άνθρακα στο σημείο πρόσφυσης της πενταμελούς ανθρακικής αλυσίδας (C - 3), απαντάται σε δύο



Σχήμα 2: Αλληλομετατροπή LA και DHLA

εναντιομερείς στερεομορφές, τις R - και L - . Η φυσικώς παραγόμενη είναι η R - μορφή. Η αναγωγή της γλουταθειόνης και η διυδρολιποϊκή αφυδρογονάση κατέχουν αντίθετες στερεοειδικότητες: η πρώτη ευνοεί την αναγωγή του S - LA προς S - DHLA⁵ και η δεύτερη την αναγωγή του R - LA σε R - DHLA⁶. Κλινικώς χρησιμοποιείται συνήθως η ρακεμική μορφή (1:1 μείγμα R - και L -) αφενός επειδή αυτή παράγεται κατά τη χημική σύνθεση της ουσίας, αφετέρου επειδή όλες οι κλινικές μελέτες που απέδειξαν την ευεργετική δράση του LA πραγματοποιήθηκαν με το ρακεμικό μείγμα.

Το R - LA δρα σε συνεργασία με την ανηγμένη μορφή, το R - DHLA, που χάρη στις δύο θειόλες (- SH) που περιέχει αποτελεί ακόμα πιο ισχυρό αντιοξειδωτικό από το ίδιο το R - LA. Το S - LA που υπάρχει στο ρακεμικό μείγμα δεν είναι μία αδρανής ουσία που απλώς συνενυρίσκεται με το δραστικό R - LA. Τα πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το R - DHLA ανάγει το S - LA σε S - DHLA το οποίο με τη σειρά του είναι σε θέση να ανάγει το R - LA σε R - DHLA συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στη δημιουργία ενός κύκλου αλληλομετατροπής του LA σε DHLA.

Συνολικά, υπάρχουν ενδείξεις ότι το ρακεμικό μείγμα LA μετατρέπεται μαζικότερα σε DHLA εντός του οργανισμού σε σχέση με οποιοδήποτε από τα δύο ανεξάρτητα εναντιομερή, γεγονός που μπορεί να μεταφραστεί σε ισχυρότερη βιολογική δράση. Πειρά-

ματα σε οφθαλμικούς φακούς ποντικών απέδειξαν ότι το ρακεμικό LA παρήγαγε περισσότερο DHLA από ότι το R - ή το S - LA μόνο του και άσκησε ισχυρότερη προστατευτική δράση έναντι καταρράκτη, σε σχέση με τα καθαρά ισομερή⁷.

Το μόριο του LA είναι μικρό σε μέγεθος και έχει αμφίφιλο (υδρόφιλο και λιπόφιλο) χαρακτήρα με αποτέλεσμα να κατανέμεται ευρέως σε πολλούς ιστούς του σώματος ενώ έχει αποδειχθεί ότι περνάει και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό⁸.

Το LA μεταβολίζεται ευρέως στο ήπαρ. Επειδή η πλευρική αλυσίδα του LA είναι λιπαρό οξύ, οι μεταβολίτες του είναι προϊόντα β - οξειδωσης. Ο κύριος μεταβολίτης που ανιχνεύεται στον ανθρώπινο οργανισμό είναι το δις - νορλιποϊκό οξύ, το οποίο κατέχει αντιοξειδωτική δράση και καταγράφει τη μέγιστη συγκέντρωση του στο αίμα περίπου 3 ώρες μετά τη λήψη. Επίσης έχουν ανιχνευθεί και S - μεθυλιωμένα παράγωγα β - οξειδωσης, όπως 4,6 - διμεθυλοθειοεξανοϊκό οξύ⁹.

Φαρμακολογικές δράσεις

3.1.Αντιοξειδωτική δράση

Στον πυρήνα της δράσης του λιποϊκού οξέος βρίσκονται οι αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Όλα τα διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι το LA είναι πολυδιάστατο αντιοξειδωτικό, ικανό να δρα μέσω πολλαπλών οδών και μηχανισμών. Συν τοις άλλοις, τα δομικά του χαρακτηριστικά του προσδίδουν αμφίφιλη φύση οπότε μπορεί να δρα τόσο σε υδατικό περιβάλλον (εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια υγρά, όπως η βιταμίνη C), αλλά και επί των κυτταρικών μεμβρανών (όπως η βιταμίνη E) οι οποίες λόγω λιπιδικής φύσης δέχονται το κύριο βάρος των οξειδωτικών επιθέσεων.

In vitro και in vivo μελέτες έχουν δείξει ότι το LA, αυτούσιο είτε μέσω της DHLA μορφής του, σχηματίζει σύμπλοκα με μέταλλα όπως Fe²⁺, Mn²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺ και Pb²⁺. Το LA και ο ενδογενής μεταβολίτης του DHLA, πέραν της συμπλοκοποιητικής δράσης, διαθέτουν και άμεση εκκαθαριστική δράση, αδρανοποιώντας ευθέως τις ελεύθερες ρίζες πριν αυτές βρουν το βιολογικό τους στόχο. Γενικά in vitro πειράματα έχουν δείξει ότι το LA αδρανοποιεί την υδροξυλική ρίζα (OH·), το μονήρες οξυγόνο ¹ΔgO₂, το HOCl και το ONOO·, ενώ το DHLA προστατεύει από τη βλαπτική

επίδραση της υπεροξειδικής ρίζας ($O_2^{\cdot-}$), του HOCl και της ρίζας του μονοξειδίου του αζώτου (NO)¹⁰.

Τα υπάρχοντα δεδομένα υποδεικνύουν ότι ο σημαντικότερος εκ των αντιοξειδωτικών μηχανισμών μέσω του οποίου ασκεί μέρος των ευεργετικών του επιδράσεων το LA, είναι αυτός της αναγέννησης άλλων ενδοκυττάρων αντιοξειδωτικών. Όταν τα ενδογενή αντιοξειδωτικά εξουδετερώνουν τα οξειδωτικά μετατρέπονται τα ίδια σε σταθερές ρίζες ή αδρανείς οξειδωμένες ουσίες. Η ακεραιότητα της αντιοξειδωτικής άμυνας εξαρτάται από την ταχεία και αποτελεσματική αναγέννηση αυτών των αδρανών μορφών. Γενικώς τα αντιοξειδωτικά δρουν συνεργιστικά στα πλαίσια του «αντιοξειδωτικού δικτύου», δηλαδή ενός μηχανισμού ανακύκλωσης όπου το ένα αντιοξειδωτικό αναγεννά την αδρανοποιημένη μορφή κάποιου άλλου. Το εξωγενώς χορηγούμενο LA εντάσσεται - ως DHLA - σε αυτόν τον κύκλο και αναγεννά τα οξειδωμένα αντιοξειδωτικά χάρη στο υψηλότατο δυναμικό αναγωγής που κατέχει (- 320mV). (Για σύγκριση, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του ζεύγους GSH/GSSG είναι - 240 mV. Δηλαδή το DHLA ανάγει το GSSG σε GSH, όμως η GSH αδυνατεί να ανάγει το LA σε DHLA.)

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του LA ήταν γνωστές από τη δεκαετία του 50 όταν είχε διαφανεί ότι η προσθήκη λιποϊκού οξέος στη δίαιτα ποντικών τα προστατεύει από τις συνέπειες της έλλειψης βιταμίνης E και βιταμίνης C. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν προσφάτως όταν πειράματα με άτριχα ποντίκια κατέδειξαν τον προστατευτικό ρόλο του LA στην πρόληψη της ανεπάρκειας των βιταμινών C και E¹¹.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίδραση του LA στην ενδοκυτταρική αναγέννηση της γλουταθειόνης (GSH), της κύριας δηλαδή αντιοξειδωτικής ουσίας του οργανισμού. Η αναγεννηθείσα από το LA γλουταθειόνη είναι σε θέση να αναγεννήσει άλλα ενδογενή αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη E. Σημειώνεται ότι η τελική ποσότητα της GSH που σχηματίζεται από το LA είναι πολλαπλάσια της στοιχειομετρικώς αναμενόμενης, γεγονός που, όπως θα φανεί στην ενότητα 3.3.4., αποδίδεται στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων de novo βιοσύνθεσης της γλουταθειόνης από το LA¹². Το φαινόμενο αυτό αποτελεί παράδειγμα «οξειδωτικής ρύθμισης» (oxidative regulation) και αναβαθμίζει το λιποϊκό οξύ από απλό αντιοξειδω-

τικό παράγοντα σε κυτταρικό ρυθμιστή βιοχημικών μονοπατιών απόκρισης στο στρες.

Από τις αρχές της δεκαετίας του 90 είχε παγιωθεί η βεβαιότητα ότι ο οργανισμός των διαβητικών ασθενών βρίσκεται σε κατάσταση υπερπαραγωγής οξειδωτικών ουσιών και υποπαραγωγής αντιοξειδωτικών μορίων. Η οξειδωτική προέλευση των επιπλοκών του διαβήτη και οι βιοχημικές λεπτομέρειες μέσω των οποίων αυτές εκδηλώνονται (ελεύθερες ρίζες γλυκοζυτικής προέλευσης, μονοπάτι πολυολών, τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης - AGEs) έχουν διατυπωθεί με ακρίβεια έτσι ώστε ο διαβήτης πλέον να περιγράφεται ως μία γλυκοζοεξαρτώμενη υπερπαραγωγή ριζών υπεροξειδίου¹³. Ως εκ τούτου, παράλληλα με τον γλυκαιμικό έλεγχο, ένα εκ των ζητούμενων στην αντιμετώπιση των διαβητικών επιπλοκών είναι και η ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού.

Επειδή οι κυτταρικές μεμβράνες παίζουν μείζονα λειτουργικό ρόλο στη μετάδοση της νευρικής ώσης και επειδή η νευροπάθεια αποτελεί μία από τις σημαντικότερες επιπλοκές του διαβήτη, αναμένεται ότι το LA θα προστατεύει τα νεύρα από την τοξική επίδραση των υπεργλυκαιμικής προέλευσης οξειδωτικών ουσιών. Οι Nagamatsu et al. χρησιμοποιώντας ποντίκια στα οποία προκλήθηκε διαβητική νευροπάθεια με στρεπτοζοτοκίνη διαπίστωσαν ότι η χορήγηση λιποϊκού οξέος αποκαθιστά τη νευρική αιμάτωση, βελτιώνει την ταχύτητα της νευρικής ώσης και επαναφέρει την οξειδωτική ισορροπία του νευρικού ιστού στα επίπεδα των υγιών ποντικών. Σημειώνεται ότι το LA δεν ασκεί αντίστοιχες δράσεις σε υγιή ποντίκια, γεγονός που υποδεικνύει ότι η δράση του είναι στοχευμένη στον αιτιολογικό παράγοντα της νευροπάθειας και ότι πίσω από τις επιπλοκές της νόσου βρίσκεται το οξειδωτικό στρες¹⁴.

3.2.Ευγλυκαιμική δράση

Πειράματα σε ποντίκια υποδεικνύουν ότι το LA σε μεγάλες δόσεις (50mg/kg σωματικού βάρους) μπορεί να έχει υπογλυκαιμική δράση. Για παράδειγμα σε ποντίκια στα οποία προκλήθηκε διαβήτης με στρεπτοζοτοκίνη, τα επίπεδα της γλυκόζης αίματος μειώθηκαν από τα $18,8 \pm 1,1$ στα $11,5 \pm 2,3$ mM χωρίς αλλαγή στα επίπεδα ινσουλίνης. Σε υγιή ποντίκια 100 mg/kg i.p. λιποϊκού οξέος είχαν ως αποτέλεσμα την πτώση

του σακχάρου από $3,7 \pm 0,8$ σε $2,0 \pm 0,5$ mM. Τα αποτελέσματα σε περιπτώσεις χρόνιας χορήγησης είναι ανάμικτα: η χορήγηση 30 mg/kg i.p. επί 9 ημέρες διαπιστώθηκε ότι μειώνει τα επίπεδα της γλυκόζης του αίματος μόνο σε διαβητικά πειραματόζωα¹⁵.

Η υπογλυκαιμική δράση του LA πιθανώς να οφείλεται στην επίδραση του στην πρόσληψη και στη χρησιμοποίηση της γλυκόζης από τα κύτταρα. Σε βιοχημικό επίπεδο η υπογλυκαιμική δράση φαίνεται ότι δε μεσολαβείται από τη διέγερση της έκκρισης της ινσουλίνης αλλά από την μετατόπιση του μεταφορέα της γλυκόζης GLUT - 4 και GLUT - 1 από το κυτταρόπλασμα στην εξωτερική πλασματική μεμβράνη των κυττάρων, γεγονός που διευκολύνει την μεταφορά μορίων γλυκόζης εντός του κυττάρου. Από εκεί και πέρα έχει διαπιστωθεί ότι το LA (με την μορφή του DHLA) μειώνει την παραγωγή Ac - CoA και CoA. Τα χαμηλά επίπεδα Ac - CoA οδηγούν σε μειωμένη σύνθεση κιτρικού οξέος κατά το πρώτο βήμα του κύκλου του Krebs και κατά συνέπεια τα επίπεδα του κιτρικού οξέος δεν είναι αρκετά υψηλά για να καταστείλουν τη δράση της φωσφοφρουκτοκινάσης (το κιτρικό οξύ είναι αλοστερικός αναστολέας της φωσφοφρουκτοκινάσης) διευκολύνοντας έτσι τη γλυκόλυση. Επιπρόσθετα, η χαμηλή συγκέντρωση κιτρικού οξέος παρεμποδίζει τη γλυκονεογένεση μέσω αναστολής της ενεργοποίησης της πυροσταφυλικής καρβοξυλάσης (το πρώτο ρυθμιστικό ένζυμο της οδού της γλυκονεογένεσης). Ταυτοχρόνως το DHLA δρα ως υποκατάστατο του CoA στην βήτα - οξείδωση των λιπαρών οξέων, όμως η ακυλιωμένη του μορφή αποτελεί φτωχό υπόστρωμα για την θειολάση με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων¹⁶.

Συμπερασματικά, η χορήγηση LA πιθανώς να βελτιώνει τις μεταβολικές παρενέργειες του διαβήτη μέσω τριών μηχανισμών:

1. Αποκατάσταση του ρυθμού της γλυκόλυσης
2. Ελάττωση του ρυθμού αποδόμησης των λιπαρών οξέων, και
3. Μείωση της γλυκονεογένεσης

3.3.Οξειδοαναγωγική τροποποίηση (Redox modulation)

Οι πιο σύγχρονες θεωρήσεις της φαρμακολογικής δράσης του LA ξεφεύγουν από τα πλαίσια της περιοριστικής ανάγνωσης «κακό οξειδωτικό - καλό

αντιοξειδωτικό» και προσδίδουν στο LA ρόλο οξειδοαναγωγικού τροποποιητή κυστεϊνικών μονάδων ενζύμων και υποδοχέων με κρίσιμο ρόλο στην μεταγωγή βιοχημικών σημάτων ή στην μεταγραφή γονιδίων. Ο ρόλος αυτός εξηγεί και το παράδοξο του αφερόντος γρήγορου μεταβολισμού και ταχείας αποβολής του από τον οργανισμό και αφετέρου της σαφούς και παρατεταμένης δράσης του.

3.3.1.PKB/Akt

Οι αναπτυξιακοί παράγοντες και οι κυτοκίνες που δρουν μέσω υποδοχέων κινάσων της τυροσίνης συμμετέχουν στη μετάδοση πλειάδας βιοχημικών σημάτων και κατ'αυτόν τον τρόπο επηρεάζουν το μεταβολισμό, την κυτταρική διαίρεση, την επιβίωση και την απόκριση στο στρες. Παρ'ότι τα βιοχημικά μονοπάτια που ενεργοποιούνται από τέτοια ερεθίσματα είναι πολλά και διάφορα, συχνά συγκλίνουν πάνω σε μία πρωτεΐνη - στόχο, την πρωτεϊνική κινάση B (PKB, γνωστή και ως PKB/Akt), ένα ένζυμο που παίζει κρίσιμο ρόλο στην κυτταρική επιβίωση, στην ενεργοποίηση του μεταβολισμού του γλυκογόνου καθώς και στη διατήρηση του αγγειακού τόνου μέσω φωσφορυλίωσης σημαντικών πρωτεϊνών που βρίσκονται σε μεταγενέστερα σημεία του βιοχημικού μονοπατιού (down - stream proteins).

Οι Zhang et al. διερεύνησαν κατά πόσον το LA προστατεύει in vitro νευρώνες από την επίδραση τοξικών παραγόντων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη LA σε συγκεντρώσεις που συναντώνται φυσιολογικά στο αίμα μετά από του στόματος πρόσληψη LA, προστατεύει τους νευρώνες από τη θανατηφόρο επίδραση της τοξικής πρωτεΐνης β - αμυλοειδής (Αβ, υπεύθυνη για τις καταστροφικές συνέπειες της νόσου Alzheimer) και του H_2O_2 . Οι ερευνητές χρησιμοποιώντας Western blot, διαπίστωσαν ότι οι προστατευτικές επιδράσεις του LA ασκούνται μέσω αύξησης των επιπέδων της φωσφορυλιωμένης - δηλαδή της ενεργής μορφής - της PKB/Akt. Πέραν αυτού, τα βιοχημικά αποτελέσματα του LA ήταν μετρήσιμα ακόμα και 48 ώρες μετά την προσθήκη του στην κυτταρική καλλιέργεια και ενώ πλέον δεν ήταν ανιχνεύσιμο, υποδεικνύοντας ότι το LA μπορεί να μεταβολίζεται και να απομακρύνεται γρήγορα από τον οργανισμό, όμως τα βιολογικά του αποτελέσματα εμμένουν για πολύ χρόνο μετά την απομάκρυνση του. Για να βε-

βαιωθεί ότι τα αποτελέσματα οφείλονται στην ενεργοποίηση του PKB/Akt από το LA χρησιμοποιήθηκε ένας αναστολέας της PKB/Akt (LY294002) και διαπιστώθηκε ότι αυτός κατάργησε την προστατευτική δράση του LA επί των νευρώνων¹⁷.

3.3.2.NO

Πολλές διαβητικές βλάβες σε όργανα - στόχους οφείλονται σε μείωση της αιματικής παροχής η οποία με τη σειρά της είναι αποτέλεσμα αγγειοσυστολής ή απώλειας αγγειοδιασταλτικών αντανάκλαστικών. Επειδή το ισχαιμικό μικροπεριβάλλον που δημιουργείται σχετίζεται με μειωμένη λειτουργικότητα και μεταβολικές διαταραχές, κάθε ουσία που είναι σε θέση να ανατάξει την αγγειοσύσπαση και να αποκαταστήσει την αιματική ροή είναι δυνητικά θεραπευτική.

Ο κύριος παράγον αγγειοδιαστολής είναι το μονοξειδίου του αζώτου (NO). Παράγεται στα κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου με τη μεσολάβηση του ενζύμου συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (eNOS), του οποίου ενζύμου η δράση βρίσκεται μερικώς υπό τον έλεγχο της PKB/Akt. Η από το NO μεσολαβούμενη αγγειοδιαστολή αυξάνει την αιμάτωση των ιστών και βελτιώνει την λειτουργικότητα τους. Το NO χημικώς θεωρείται ελεύθερη ρίζα και αρκετά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEPs) δρουν ως σαρωτές του και το αδρανοποιούν, προκαλώντας αγγειοσύσπαση. Έχει διαπιστωθεί ότι το LA διασφαλίζει τη βιοχημική ακεραιότητα του NO καταστέλλοντας τα AGEPs, ενώ ταυτόχρονα - παρότι είναι και το ίδιο σαρωτής ελευθέρων ριζών - δεν είναι σε θέση να σαρώσει το NO. αλλά αντιθέτως συμβάλλει στη βιοσύνθεση του μέσω φωσφορυλιωτικής ενεργοποίησης της eNOS από την PKB/Akt.

Οι ιδιότητες αυτές μπορεί να ασκήσουν ευνοϊκή επίδραση σε ένα ευρύ φάσμα εκφυλιστικών καταστάσεων όπου καταγράφεται έκπτωση της λειτουργίας του νευρικού ή του καρδιαγγειακού συστήματος όπως ο διαβήτης ή το γήρας. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε όταν καταγράφηκε κατά 50% απώλεια της φωσφορυλίωσης της eNOS και ταυτόχρονη πτώση της ενεργοποίησης της σε απομονωμένο ενδοθήλιο ηλικιωμένων πειραματόζων (ποντίκια 26 - 28 μηνών) σε σχέση με νέα (3 μηνών). Η συγκεκριμένη λειτουργική έκπτωση συνοδευόταν και από μείωση της δραστηριότητας της PKB/Akt. Η προσθήκη LA

στα κύτταρα των ηλικιωμένων ποντικών (in vitro) επανέφερε τα επίπεδα λειτουργικότητας της PKB/Akt στα επίπεδα των νέων ποντικών και αποκατέστησε την φωσφορυλίωση της eNOS. Η ενεργοποίηση της eNOS δεν ήταν παροδική αλλά παρέμεινε υψηλή σε σχέση με ηλικιωμένα ποντίκια ομάδας ελέγχου για 12 ώρες μετά την προσθήκη LA¹⁸. Η συγκεκριμένη δράση του LA επιβεβαιώθηκε σε μεταγενέστερες έρευνες και in vivo σε πειράματα με ιστούς ζώων που λάμβαναν LA από το στόμα και κατόπιν μετρήθηκε η δράση της eNOS¹⁹.

3.3.3.NF - κB

Το ενδοκυττάριο οξειδωτικό στρες ενεργοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα NF - κB ο οποίος προάγει την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην εκδήλωση της φλεγμονής. Ο NF - κB ελέγχεται από οξειδοαναγωγικούς μηχανισμούς μέσω των - SH ομάδων (π.χ. στην Cys62) που φέρει στην p50 υπομονάδα του. Ο NF - κB βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα συνήθως υπό καταστολή λόγω σύνδεσης με την ανασταλτική υπομονάδα IκB. Όταν η ενδοκυτταρική οξειδοαναγωγική ισορροπία ανατραπεί υπέρ του οξειδωτικού στρες ή όταν δράσουν διάφορες κυτοκίνες όπως ο TNF - α, τότε η IκB φωσφορυλιώνεται και αποσυνδέεται από τον NF - κB και ο τελευταίος είναι πλέον ελεύθερος να ταξιδέψει στον πυρήνα όπου και ενεργοποιεί μία πλειάδα γονιδίων που φέρουν την κατάλληλη αλληλουχία αναγνώρισης και σύνδεσης με τον NF - κB. Τα γονίδια που επηρεάζονται εμπλέκονται στην έναρξη και διάδοση της φλεγμονής, στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και στην απόπτωση.

Το LA συγκαταλέγεται μεταξύ των αναστολέων του NF - κB όχι μόνο επειδή λόγω αντιοξειδωτικών δράσεων επαναφέρει την οξειδοαναγωγική ισορροπία, αλλά και επειδή κατέχει και άμεση ανασταλτική δράση, μην επιτρέποντας π.χ. άλλους διεγέρτες του NF - κB να τον ενεργοποιήσουν. Πρόσφατα πειράματα σε ζωικό μοντέλο οξείας νεφρικής βλάβης έδειξαν ότι μικρές συγκεντρώσεις LA μειώνουν σημαντικά την έκφραση φλεγμονογόνων κυτοκινών, αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του NF - κB²⁰. Σημειώνεται ότι αντίστοιχες ευνοϊκές ανασταλτικές δράσεις επί των παραγόντων προσκόλλησης καταγράφηκαν από το LA και μέσω μίας άλλης βιοσυνθετικής οδού, αυτής της eNOS, μάλιστα σε συνθήκες αυξημένης γλυκοζυλίωσης.

σης αναστέλλοντας ουσιαστικά τις επικίνδυνες επιπλοκές του αυξημένου σακχάρου²¹.

3.3.4. Αναγέννηση της GSH μέσω ενεργοποίησης του Nrf2

Όπως αναφέρθηκε στην ενότητα 3.1., ένας από τους τρόπους μέσω των οποίων το LA δρα ως κυτταροπροστατευτικό είναι η αναγέννηση της ενδοκυτταρικής γλουταθειόνης, της κύριας αντιοξειδωτικής ουσίας του οργανισμού. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι η συγκεκριμένη δράση δεν είναι αποτέλεσμα άμεσης αντιοξειδωτικής δράσης αλλά επιλεκτικής μεταγραφής γονιδίων μέσω ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα Nrf2.

Ο Nrf2 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που κατέχει ρόλο κλειδί στην έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην αντιοξειδωτική προστασία και στα συστήματα αποτοξίνωσης των ξеноβιοτικών Φάσης ΙΙ (αντιδράσεις σύζευξης - conjugation). Τα γονίδια - στόχοι του Nrf2 φέρουν στην αρχή τους (3' άκρο) μία αλληλουχία DNA επί της οποίας «προσκολλάται» ο Nrf2 και εν συνεχεία ενισχύει την μεταγραφή τους. Ο Nrf2 ρυθμίζει κατ' αυτόν τον τρόπο την έκφραση άνω των 200 αντιοξειδωτικών και αποτοξινωτικών ενζύμων μέσω της επαγωγής έκφρασης των γονιδίων τους. Η αλληλουχία σύνδεσης του DNA με τον Nrf2 ονομάζεται Αντιοξειδωτικό Στοιχείο Απόκρισης (Antioxidant Response Element, ARE) και παίζει κυρίαρχο ρόλο στην ενεργοποίηση των συγκεκριμένων γονιδίων. Ο Nrf2 βρίσκεται συνήθως ανενεργός στο κυτταρόπλασμα, υπό την κατασταλτική επίδραση της πρωτεΐνης Keap1, η οποία φέρει 25 (!) κυστεΐνες και έτσι αποτελεί έναν εξαιρετικά ευαίσθητο αισθητήρα των οξειδοαναγωγικών συνθηκών που επικρατούν στο κύτταρο. Αν οι θειόλες (-SH) των κυστεϊνών της Keap αρχίσουν να οξειδώνονται (μετατροπή σε S-S), η Keap1 αποδεσμεύει τον Nrf2 και αυτός μετατοπίζεται στον πυρήνα όπου και ενεργοποιεί τα αντιοξειδωτικά ένζυμα και έτσι μέσα σε λίγες ώρες αποκαθίσταται η οξειδωτική ισορροπία του κυττάρου.

Ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του γήρατος είναι η εξασθένηση των ομοιοστατικών μηχανισμών (π.χ. απώλεια οξειδωτικής αντιδραστικότητας του Keap1) που προστατεύουν τον οργανισμό έναντι σωρείας οξειδωτικών, τοξικών και παθολογι-

κών προσβολών. Η κύρια αντιοξειδωτική ουσία μικρού μοριακού βάρους και ένας από τους σημαντικότερους συζεύκτες των αποτοξινωτικών ενζύμων της Φάσης ΙΙ είναι η γλουταθειόνη (GSH). Η επαρκής και έγκαιρη σύνθεση της αποτελεί έναν καίριο προσαρμοστικό μηχανισμό αντιμετώπισης οξειδωτικών και τοξικών βλαβών. Κατά το γήρας όμως, περίοδο αυξημένου οξειδωτικού στρες, τα βασικά επίπεδα της GSH δεν αυξάνονται αναλόγως, αλλά αντιθέτως μειώνονται, οδηγώντας - μέσω ενός φαύλου κύκλου - σε απώλεια λειτουργικότητας, μειωμένη αντίσταση στο στρες και εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων.

Μεταξύ των ενζύμων που ελέγχει ο Nrf2 είναι και αυτά που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση της γλουταθειόνης με κύριο την γ-γλουταμυλκυστεΐνική λιγάση (GCL). Μία ομάδα συνεργαζόμενων ερευνητών από τα Αμερικανικά Πανεπιστήμια της Alabama, του Oregon και του Baylor College εξέτασε κατά πόσον η απώλεια της μεταγραφικής ικανότητας του Nrf2 είναι αναστρέψιμη με χορήγηση LA σε ποντίκια²².

Αποδείχτηκε ότι η χορήγηση LA:

- αποκατέστησε τα επίπεδα του Nrf2
- βελτίωσε την πρόσδεση στα ARE γονίδια
- αύξησε τα επίπεδα και την δραστικότητα της GCL και
- επανέφερε την ενδοκυτταρική συγκέντρωση της GSH στα επίπεδα των νεαρών ποντικών.

Η δράση του LA κορυφώθηκε 48 ώρες μετά την απομάκρυνση του, γεγονός που παρατηρήθηκε και με την επίδραση του στην PKB/Akt και στην eNOS επιβεβαιώνοντας ότι στη σύντομη παρουσία του εντός του οργανισμού, το LA ενεργοποιεί βιοχημικά μονοπάτια τα αποτελέσματα των οποίων διαρκούν για πολύ χρόνο μετά την απομάκρυνση του από τον οργανισμό. Όπως ανέφεραν οι συγγραφείς της μελέτης, η ενισχυτική του Nrf2 δράση του LA, μάλλον ασκείται στο επίπεδο της αναστολής της Keap1 μέσω οξείδωσης κρίσιμων κυστεϊνών της, όπως έχει αναφερθεί και για τη δράση του στον υποδοχέα της ινσουλίνης.

Η επίδραση του LA στην επανενεργοποίηση του Nrf2 και στην συνεπαγόμενη ενίσχυση των αντιοξειδωτικών και αποτοξινωτικών λειτουργιών του γήρατος οργανισμού μπορεί να οδηγήσει σε νέες στρατηγικές αντιμετώπισης των λειτουργικών ελλειμμάτων και της νοσηρότητας του γήρατος. Επίσης ανοίγει νέους δρόμους στην ερμηνεία των αντιο-

ξειδωτικών μηχανισμών, καθώς γίνεται φανερό ότι μια ουσία μπορεί να αποτελεί ισχυρό αντιοξειδωτικό ενισχυτικό χωρίς να ασκεί απαραίτητα άμεση κατασταλτική δράση επί των Ενεργών Μορφών Οξυγόνου (ROS).

3.4. Μεταβολικές επιδράσεις - Μείωση αθηρωματικών βλαβών

Η έρευνα για τη διαλεύκανση των μηχανισμών που αφορούν την παθογένεση και την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρυνσης έχει δείξει ότι η πάθηση είναι κατά βάση μία χρόνια φλεγμονώδης νόσος η βιολογική έναρξη της οποίας σηματοδοτείται από την αλληλεπίδραση των κυκλοφορούντων στο πλάσμα μονοπύρηνων κυττάρων με ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, διαδικασία που καταλήγει στην συνακόλουθη μετανάστευσή των μονοπύρηνων στον υποενδοθηλιακό χώρο (έσω μέσος χιτώνας αγγειακού τοιχώματος, intima media) όπου και συμβαίνουν οι υπόλοιπες παθολογικές διαδικασίες. Η έλξη και η πρόσδεση των μονοπύρηνων στο αγγειακό ενδοθήλιο εξαρτάται από τη βιοσύνθεση ειδικών ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης (VCAM - 1 και ICAM - 1), φλεγμονογόνων κυτοκινών και χημοκινών (TNF - α , IL - 6) καθώς και της χημειοελκτικής πρωτεΐνης των μονοπύρηνων MCP - 1. Επειδή έχει διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα των συγκεκριμένων ουσιών - δεικτών φλεγμονής στο αίμα αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες αθηροσκλήρωσης και καρδιαγγειακής νόσου, η επιστημονική κοινότητα αναζητεί φαρμακευτικές στρατηγικές αναστολής της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος. Πειράματα με ανθρώπινες αρτηρίες απέδειξαν ότι το LA αναστέλλει την προσκόλληση των μονοπύρηνων στο ενδοθήλιο μέσω περιορισμού της έκφρασης των VCAM - 1, ICAM - 1 και του MCP - 1, δράση η οποία είναι δευτερογενές αποτέλεσμα καταστολής του NF - κ B. Το ερώτημα είναι κατά πόσο αυτές οι μεμονωμένες δράσεις του LA έχουν κάποιο πρακτικό αποτέλεσμα στην αναστολή της αθηρωματικής βλάβης.

Το 2008 οι Zhang et al. μελετώντας δύο ζωικά μοντέλα αθηρογένεσης διαπίστωσαν ότι το LA δρα ως ισχυρός παρεμποδιστής σχηματισμού αθηρωματικών βλαβών αναστέλλοντας την αγγειακή φλεγμονή, καταπολεμώντας την παχυσαρκία και μειώνοντας τις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων. Σημειώνεται

ότι τα αποτελέσματα που αφορούν την παχυσαρκία προέκυψαν μετά από κατά ζεύγη πειράματα (pair feeding), γεγονός που ισχυροποιεί κατά πολύ το ρόλο του LA ως ενισχυτικό του μεταβολισμού. Βρέθηκε ότι η προσθήκη LA στη διατροφή τους εμπόδισε τον σχηματισμό αθηρωματικών βλαβών (54% μείωση στα ApoE - / - ποντίκια, 39% στα ApoE/LDLR - / - ποντίκια, $p < 0,05$). Η δράση αυτή του LA συνοδεύτηκε και από πτώση του ρυθμού βιοσύνθεσης των κύριων πρωτεϊνικών μορίων που είναι υπεύθυνα για την έναρξη της αθηρωματικής βλάβης (φλεγμονή, προσκόλληση μονοπύρηνων), καθώς και του CD68, του δείκτη δηλαδή παρουσίας μακροφάγων²³.

3.5. Δράση κατά της Διαβητικής Περιφερικής Νευροπάθειας (ΔΠΝ)

Το λιποϊκό οξύ αποτελεί μία τεκμηριωμένη επιλογή αντιμετώπισης των κύριων κλινικών συμπτωμάτων της Διαβητικής Περιφερικής Νευροπάθειας ΔΠΝ. Με τον όρο Διαβητική Περιφερική Νευροπάθεια περιγράφεται μία ομάδα κλινικών συνδρόμων τα οποία είτε το καθένα από μόνο του, είτε σε συνδυασμό μεταξύ τους, προσβάλλουν διαφορετικά τμήματα του νευρικού συστήματος. Οι κύριες εκδηλώσεις της ΔΠΝ είναι ο διαξιφιστικός πόνος, το μούδιασμα, το μυρμήγκιασμα (αιμωδίες) και το αίσθημα καύσου, κυρίως στα κάτω άκρα. Ο νευροπαθητικός πόνος αποτελεί μία χρόνια, βασανιστική και δύσκολη στην αντιμετώπιση επιπλοκή του σακχαρώδη διαβήτη. Η επώδυνη ΔΠΝ προσβάλλει περίπου το 30% του διαβητικού πληθυσμού και αποτελεί την κύρια αιτία ακρωτηριασμού των κάτω άκρων μη - τραυματικής αιτιολογίας.

Το παθοβιολογικό υπόβαθρο της ΔΠΝ είναι πολυπαραγοντικό και το LA δυναμικά συμβάλλει στην αντιμετώπιση της συγκεκριμένης επιπλοκής με όλους τους μηχανισμούς που περιγράφηκαν παραπάνω, είτε ανατάσσοντας την νευρική ισχαιμία και τις συνεπαγόμενες μεταβολικές αλλοιώσεις, είτε σαρώνοντας τις ελεύθερες ρίζες και το προκύπτον οξειδωτικό στρες, είτε προλαμβάνοντας τις δομικές βλάβες που προκαλούν τα AGEs, είτε αποκαθιστώντας τις βιοχημικές ανισορροπίες που επιφέρει η ενεργοποίηση του μονοπατιού των πολυολών. Επειδή όσον αφορά την πρακτική διαχείριση της ΔΠΝ υφίσταται ένα θεραπευτικό κενό και ταυτοχρόνως ένα πιεστικό φαρμακευτικό ζητούμενο, τα ευρήματα που αφορούν τις

φαρμακολογικές δράσεις του LA στο νευροπαθητικό πόνο είναι υψίστης σημασίας για τη διαχείριση του διαβητικού ασθενή.

Ένα από τα πιο σημαντικά επιτεύγματα στην έρευνα της παθογένεσης της ΔΠΝ είναι η δυνατότητα πρόκλησης της σε πειραματόζωα με χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης, μιας ουσίας που προκαλεί όλο το παθολογικό πλέγμα του διαβήτη. Με αυτό τον τρόπο συγκρίθηκε η αιμάτωση, ο μεταβολισμός, η βιοχημεία και η ταχύτητα αγωγής των νευρών ποντικών με ΔΠΝ σε σχέση με υγιή ποντίκια και αποτιμήθηκε η επίδραση της χορήγησης LA σε αυτές τις παραμέτρους. Οι ερευνητές εστίασαν στην αιμάτωση της νευρικής ίνας, στην τροποποίηση της συγκέντρωσης οσμωτικών παραγόντων (osmolytes), στην επίδραση σε αντιοξειδωτικές ουσίες, στα ενεργειακά αποθέματα και σε ηλεκτροφυσιολογικές μετρήσεις.

Το κυριότερο εύρημα ήταν ότι ο διαβήτης προκαλεί σαφή μείωση της αιμάτωσης του ενδονευρίου, δηλαδή στο βασικότερο λειτουργικό - τροφικό επίπεδο του νεύρου, η οποία ανατάσσεται πλήρως με τη χορήγηση LA. Σημειώνεται ότι η νευρική ισχαιμία αποτελεί τον υποκείμενο παθολογικό πυρήνα όλων των εκδηλώσεων της ΔΠΝ. Ένα άλλο εύρημα, το οποίο απάδει διαφόρων άλλων *in vitro* εργαστηριακών αναφορών, ήταν ότι το LA προκαλεί αύξηση των νευρικών συγκεντρώσεων της σορβιτόλης και της φρουκτόζης ενώ ταυτόχρονα ενισχύει σημαντικά τα επίπεδα της μυοϊνσοιτόλης, μίας νευροπροστατευτικής ουσίας η συγκέντρωση της οποία συνήθως βαίνει αντίστροφα της συγκέντρωσης της σορβιτόλης και της φρουκτόζης. Η βελτίωση σχετίστηκε με κατά 30% αύξηση της λειτουργίας της αντλίας νατρίου - καλίου από το LA, η οποία αποτελεί τον κύριο ενεργειοδότη του κυττάρου. Επιπλέον διαπιστώθηκε μίας σαφής αποκατάσταση των ενεργειακών χαρακτηριστικών των μιτοχονδρίων (ενίσχυσης της οξειδωσης της NADH), η οποία όμως δεν αποτυπώθηκε σε αύξηση της μετρήσιμης συγκέντρωσης ATP, πιθανώς λόγω βελτίωσης της ενεργειοβόρας αντλίας νατρίου - καλίου. Αντίστοιχες βελτιώσεις καταγράφηκαν και για την αντιοξειδωτική κατάσταση του διαβητικού νεύρου όπου αποδείχτηκε ότι το LA αποκατέστησε τόσο τα επίπεδα της γλουταθειόνης (GSH), όσο και τον λόγο της ενεργής προς την ανενεργή (οξειδωμένη GSSG) γλουταθειόνη, ο οποίος στα διαβητικά κύτταρα είναι σα-

φώς διαταραγμένος υπέρ της οξειδωμένης μορφής. Διαπιστώθηκε ότι η δράση του LA ασκείται επιλεκτικά στις αισθητικές και όχι στις κινητικές νευρικές ίνες²⁴.

Φως στο μηχανισμό της επιλεκτικής δράσης του LA στις αισθητικές ίνες έριξε μία ομάδα ερευνητών από τα Πανεπιστήμια της Σεούλ και του Ιατρικού Πανεπιστημίου της Virginia. Οι επιστήμονες εστίασαν στους T - διαύλους των αλγοϋποδοχέων των γαγγλίων της ραχιαίας ρίζας (dorsal root ganglia) και μελέτησαν την επίδραση που έχει *in vitro* το LA στην ενεργοποίηση τους και στη συνεπακόλουθη νευρική διέγερση. Αποκαλύφθηκε ότι το LA δρα ως αντιστρεπτός αναστολέας της διεγερσιμότητας των αισθητικών νευραξόνων, τροποποιώντας τους ενεργοποιούμενους από διαφορά δυναμικού διαύλους ασβεστίου (T - channels). Επειδή το IC₅₀ της συγκεκριμένης δράσης είναι 3±1μM, δηλαδή συγκέντρωση που επιτυγχάνεται εύκολα με τις συνηθισμένες από του στόματος δόσεις LA (π.χ. 600 mg), οι υπεύθυνοι της έρευνας θεώρησαν τη συγκεκριμένη βιολογική επίπτωση ως έναν από τους πιο πιθανούς μηχανισμούς δράσης του LA σε περιπτώσεις επώδυνων νευροπαθειών, όπως π.χ. η επώδυνη διαβητική νευροπάθεια. Πέραν αυτού οι επιστήμονες απέδειξαν ότι η μειωμένη διεγερσιμότητα των T - channels περιορίζει και την πυροδότηση της νευρικής διέγερσης.

Το κατά πόσον αυτή η συνδυαστική ενέργεια επηρεάζει την ευαισθησία σε επώδυνα ερεθίσματα, αποδείχθηκε από *in vivo* πειράματα σε διαγονιδιακά ποντίκια με ανενεργούς T - υποδοχείς στα οποία εφαρμόστηκαν αλγογόνα ερεθίσματα καύσου και μηχανικής πίεσης. Βρέθηκε ότι όσα εκ των πειραματόζων είχαν λάβει LA και διατηρούσαν ενεργούς τους T - υποδοχείς, είχαν σαφώς χαμηλότερη ευαισθησία (υψηλότερο ουδό πόνου) στον πόνο σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, κάτι που δεν παρατηρήθηκε στα ποντίκια που δε διέθεταν T - υποδοχείς. Πολύ σημαντικό είναι ότι για μία ακόμα φορά αποδείχτηκε ότι η δράση του LA ασκείται μέσω τροποποίησης ενεργών κυστεϊνών: μέσω κατευθυνόμενων μεταλλαγών (site - directed mutagenesis) αποδείχθηκε ότι το LA δρα οξειδώνοντας τις -SH γειτονικών στο χώρο κυστεϊνών του εξωκυτταρικού τμήματος των T - channels, επιβεβαιώνοντας για ακόμα μία φορά ότι το LA αποτελεί ενδογενή οξειδοαναγωγικό τροποποιητή των

θιολών κρίσιμων ενζύμων καθώς και ότι η (αντι)οξειδωτική δράση είναι έννοια πολύ ευρύτερη της απλής ανάλυσης των ελευθέρων ριζών. Τα συγκεκριμένα ευρήματα αναδεικνύουν το LA ως επιλεκτικό αναλγητικό που μπορεί να έχει ευρύτερες εφαρμογές σε διαφόρων ειδών νευροπάθειες (π.χ. συμπίεστικού τύπου) κάτι που έχει επιβεβαιωθεί και κλινικά²⁵.

4. Κλινικές μελέτες

4.1. Αυχενικό σύνδρομο

Το αυχενικό σύνδρομο αποτελεί μία κοινή δυσλειτουργία της αυχενικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης η οποία συνήθως λαμβάνει χρόνια μορφή και εκδηλώνεται με αυχεναλγία, πονοκέφαλο, ζάλη, πόνο στα άνω άκρα και στους ώμους (αυχενική ριζοπάθεια). Πρόκειται για μία βασανιστική ομάδα συμπτωμάτων που μαζί με την οσφυαλγία αποτελούν σημεία κατατεθέντα του σύγχρονου πολιτισμού. Συνήθως αντιμετωπίζεται με χρήση αντιφλεγμονωδών – αναλγητικών ή/και με φυσιοθεραπεία. Επειδή η νόσος είναι συμπίεστικού χαρακτήρα και φέρει τα χαρακτηριστικά του νευροπαθητικού πόνου, έχει προταθεί η αντιμετώπιση της με χρήση λιποϊκού οξέος.

Το 2014 σε μία τυχαιοποιημένη ανοιχτή κλινική δοκιμή συγκρίθηκε η καθημερινή χρήση 600 mg LA μαζί με φυσιοθεραπεία έναντι μόνο της φυσιοθεραπείας. Συμμετείχαν 96 άτομα, στην πλειονότητα τους γυναίκες. Το κύριο σύμπτωμα των πασχόντων ήταν η αυχενοβραχιόνιος νευραλγία και η φυσιοθεραπευτική προσέγγιση περιελάμβανε πολλαπλές παρεμβάσεις, όπως διαδυναμικά ρεύματα, λείζερ, μασάζ, λειτουργική αποκατάσταση κλπ. Η παρέμβαση διήρκεσε 60 ημέρες και τα αποτελέσματα εκτιμήθηκαν με την αναλογική κλίμακα πόνου VAS καθώς και με το εξειδικευμένο για το αυχενικό σύνδρομο ερωτηματολόγιο mNPQ με το οποίο εκτιμάται η γενικότερη επίπτωση των θεραπευτικών παρεμβάσεων στην αποκατάσταση των καθημερινών λειτουργιών του πάσχοντος και στην ποιότητα ζωής. Μετά από 60 ημέρες, στην ομάδα της φυσιοθεραπείας καταγράφηκε κατά μ.ο. πόνος αναπαύσεως έντασης 39 βαθμών στην κλίμακα VAS έναντι 27 της ομάδας LA + φυσιοθεραπεία (p μεταξύ ομάδων $< 0,005$). Τα αντίστοιχα νούμερα για πόνο κατά την κίνηση ήταν κατά μ.ο. 44 και 31 ($p < 0,01$ υπέρ του LA)²⁶.

4.2. Οσφυαλγία

Με τον όρο οσφυαλγία περιγράφεται μία σειρά επώδυνων συμπτωμάτων της μέσης ή/και των ποδιών (ισχυαλγία) προκαλούμενα από βλάβη της σπονδυλικής στήλης που οφείλεται συνήθως στην πίεση νευρικών ριζών είτε από εγκλωβισμό είτε από κήλη μεσοσπονδύλιου δίσκου (κήλη δίσκου οσφύος). Για την αντιμετώπιση της έχει χρησιμοποιηθεί μία πλειάδα θεραπευτικών παρεμβάσεων με φτωχά συνήθως αποτελέσματα. Επειδή η παθοφυσιολογική βάση της νόσου είναι συμπίεστικού χαρακτήρα, το LA αποτελεί μια δόκιμη παρέμβαση η αποτελεσματικότητα της οποίας έχει διερευνηθεί σε 3 κλινικές δοκιμές.

Το 2008 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μίας διπλής τυφλής κλινικής δοκιμής σύγκρισης χορήγησης 1180 mg ακετυλοκαρνιτίνης (ALC) ανά ημέρα έναντι 600 mg LA ανά ημέρα, για 60 ημέρες σε 64 πάσχοντες από μετρία έντασης οσφυαλγία λόγω δισκοκήλης. Το πρωταρχικό καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η αλλαγή στην κλινική συμπτωματολογία όπως αυτή εκτιμάται με βάση τις ειδικές κλίμακες Βαθμολογία Νευροπαθητικής Βλάβης για τα Κάτω Άκρα (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs, NIS - LL) και Νευροπαθητικά Συμπτώματα και Αλλαγή για τα Κάτω Άκρα (Neuropathy Symptoms and Change in the Lower Limbs, NSC - LL) καθώς και τη γενική κλίμακα Βαθμολογία Συνολικών Συμπτωμάτων (Total Symptom Score, TSS). Ως δευτερέων σημείο επιλέχθηκαν ηλεκτρομυογραφικές μετρήσεις. Αποδείχθηκε ότι και οι δύο ουσίες βελτίωσαν τα συμπτώματα σε σημαντικό βαθμό, όμως το LA υπερείχε και στις τρεις βαθμολογίες (NIS - LL - 2.52 $\pm$ 1.50 vs - 1.48 $\pm$ 1.37, για το LA και το ALC αντιστοίχως, NSC - LL - 2.16 $\pm$ 1.37 vs 1.42 $\pm$ 1.37, αντιστοίχως και TSS - 1.90 $\pm$ 1.08 vs 1.18 $\pm$ 1.01, όλα με $p < 0.05$). Η ανωτερότητα του LA φάνηκε και από το γεγονός ότι μόνο το 45,5% των λαμβανόντων LA αναγκάστηκε να καταφύγει σε αναλγητικά, τη στιγμή που το αντίστοιχο νούμερο για όσους λάμβαναν ALC ανήλθε στο 71% ($p < 0.05$). Δεν αναφέρθηκαν παρενέργειες²⁷.

Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρθηκαν και σε μία μελέτη παρατήρησης στην οποία συμμετείχαν 203 πάσχοντες από οσφυαλγία (χρόνια επώδυνη συμπίεστική ριζίτιδα) στους οποίους εφαρμόζονταν πρόγραμμα φυσικής αποκατάστασης. Στους 102 εξ

αυτών χορήγησαν επιπρόσθετα για διάστημα 6 εβδομάδων 600 mg/d LA (μαζί με 360 mg γ - λινολενικό οξύ). Η εκτίμηση της πορείας της νόσου βασίστηκε στη μέτρηση μίας σωρείας βαθμολογιών, όπως VAS score, SF - 36, Oswestry Low Back Pain Disability Questionnaire, Aberdeen Back Pain Scale (ABPS), Revised Leeds Disability Questionnaire (LDQ), Roland and Morris Disability Questionnaire. Καταγράφηκαν σημαντικές βελτιώσεις τόσο στα νευροπαθητικά συμπτώματα της παραισθησίας (διαταραχή αισθητικότητας με εκδηλώσεις μούδιασματος και μυρμηγκιάσματος) όσο και του διαξιφιστικού πόνου και του καυστικού πόνου. Επίσης αναφέρθηκε και σημαντική βελτίωση σε δείκτες Ποιότητας Ζωής²⁸.

Σε μία άλλη προοπτική μη - τυχαιοποιημένη ανοικτού τύπου κλινική μελέτη στρατολογήθηκαν 98 πάσχοντες από οσφυαλγία με ή χωρίς ενδείξεις ριζίτιδας. Όλοι τους συμμετείχαν σε ένα πρόγραμμα αποκατάστασης με τροποποιημένα ηλεκτρομαγνητικά πεδία και λάμβαναν ταυτοχρόνως επί 60 ημέρες 600 mg/d LA μαζί με 140 mg SOD (υπεροξειδική δισμουτάση). Η πρόοδος στην ανακούφιση των συμπτωμάτων εκτιμήθηκε με το ερωτηματολόγιο λειτουργικής αναπηρίας Roland Morris Disability Questionnaire (RMDQ), με την κλίμακα μέτρησης πόνου Pain Rating Scale και με μέτρηση των ποσοτήτων αναλγητικών στα οποία αναγκάζονταν να καταφύγουν οι ασθενείς για να ανακουφιστούν από τον πόνο τους. Ενώ στην αρχή της μελέτης το 73,5% των συμμετεχόντων λάμβαναν μη στεροειδή αναλγητικά για την αντιμετώπιση του πόνου, μετά από 60 ημέρες λήψης LA το ποσοστό αυτό έπεσε στο εντυπωσιακό 8% ($p < 0,01$). Επίσης, μετά από 40 ημέρες καταγράφηκε στατιστικά και κλινικά σημαντική βελτίωση τόσο στην αυτοαναφερόμενη αποκατάσταση της λειτουργικότητας (δυνατότητα χρήσης σκάλας, σηκώματος από πολυθρόνα, από καρέκλα καθώς και στις ώρες ύπνου) όσο και στα επίπεδα πόνου ($p < 0,05$)²⁹.

4.3.Σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα

Το σύνδρομο του καρπιαίου σωλήνα αποτελεί τη συχνότερη περιφερική μονονευροπάθεια και χαρακτηρίζεται από πόνο, παραισθησία και μούδιασμα που προκαλούνται από τη συμπίεση του μέσου νεύρου στην περιοχή του καρπού. Οι φαρμακευτικές επιλογές είναι συμπτωματικές και ατελέσφορες (π.χ.

στεροειδή και μη - στεροειδή αναλγητικά) και οι πάσχοντες συνήθως αναγκάζονται να υποστούν περιορισμούς στις καθημερινές τους κινήσεις σε επίπεδο σωματικής λειτουργικότητας και ποιότητας ζωής. Παρά την καταφυγή σε λύσεις αμφιβόλου ποιότητας (π.χ. βελονισμός), η μόνη λύση φαίνεται να είναι η χειρουργική επέμβαση η οποία όμως λόγω προβλημάτων αποτελεσματικότητας και ασφάλειας δεν επιχειρείται παρά μόνο στις πιο σοβαρές περιπτώσεις. Επειδή η παθοφυσιολογία της νόσου είναι συμπιεστικού νευροπαθητικού χαρακτήρα διάφοροι ερευνητές προσπάθησαν ανεπιτυχώς να αντιμετωπίσουν το σύνδρομο με ουσίες που στοχεύουν στην αποκατάσταση αυτής καθεαυτής της νευρικής βλάβης και όχι των περιφερικών συμπτωμάτων της (π.χ. φλεγμονή), όπως π.χ. βιταμίνες του συμπλέγματος B. Το LA προσφέρει μία νέα φαρμακευτική επιλογή και ίσως αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο αιτιολογικής αντιμετώπισης της υποκείμενης νευροεκφύλισης, η οποία χαρακτηρίζεται από έντονη οξειδωτική βλάβη και περιορισμό της αιματικής ροής, χαρακτηριστικά που έρευνες έχουν αποδείξει ότι αμφότερα αντιμετωπίζονται με χορήγηση LA.

Το 2009 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μίας ανοιχτής Ιταλικής μελέτης στην οποία συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα ενός συνδυασμού 600mg LA + 360mg γ - λινολενικού οξέος με ένα πολυβιταμινούχο σκεύασμα βιταμίνης B. Η διάρκεια της χορήγησης ήταν 90 ημέρες και συμμετείχαν 112 ασθενείς. Όπως φάνηκε από τις απαντήσεις στο ερωτηματολόγιο BCTQ, το LA, σε σχέση με τις βιταμίνες B, υπερτέρησε τόσο στην ανακούφιση από το πόνο όσο και στην αποκατάσταση της λειτουργικότητας των ασθενών ($p < 0,001$). Εξίσου ενδιαφέροντα ήταν τα στοιχεία που αφορούσαν το ποσοστό των ασθενών που ανέφεραν συμπτώματα πόνου μετά από 90 ημέρες αγωγής: διαπιστώθηκε μείωση 56% στην ομάδα του LA, έναντι 19,5% στην ομάδα της βιταμίνης B ($p < 0,001$). Το πιο ενδιαφέρον στοιχείο όσον αφορά τη μελλοντική εξέλιξη της νόσου ήταν τα ποσοστά των ασθενών που πληρούσαν τα κριτήρια χειρουργικής επέμβασης πριν και μετά τη χορήγηση LA. Βρέθηκε ότι μετά από 90 ημέρες αγωγής με LA το ποσοστό αυτό μειώθηκε από 76,8 σε 50% αναδεικνύοντας το LA σε πιθανή αγωγή επιλογής στην συγκεκριμένη ομάδα ασθενών³⁰.

Πίνακας 1. Διπλές τυφλές κλινικές δοκιμές του λιποϊκού οξέος στη διαβητική νευροπάθεια

Δοκιμή	Αγωγή/ Διάρκεια	n	Κλίμακα αξιολόγησης (1ο καταληκτικό σημείο)	Αποτέλεσμα	2ο καταληκτικό σημείο	Αποτέλεσμα 2	Άλλη αξιολόγηση	Αποτέλεσμα 3
ORPIL [35]	1800 vs PI 3w oral	22	TSS	ALA1800:- 3,75 PI: -1,9 (p<0,02)	HPAL	p<0,07	NDS	p<0,025
ALADIN [32]	100 vs 600 vs 1200 vs PI 3 w iv	260	Symptoms (pain, burning, paresthesia, numbness)	ALA 600:-5 PI: -2,6 (p<0,001)	HPAL	p<0,01	Response Rate 30%	82,5 vs 57,6
ALADIN II	600 vs 1200 vs PI 5d iv+2y oral	65	NDS	NS	electro- physiological	p<0,05		
SYDNEY [34]	600 vs PI 3w iv (5d/w)	120	TSS	ALA 600:-5,7 PI: -1,8 (p<0,001 for all items))	NIS NSS GA	S (NIS) S(NSS)		
SYDNEY 2 [36]	600 vs 1200 vs 1800 vs PI 5w oral only	166	TSS	ALA 600: -4,9 ALA1200: -4,5 ALA1800: -4,7 PI: -2,9 all p<0,05) The difference arose from pain and burning	NIS NSS GA NCS	S(NIS)LL S (NSS) S(GA)	Response Rate 50%	ALA600 62%vs PI26% (p<0,05)
NATHAN 1 [38]	600 vs PI 4y oral only	460	NIS-LL+7	NS	NIS NIS-LL wNSS NCS	S (NIS)	Response Rate in NIS or NIS- LL >2p	p=0,013 & 0,025

ALA=α-lipoic acid, GA=Global Assessment, HPAL=Hamburg Pain Adjective List, LL=lower limbs (Κάτω άκρα), PI=placebo, NDS=Neuropathy Disability Score, NIS=Neuropathy Impairment Score, NS=Non Significant, NSS=Neuropathy Symptoms Score, TSS=Total Symptom Score

4.4.Διαβητική νευροπάθεια

20% με 24% των ασθενών με διαβήτη πάσχουν από διαβητική νευροπάθεια. Εκτιμάται επίσης ότι το 10% έως 20% των ασθενών με διαβητική νευροπάθεια έχουν αρκετά έντονο πόνο ώστε να είναι απαραίτητη μία θεραπευτική αγωγή. Τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται στα κάτω άκρα και τα κυριότερα εξ αυτών είναι:

- Αίσθημα καύσου
- Διαξιφιστικός πόνος

- Υπερευαίσθητες περιοχές του δέρματος
- Μυρμηγκιάσματα
- Μουδιάσματα

Πέραν αυτών των συμπτωμάτων, ο ειδικός γιατρός θα αποτιμήσει την παρουσία και την έκταση νευροπαθητικών ελλειμμάτων με μία σειρά ειδικών ελέγχων όπως, απώλεια ή μείωση τενόντιων αντανεκλαστικών, μείωση αισθήσεων δόνησης, αφής, θερμότητας, ιδιοδεκτικότητας και βελόνης (pin - prick). Ο καλύτερος τρόπος πρόληψης ή ακόμα και

αντιμετώπισης των επιπλοκών της χρόνιας περιφερικής διαβητικής νευροπάθειας είναι η συνεπής και συνεχής διατήρηση νορμογλυκαιμίας. Παρόλα αυτά, στην πλειονότητα των διαβητικών, ούτε η αντιδιαβητική αγωγή ούτε η κατάλληλη διατροφή επαρκούν για να κρατηθεί το σάκχαρο σε φυσιολογικά επίπεδα. Οι υπάρχουσες φαρμακολογικές παρεμβάσεις όπως τα ισχυρά αναλγητικά, τα τρικυκλικά αντικαταθληπτικά ή φάρμακα τύπου γκαμπαπεντίνης, παραμένουν ατελέσφορες επειδή είτε απλώς αντιμετωπίζουν ατελώς τα συμπτώματα ή /και εμφανίζουν παρενέργειες που επιδεινώνουν ακόμα περισσότερο τη διαβητική παθολογία (π.χ. παχυσαρκία, ή καρδιαγγειακές επιπλοκές). Έτσι, τα τελευταία χρόνια έχουν εισαχθεί αγωγές που στοχεύουν στην υποκείμενη παθοφυσιολογία της διαβητικής νευροπάθειας. Μία τέτοια τροποποιητική της νόσου αγωγή είναι το λιποϊκό οξύ το οποίο η Natural Standard, ο εγκυρότερος και αυστηρότερος οργανισμός αποτίμησης συμπληρωμάτων διατροφής και φυτοθεραπευτικών των ΗΠΑ, το βαθμολόγησε για τη διαβητική νευροπάθεια με Α, δηλαδή με την υψηλότερη δυνατή βαθμολογία, η οποία αντιστοιχεί σε «ισχυρή θετική επιστημονική τεκμηρίωση»³¹. Η χρήση του LA υποστηρίζεται από αρκετές διπλές τυφλές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές καθώς και από μελέτες παρατήρησης της αποτελεσματικότητας του στην κοινότητα. Στον **Πίνακα 1** παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα των κυριότερων τυχαιοποιημένων διπλών τυφλών κλινικών δοκιμών που αφορούν την χρήση του LA στη διαβητική νευροπάθεια, είτε από το στόμα είτε ενδοφλέβια.

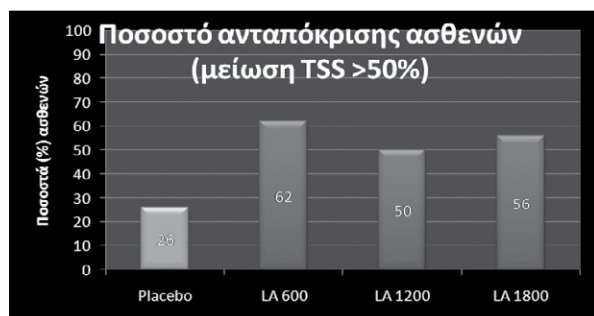
Επειδή η διαβητική νευροπάθεια αποτελεί την κατεξοχήν θεραπευτική εφαρμογή του LA και επειδή η ιν μορφή δεν κυκλοφορεί στην Ελλάδα, παρακάτω θα παρουσιαστούν πιο αναλυτικά τα στοιχεία των κλινικών μελετών που αφορούν την από του στόματος χρήση του LA σε αυτήν την πάθηση.

Η πρώτη σχετική ποιοτική διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή ήταν η ORPIL (ORal Pilot Study). Σε αυτήν συμμετείχαν 24 διαβητικοί τύπου II οι οποίοι βρισκόνταν σε αγωγή με αντιδιαβητικά ή/και ινσουλίνη και στην έναρξη της μελέτης έφεραν σημεία μέτριας προς σοβαρής διαβητικής νευροπάθειας - Total Symptom Score (TSS, Βαθμολογία Συνολικών Συμπτωμάτων) γραμμής βάσης ~8 - με νευρολο-

γικά ελλείμματα όπως απώλεια ή μείωση τενόντιων αντανάκλαστικών, μείωση αισθήσεων δόνησης, αφής, θερμότητας, ιδιοδεκτικότητας, βελόνης (pin - prick) και τα κλασσικά συμπτώματα νευροπάθειας: πόνος, αίσθηση καύσου, παραισθησία, μούδιασμα. Οι μισοί εξ αυτών εντάχτηκαν στην ομάδα του LA και οι άλλοι μισοί στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Η δόση ήταν 1800 mg LA (600 mg X 3) και η διάρκεια της μελέτης 3 εβδομάδες. Το πρωταρχικό τελικό σημείο ήταν η αλλαγή στην κλίμακα συμπτωμάτων TSS στα κάτω άκρα. Η πρόοδος της νόσου εκτιμήθηκε και με τη χρήση των βαθμολογημένων κλιμάκων HPAL (Hamburg Pain Adjective List) και NDS (Neuropathy Disability Score) οι οποίες μετράνε νευροπαθητικά συμπτώματα και νευροπαθητικά ελλείμματα αντίστοιχα.

Μετά από 3 εβδομάδες, η ομάδα που λάμβανε LA κατέγραψε σημαντική υποχώρηση των συμπτωμάτων στην κλίμακα TSS σε σχέση με την ομάδα του πλασέμπο, τόσο στατιστικώς όσο και κλινικώς ($-3,75 \pm 1,88$ vs $-1,94 \pm 1,50$, $p=0,021$). Η διαφορά οδηγήθηκε κυρίως από βελτιώσεις στα συμπτώματα του πόνου. Η βελτίωση ήταν σημαντική και στην κλίμακα NDS ($p=0,025$), όχι όμως και στην HPAL παρότι η βελτίωση ήταν 60% στο LA έναντι 29% στο πλασέμπο ($p=0,072$). Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις ανεπιθύμητες ενέργειες μεταξύ των δύο σκελών της δοκιμής. Το LA δεν επηρέασε τις τιμές των ηπατικών ενζύμων, των λευκοκυττάρων, της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη, των θρομβοκυττάρων, τριγλυκεριδίων, χοληστερίνης, ουρικού οξέος, κρεατινίνης και HbA_{1c}³⁵.

Τα αποτελέσματα της ORPIL ήταν εντυπωσιακά επειδή έγιναν ορατά μέσα διάστημα μόνο 3 εβδομάδων και μελετώντας ένα δείγμα μόνο 24 ατόμων και αποτέλεσαν το έναυσμα για την μεγάλη κλινική δοκιμή SYDNEY 2. Η δοκιμή αυτή ήταν μία πολυκεντρική διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη προϊόν συνεργασίας του Γερμανικού Κέντρου Διαβήτη του Leibniz Institute στο Πανεπιστήμιο Heinrich Heine του Ντίσελτορφ, της Ρωσικής Ιατρικής Ακαδημίας της Ρωσίας και του Τμήματος Νευρολογίας της Mayo Clinic του Rochester των ΗΠΑ. Στη δοκιμή συμμετείχαν 181 διαβητικοί πάσχοντες από μέτριας προς σοβαρής μορφής διαβητική νευροπάθεια, οι οποίοι χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες που η κάθε μία λάμβανε επί 5 εβδομάδες είτε 600 mg LA ημερησίως ($n=45$), είτε 1200



Σχήμα 3: Ποσοστά ανταπόκρισης στη θεραπεία ανά ομάδα φαρμάκου

mg LA ημερησίως (n= 47), είτε 1800 mg LA ημερησίως (n= 46), είτε πλασέμπο (n=43). Οι συμμετέχοντες βρίσκονταν σε αγωγή με αντιδιαβητικά ή/και ινσουλίνη, έπασχαν από διαβητική νευροπάθεια επί κατά μέσο όρο 5 χρόνια και στην έναρξη της μελέτης έφεραν σημεία μέτριας προς σοβαρής διαβητικής νευροπάθειας (στάδιο νόσου κατά Dyck 2a, TSS γραμμής βάσης ~9) με νευρολογικά ελλείμματα όπως απώλεια ή μείωση αίσθησης τσιμπήματος βελόνης (pin - prick) και τα κλασσικά συμπτώματα νευροπάθειας: πόνος, αίσθηση καύσου, παραισθησία, μούδιασμα.

Το πρωταρχικό τελικό σημείο ήταν η αλλαγή στην κλίμακα συμπτωμάτων TSS. Τα αποτελέσματα εκτιμήθηκαν και με την Κλίμακα Νευροπαθητικής Βλάβης (NIS, Neuropathy Impairment Score) η οποία προκύπτει από μετρήσεις της μυϊκής δύναμης, των αντανακλαστικών και της αισθητικής λειτουργικότητας (νευροπαθητικά ελλείμματα) των άκρων. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν μία σημαντική μείωση της συνολικής βαθμολογίας TSS και των υποβαθμολογιών για τον διαξιφιστικό πόνο και την αίσθηση καψίματος για όλες τις συγκεντρώσεις του LA σε σχέση με το πλασέμπο (π.χ. για το LA600 vs placebo - $4,85 \pm 3,03$ vs $-2,92 \pm 3,18$, $p < 0,05$). Δεν καταγράφηκαν διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων που λάμβαναν LA, υποδεικνύοντας ότι η βελτίωση των συμπτωμάτων είναι σημαντική αλλά όχι δοσοεξαρτώμενη στις συγκεντρώσεις μεταξύ 600 και 1800 mg.

Σημαντική ήταν και η μείωση της υποβαθμολογία της κλίμακα NIS που αφορά την αισθητική λειτουργικότητα των κάτω άκρων μεταξύ της ομάδας που λάμβανε 600 mg LA και της ομάδας του εικονικού φαρμάκου (placebo). Όσον αφορά το ποσοστό

ανταπόκρισης (οριζόμενη ως το ποσοστό των ασθενών που κατέγραψε μείωση του TSS > 50%), αυτό ήταν 62% για την ομάδα των 600 mg LA, 50% για την ομάδα των 1200 mg LA, 56% για την ομάδα των 1800 mg LA και 26% για την ομάδα του placebo ($p < 0,05$) καταδεικνύοντας την υψηλή αποτελεσματικότητα της φαρμακευτικής αγωγής, κάτι που αποδείχθηκε και με το NTT (Numbers Needed to Treat) που ήταν 2,7 (δηλαδή για κάθε 2,7 χρήστες LA, ο ένας θα ανακουφιστεί από τα συμπτώματα της ΔΠΝ) (Σχήμα 3).

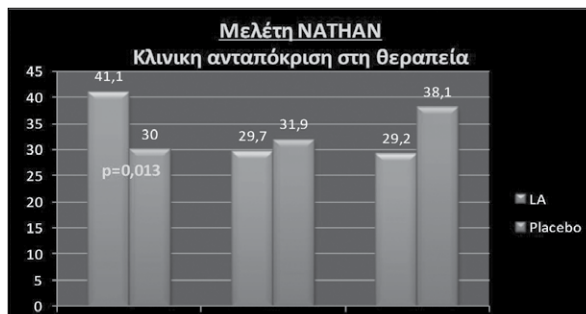
Όσον αφορά τις παρενέργειες καταγράφηκε αύξηση των περιστατικών ναυτίας, ζάλης και εμέτου στις ομάδες των 1200 και 1800 mg LA ($p < 0,05$) σε σχέση με την ομάδα των 600 mg και του placebo, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στο ότι το LA χορηγήθηκε σε μονοδοσικό σχήμα και όχι σε τριδοσικό, όπως συνέβη π.χ. στην κλινική δοκιμή ORPIL. Λαμβανομένου υπόψη ότι στην περιοχή 600 - 1800 mg η αποτελεσματικότητα του LA δε φάνηκε να είναι δοσοεξαρτώμενη και ότι οι παρενέργειες στην ομάδα των 600 mg δε διέφεραν από αυτές του placebo, οι υπεύθυνοι της έρευνας κατέληξαν ότι η βέλτιστη σχέση αποτελεσματικότητας/ παρενέργειες επιτυγχάνεται με τη δόση των 600 mg³⁶.

Το 2010 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μίας άλλης διπλής τυφλής τυχαιοποιημένης κλινικής μελέτης στην οποία συμμετείχαν 236 διαβητικοί διαγνωσμένοι με διαβητική νευροπάθεια. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν είτε σε ημερήσια λήψη 1800 mg LA (n = 117) είτε σε εικονικό φάρμακο (n = 119), επί 12 εβδομάδες. Η κύρια έκβαση ορίστηκε ως η αλλαγή στο Συνολικό Δείκτη Συμπτωμάτων (TSS, Total Symptom Score), ένας δείκτης που όπως έχει αναφερθεί αποτιμά την ένταση και τη συχνότητα εμφάνισης των κύριων συμπτωμάτων της διαβητικής νευροπάθειας, δηλαδή αίσθημα καύσου, πόνος, μούδιασμα και παραισθησία. Δευτερευόντως μετρήθηκαν η ταχύτητα αγωγικότητας της νευρικής ώσης και η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA_{1c}). Διαπιστώθηκε ότι εντός 12 εβδομάδων, το TSS όσων λάμβαναν LA μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με όσους λάμβαναν πλασέμπο ($-2,6 \pm 2,3$ vs $-0,7 \pm 1,4$, $p < 0,05$). Η βελτίωση αφορούσε όλους τους επιμέρους δείκτες του TSS, δηλαδή την αίσθηση καύσου, τον πόνο, το μυρμήγκιασμα και το μούδιασμα. Ταυτόχρονα, το 73% των ασθενών της ομάδας του LA εμφάνισε σημαντική βελτίωση (οριζόμενη ως μείωση του TSS σε ποσοστό > 50%), ένα-

ντι 18% των ασθενών που λάμβαναν εικονικό φάρμακο ($p < 0,0001$). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το εύρημα της μείωσης της HbA_{1c} στην ομάδα του LA ($6,8 \pm 1,1$ vs $7,0 \pm 1,2$, $p=0,045$). Δεν καταγράφηκε κάποια στατιστικά σημαντική βελτίωση στην ταχύτητα της νευρικής αγωγής. Όσον αφορά τις παρενέργειες, περισσότεροι ασθενείς (25,4%) που λάμβαναν LA εμφάνισαν αίσθημα καψίματος μεταξύ φάρυγγα και στομάχου, φαγούρα και γαστρεντερικές διαταραχές σε σχέση με όσους λάμβαναν πλασέμπο (11,8%). Οι παρενέργειες αυτές δεν ήταν σοβαρές, γεγονός που αντανακλάται από το ποσοστό πρόωρης διακοπής της αγωγής (dropout rate) το οποίο ήταν σχεδόν ίδιο και στις δύο ομάδες (11,4% vs 10,34%)³⁷.

Η πιο πρόσφατη δοκιμή ήταν η NATHAN (Neurological Assessment of THioctic Acid in diabetic Neuropathy) η οποία, σε αντίθεση με τις προηγούμενες μελέτες που επικεντρώθηκαν στη βελτίωση εγκατεστημένων νευροπαθητικών συμπτωμάτων, εστίασε στην πρόληψη της επιδείνωσης ουσιαστικά ασυμπτωματικών ασθενών. Για αυτόν το λόγο διήρκεσε 4 χρόνια, όσο δηλαδή καμία άλλη μελέτη αποτίμησης φαρμακευτικής αγωγής για διαβητική νευροπάθεια. Συμμετείχαν 460 διαβητικοί πάσχοντες από ελαφριάς μορφής διαβητική νευροπάθεια (TSS ~ 2,5. Υπενθυμίζεται ότι στις προηγούμενες διπλές τυφλές κλινικές δοκιμές το TSS των συμμετεχόντων ήταν ≥ 8). Επειδή οι ασθενείς ήταν ουσιαστικά ασυμπτωματικοί, οι υπεύθυνοι της έρευνας δε χρησιμοποίησαν την κλίμακα TSS αλλά επέλεξαν ως τελικό σημείο αποτίμησης έναν σύνθετο δείκτη (NIS - LL+7) αποτελούμενο από το NIS - LL (πρόκειται για την κλίμακα NIS που περιγράφεται στη δοκιμή SYDNEY 2, προσαρμοσμένη για τα κάτω άκρα) συν 7 τεστ νευρικής αγωγιμότητας για κινητικά νεύρα, για αισθητικά νεύρα και για νεύρα του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Δευτερευόντως αποτιμήθηκαν οι δείκτες NIS και NIS - LL (χωρίς την προσθήκη των 7 τεστ νευρικής αγωγιμότητας) καθώς και η κλινικώς ουσιαστική ανταπόκριση η οποία ορίστηκε ως ελάττωση της βαθμολογίας NIS ή NIS - LL ≥ 2 βαθμών.

Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, αυτή του ενεργού φαρμάκου (600 mg LA ημερησίως επί 4 χρόνια) και αυτή του πλασέμπο. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μελέτη ήταν σχεδιασμένη για να ανιχνεύσει την έλλειψη επιδείνωσης της νόσου στους



Σχήμα 4: Ποσοστά συμμετεχόντων που βελτιώθηκαν, έμειναν στάσιμοι ή επιδεινώθηκαν μετά από αγωγή με LA και placebo

λαμβάνοντες LA, όμως μετά από 4 χρόνια διαπιστώθηκε ότι η νόσος δεν προχώρησε ακόμα και σε όσους λάμβαναν εικονικό φάρμακο! Αυτό συνέβη επειδή αφενός οι συμμετέχοντες βρίσκονταν σε τόσο καλά ελεγχόμενο κλινικό περιβάλλον που τελικά κατάφεραν στο τέλος της κλινικής μελέτης να έχουν καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο από ότι στην έναρξη (χαρακτηριστικό είναι ότι η HbA_{1c} μειώθηκε και στα δύο σκέλη της δοκιμής σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σχέση με την γραμμή εκκίνησης) και αφετέρου επειδή ίσως η κλίμακα NIS - LL+7 δεν ήταν ικανή να συλλάβει κλινικώς σημαντικές αλλαγές λόγω συνυπολογισμού και μετρήσεων ηλεκτροφυσιολογικών χαρακτηριστικών (νευρικής αγωγιμότητας κλπ).

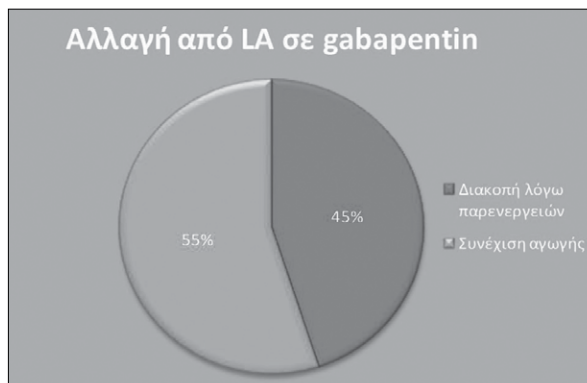
Παρόλα αυτά, ακόμα και υπ' αυτές τις συνθήκες, στην ομάδα του LA καταγράφηκαν κλινικά σημαντικές ανταποκρίσεις στους δείκτες NIS και NIS - LL, σε σχέση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου ($-0,68$ vs $+0,61$ $p=0,028$ και $-0,34$ vs $0,43$ $p=0,0505$). Στην ανάλυση ανταπόκρισης διαπιστώθηκε ότι μετά από 4 χρόνια το ποσοστό αυτών που εμφάνισαν σημαντική κλινική βελτίωση ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένο σε όσους λάμβαναν LA σε σχέση με όσους λάμβαναν εικονικό φάρμακο. Αντίθετα το ποσοστό όσων εμφάνισαν κλινική επιδείνωση ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένο σε όσους λάμβαναν εικονικό φάρμακο σε σχέση με όσους λάμβαναν LA (**Σχήμα 4**). Η ικανότητα του LA να παρέχει βελτίωση επιπρόσθετα και ανεξάρτητα της προστασίας που προσφέρει ο γλυκαιμικός έλεγχος, αποδεικνύει το ρόλο που μπορεί να παίζει στη διαχείριση της διαβητικής νευροπάθειας.

Όσον αφορά την ασφάλεια, η επί τέσσερα χρόνια ημερήσια χορήγηση 600 mg LA ήταν καλώς ανεκτή, με την συνολική αξιολόγηση ανεκτικότητας εκ μέρους τόσο των ασθενών όσο και των ερευνητών να μην εμφανίζει διαφορές ανάμεσα στις ομάδες του LA και του εικονικού φαρμάκου³⁸.

Πέραν των μεμονωμένων κλινικών δοκιμών, η αποτελεσματικότητα του LA στην αντιμετώπιση του νευροπαθητικού πόνου έχει εκτιμηθεί και με μετα-ανάλυσεις, δηλαδή μέσω στατιστικής ανάλυσης που συνενώνει όλα τα ευρήματα των ανεξάρτητων μεμονωμένων τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών. Η ανάλυση των Mijnhout et al. διαπίστωσε ότι η συγκεντρωτική τυποποιημένη μέση διαφορά στη βαθμολογία TSS μεταξύ p.o. LA και εικονικού φαρμάκου που προέκυψε από τις τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές υψηλής μεθοδολογικής ποιότητας (επίπεδο 1b σύμφωνα με το Oxford Centre of Evidence - based Medicine), εκτιμήθηκε στο -1.78 (CI: - 2.45 έως -1.10, $p = 0.00001$), πιστοποιώντας τον ωφέλιμο ρόλο που μπορεί να παίξει το LA στην αντιμετώπιση της συμπτωματικής διαβητικής νευροπάθειας³⁹.

Οι τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες διεξάγονται υπό ιδανικές συνθήκες όπου η επιλογή των ασθενών και η αυστηρή ιατρική επίβλεψη διασφαλίζουν υψηλή ομοιογένεια, έλλειψη συνοσηρότητας και υψηλή συμμόρφωση στις αγωγές. Αυτές οι συνθήκες μπορεί να είναι ουσιαστικές για την εξαγωγή αντικειμενικών συμπερασμάτων αποτελεσματικότητας και ασφάλειας όμως συνήθως δεν ανταποκρίνονται στις πραγματικές συνθήκες υπό τις οποίες θα χρησιμοποιηθεί ένα φάρμακο στην κοινότητα και οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν κατά κρίσιμο τρόπο την επίτευξη ή όχι θεραπευτικού αποτελέσματος. Για αυτούς τους λόγους, οι τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές πρέπει να συμπληρώνονται και από μελέτες παρατήρησης, κατά τις οποίες αποτιμάται η έκβαση μίας αγωγής στον γενικό πληθυσμό.

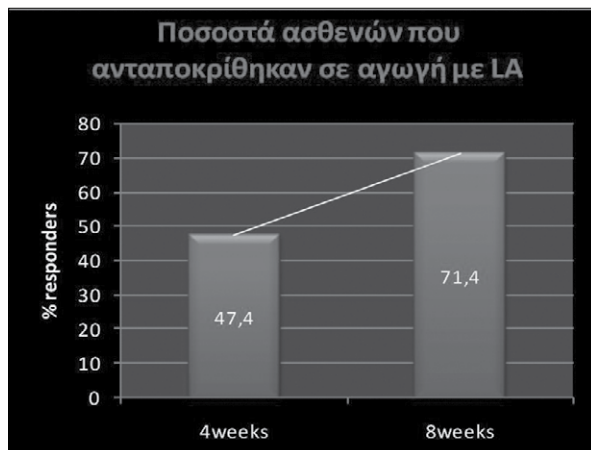
Το 2009 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μίας Γερμανικής αναδρομικής μελέτης παρατήρησης 443 ασθενών με διαβητική νευροπάθεια, η οποία αποτίμησε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της αλλαγής από θεραπεία με λιποϊκό οξύ σε θεραπεία με γκαμπαπεντίνη, ένα από τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα φάρμακα για τη νόσο. Τα συμπτώματα (πόνος, κάψιμο, μούδιασμα, παραισθησία) προσδιορίστηκαν με την



Σχήμα 5: Αποτελέσματα αλλαγής αγωγής πασχόντων από διαβητική νευροπάθεια, από 600mg LA σε 1200 - 2400 γκαμπαπεντίνη

κλίμακα NSS (Neuropathy Symptom Score) και τα ελλείμματα (π.χ. αισθητικές διαταραχές) με την κλίμακα NDS (Neuropathy Disability Score). Οι 443 ασθενείς βρίσκονταν υπό αγωγή με 600 mg LA επί 5 χρόνια και οι 333 (75%) εξ αυτών ανταποκρίνονταν ικανοποιητικά στην αγωγή και οι 110 όχι (25%). Το 3% εκ των χρηστών LA ανέφεραν ελαφρές παρενέργειες όπως ναυτία και μεταγευματική πληρότητα (διάταση). Από τους 443 ασθενείς του LA, οι 293 μετέπεσαν σε θεραπεία με γκαμπαπεντίνη και οι 150 έμειναν χωρίς καμία θεραπευτική αγωγή. Το 45% όσων άρχισαν αγωγή με γκαμπαπεντίνη αναγκάστηκε να διακόψει την αγωγή λόγω παρενεργειών όπως, ζαλάδα, υπνηλία, ίλιγγος και τάση προς πτώση (**Σχήμα 5**). Από τους 293 που μετέπεσαν στη γκαμπαπεντίνη, ανταποκρίθηκαν στην αγωγή οι 132 (45%), ενώ δεν ανταποκρίθηκαν οι 161 (55%) σε δόσεις μέχρι και 2400mg/ημέρα. Εκ των 161 μη ανταποκρινόμενων, η πλειονότητα έπασχε από παραισθησία και μούδιασμα, έναντι των οποίων η γκαμπαπεντίνη δεν έδειξε αποτελεσματικότητα. Η μετάπτωση στην γκαμπαπεντίνη αύξησε τον μέσο όρο επισκέψεων στα εξωτερικά ιατρεία νοσοκομείων από 3,8 σε 7,9 ανά 3 μήνες⁴⁰.

Σε μία άλλη προοπτική μελέτη παρατήρησης συμμετείχαν 96 ασθενείς στους οποίους συνταγογραφήθηκαν είτε καρβαμαζεπίνη, είτε πρεγκαμπαλίνη είτε λιποϊκό οξύ. Οι ασθενείς παρακολουθούνταν κάθε μήνα επί έξι μήνες και καταγράφονταν το επίπεδο του νευροπαθητικού πόνου (αναλογική κλίμακα VAS), τα συμπτώματα της διαβητικής νευροπάθειας (κλίμακα DNS, Diabetic Neuropathy Symptom) και τα νευ-



Σχήμα 6: Ποσοστά ασθενών πασχόντων από διαβητική νευροπάθεια τα συμπτώματα των οποίων ανταποκρίθηκαν σε αγωγή με 600 mg LA. (Ως ανταπόκριση ορίστηκε η μείωση της βαθμολογίας TSS κατά τουλάχιστον 30%)

ροπαθητικά ελλείμματα τους (κλίμακα DNE, Diabetic Neuropathy Examination). Η συγκεκριμένη δημοσίευση είναι η μοναδική βιβλιογραφική αναφορά σύγκρισης της αποτελεσματικότητας αγωγών κατά της διαβητικής νευροπάθειας. Διαπιστώθηκε ότι μετά από 6 μήνες λήψης και οι τρεις αγωγές ήταν στατιστικά εξίσου αποτελεσματικές στην αντιμετώπιση του πόνου, ενώ το λιποϊκό οξύ και η πρεγκαμπαλίνη αποδείχτηκαν εξίσου αποτελεσματικές και ανώτερες της καρβαμαζεπίνης στην αντιμετώπιση των νευροπαθητικών συμπτωμάτων (πόνος, κάψιμο, μούδιασμα, παραισθησία). Σύμφωνα με τους συγγραφείς, το λιποϊκό οξύ φαίνεται να κατέχει ισοδύναμη ή και καλύτερη αποτελεσματικότητα από καθιερωμένες φαρμακευτικές αγωγές όπως η πρεγκαμπαλίνη και η καρβαμαζεπίνη, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό παρενεργειών, που επιβαρύνουν ακόμα περισσότερο τη νοσηρότητα των διαβητικών επιπλοκών⁴¹.

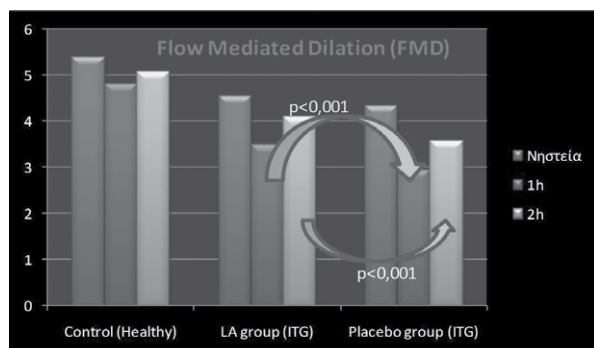
Η αποτελεσματικότητα του LA στις πραγματικές συνθήκες που επικρατούν στην κοινότητα επιβεβαιώθηκε και από μία ακόμα μελέτη παρατήρησης από τους Nahm et al. στην οποία ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της per os ημερήσιας χορήγησης 600 mg LA επί 8 εβδομάδες. Ως πρωταρχικό τελικό σημείο ορίστηκε το ποσοστό των πασχόντων που θα κατέγραφε $\geq 30\%$ μείωση των συμπτωμάτων της κλίμακας TSS (ποσοστό ανταπόκρισης). Η αποτελε-

σματικότητα εκτιμήθηκε σε 38 ασθενείς. Το ποσοστό των ασθενών που ανταποκρίθηκαν ήταν 47,4% στις 4 εβδομάδες και 71,4% στις 8 εβδομάδες ($p < 0,05$). Το μέσο μέγεθος της βελτίωσης ήταν 57% μείωση της βαθμολογίας TSS και η βελτίωση αφορούσε και τα 4 συμπτώματα (πόνος, αίσθηση καύσου, παραισθησία και μούδιασμα) (Σχήμα 6). Δεν καταγράφηκαν βελτιώσεις στις παραμέτρους των νευρολογικών εκτιμήσεων - ελλειμμάτων (αντανάκλαστικά, αίσθηση πίεσης, αφής, τσιμπήματος κλπ). Συνολικά, η αποτελεσματικότητα της αγωγής με LA αποτιμήθηκε από τους γιατρούς ως καλή ή πολύ καλή στο 86,8% των περιπτώσεων και από τους ασθενείς στο 76,3%. Αναφέρθηκαν 11 ανεπιθύμητες ενέργειες σε 7 ασθενείς⁴².

4.5. Γλυκαιμικός έλεγχος και βελτίωση ενδοθηλιακής λειτουργίας

Το 2010 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα μίας διπλής τυφλής τυχαιοποιημένης κλινικής δοκιμής με την οποία προσδιορίστηκε σε 30 διαβητικούς ασθενείς η βιολογική προέλευση της αγγειοδιασταλτικής δράσης του LA. Μετρήθηκε η αιματική ροή στο αντιβράχιο κατά τη χορήγηση ακετυλοχολίνης (ACh) ή τρινιτρικής γλυκερίνης (GTN) πριν και μετά από 21 ημέρες ενδοφλέβιας χορήγησης είτε 600 mg LA είτε placebo. Η αιματική ροή μετρήθηκε με παρεμβατική πληθυσμογραφία τύπου strain - gauge (με εισαγωγή 27G βελόνας). Όπως ήταν αναμενόμενο και η ακετυλοχολίνη και η τρινιτρική γλυκερίνη, προκάλεσαν δοσοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, η οποία όμως ενισχύθηκε σε σχέση με το εικονικό φάρμακο μόνο σε όσα άτομα λάμβαναν LA και όχι GTN ($P = 0,00003$ σε σχέση με τη γραμμή βάσης, $P = 0,037$ σε σχέση με την ομάδα του placebo). Επειδή μόνο η ACh δρα μέσω ενδοθηλιοεξαρτώμενης έκλυσης NO, συμπεραίνεται ότι το LA βελτιώνει την αιμάτωση (αγγειοδιασταλτική δράση) μέσω διέγερσης του αγγειακού ενδοθηλίου προς σχηματισμό NO, όπως άλλωστε έχει περιγραφεί και στην υποεπέννηση 3.3.2⁴³.

Ιδιαίτερα σημαντική όσον αφορά την διαχείριση των καρδιαγγειακών επιπλοκών των διαβητικών ασθενών, είναι η κλινική δοκιμή QUALITY από το Τμήμα Καρδιολογίας του Emory University της Ατλάντα. Επρόκειτο για μία τυχαιοποιημένη διπλή - τυφλή διασταυρούμενη μελέτη σχεδιασμένη να ελέγξει τα καρδιαγγειακά αποτελέσματα της προσθήκης LA σε άτομα που βρίσκονται ήδη υπό αγωγή με κιναιρίλη.



Σχήμα 7: Βελτίωση της αγγειακής λειτουργίας (FMD) πασχόντων από διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη

Συμμετείχαν 40 υπερτασικοί διαβητικοί τύπου 2, χωρίς στεφανιαία νόσο ή καρδιακή ανεπάρκεια, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε λήψη είτε 40 mg κιναπρίλης (αγωγή Α) είτε 40 mg κιναπρίλης και 600 mg LA (αγωγή Β) επί 8 εβδομάδες. Μετά από μία περίοδο έκπλυσης (washout period) κατά την οποία δεν λάμβαναν φάρμακο, οι αγωγές άλλαξαν αμφίδρομα και οι της ομάδας Α έλαβαν για 8 εβδομάδες την αγωγή Β και οι της Β την Α. Ο συγκεκριμένος σχεδιασμός ονομάζεται διασταυρούμενος (crossover) και έχει το πλεονέκτημα του ότι ο κάθε ασθενής λειτουργεί ως έλεγχος (control) του εαυτού του. Οι κύριες εκβάσεις ήταν

- η αρτηριακή πίεση,
- η αλβουμίνη ούρων, ένας αριθμός – δείκτης της νεφρικής βλάβης, της κύριας δηλαδή επιπλοκής της υπέρτασης
- η διαστολή που προκαλείται από τη ροή του αίματος στη βραχιόνια αρτηρία (FMD, οφείλεται στην έκκριση NO από το ενδοθήλιο) και αποτελεί δείκτη υγείας του αγγειακού ενδοθηλίου και ανεξάρτητο παράγοντα καρδιοπάθειας

Διαπιστώθηκε ότι παρότι η προσθήκη LA στην αγωγή με κιναπρίλη δε μείωσε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό περαιτέρω την αρτηριακή πίεση, όμως

- βελτίωσε τη λειτουργία των νεφρών. (53% μείωση της πρωτεϊνουρίας έναντι 30% μείωσης με μόνο κιναπρίλη $p < 0,005$)
- βελτίωσε θεαματικά τη λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου (116% αύξηση της διασταλτικότητας - ελαστικότητας των αγγείων - FMD - έναντι 58% αύξησης με μόνο κιναπρίλη $p < 0,005$).

Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η προσθήκη LA στην αντιυπερτασική αγωγή των διαβητικών μπορεί να

προσφέρει επιπλέον προστασία από τις επιπλοκές της νόσου⁴⁴.

Όσον αφορά τη δράση του LA στην προστασία του αγγειακού ενδοθηλίου, αντίστοιχα ευρήματα έχουν αναφερθεί και για προδιαβητικές καταστάσεις και συγκεκριμένα για πάσχοντες από διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη. Σε μία τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη κατανεμήθηκαν ισομερώς 42 πάσχοντες από διαταραχή ανοχής στη γλυκόζη (ITG) σε δύο ομάδες: στην πρώτη πριν τη δοκιμασία γλυκόζης (OGTT) χορήγησαν 300 mg LA και στη δεύτερη διάλυμα φυσιολογικού ορού και κατόπιν μετρήθηκαν τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα 1 και 2 ώρες μετά. Παράλληλα υπεβλήθησαν σε έλεγχο OGTT και 21 υγιείς ανθρώπους, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου (control). Επειδή είναι γνωστό ότι η αγγειακή λειτουργία των πασχόντων από ITG είναι διαταραγμένη, οι επιστήμονες θέλησαν να διαπιστώσουν κατά πόσον η χορήγηση LA είναι σε θέση να βελτιώσει τη λειτουργία του ενδοθηλίου, όπως αυτό αποτυπώνεται στη διαστολή που προκαλείται από τη ροή του αίματος στη βραχιόνια αρτηρία (FMD).

Όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 7** η FMD των πασχόντων από ITG, είτε λάμβαναν LA είτε πλασέμπο, ήταν μικρότερη των υγιών σε οποιαδήποτε στιγμή, πριν η μετά το τεστ, γεγονός που αντανάκλα τη δυσμενή επίδραση που έχει στην αγγειακή λειτουργία η αυξημένη συγκέντρωση σακχάρου στο αίμα. Παρόλα αυτά, όσοι έλαβαν LA πριν τη δοκιμασία OGTT είχαν ανεβασμένες τιμές FMD 1 και 2 ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης (βελτιωμένη λειτουργία αγγείων) σε σχέση με όσους έλαβαν πλασέμπο, με τις τιμές τους να κυμαίνονται ενδιάμεσα των χαμηλών των πασχόντων από IGT και των υψηλών των υγιών της ομάδας ελέγχου. Σημειώνεται ότι η διαταραχή της ανοχής στη γλυκόζη αποτελεί έναν από τους κύριους δείκτες του μεταβολικού συνδρόμου, μίας πρόδρομης παθολογικής κατάστασης ευρύτατα διαδεδομένης μεταξύ των πολιτών του σύγχρονου κόσμου, η οποία αν δεν αναταχθεί με αλλαγές στον τρόπο ζωής ή/και με κατάλληλη αγωγή, αυξάνει σημαντικά τις πιθανότητες επιπλοκών, όπως διαβήτης, έμφραγμα, εγκεφαλικό⁴⁵.

5. Συμπεράσματα

Το λιποϊκό οξύ αποτελεί μία τεκμηριωμένη επιλογή αντιμετώπισης των κύριων κλινικών συμπτωμάτων της Διαβητικής Περιφερικής Νευροπάθειας (ΔΠΝ),

μίας διαβητικής επιπλοκής που προσβάλλει περίπου το 30% του διαβητικού πληθυσμού και αποτελεί την κύρια αιτία ακρωτηριασμού των κάτω άκρων μη - τραυματικής αιτιολογίας.

Επειδή στην πρακτική διαχείριση της ΔΠΝ υφίσταται ένα θεραπευτικό κενό και ταυτοχρόνως ένα πιεστικό φαρμακευτικό ζητούμενο, τα ευρήματα που αφορούν τις φαρμακολογικές και κλινικές δράσεις του LA μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στη βελτίωση της διαχείρισης του διαβητικού ασθενή. Πέραν αυτού, χάρη στην ευρεία γκάμα των φυσιολογικών ιδιοτήτων του, το λιποϊκό οξύ επηρεάζει ευνοϊκά το παθοβιολογικό υπόβαθρο άλλων - φαινομενικά μη σχετιζόμενων

- παθολογικών χρόνιων καταστάσεων και λειτουργικών αλλοιώσεων όπως καρδιαγγειακές εκδηλώσεις, επώδυνα ορθοπεδικά σύνδρομα συμπίεστικού χαρακτήρα (αυχενικό, οσφυαλγία, σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα), κυτταρική γήρανση. Κοινό χαρακτηριστικό αυτών των παθήσεων είναι η οξειδωτική τροποποίηση βιοχημικών μονοπατιών στην οποία παρεμβαίνει το λιποϊκό οξύ.

Επειδή η οξειδωτική τροποποίηση βρίσκεται στον πυρήνα πολλών νοσηρών καταστάσεων αναμένεται στο μέλλον το λιποϊκό οξύ να αποκτήσει ακόμα πιο αυξημένο ρόλο στη διαχείριση και άλλων παθολογικών εκδηλώσεων. □

Lipoic Acid: A New Therapeutic Approach in the Management of Chronic Diseases Related to Oxidative Stress

Gregory Laskaris, Ph.D.

National Organization for the Provision of Healthcare Services, Pharmacy (EOPYY), Karaoli Dimitriou 12, Evosmos Thessaloniki, PC 56225, gregoracius@yahoo.com

Abstract

Lipoic acid is an endogenously produced compound that is involved in cell energy production by affording reducing power (NADH) at mitochondrial level. In the organism it is partially reduced to its equally active counterpart dihydrolipoic acid. Lipoic acid is endowed with a wide spectrum of properties and constitutes a clinically proven supplement that acts upon well defined biochemical pathways affecting critical components of cellular stress.

Numerous experimental and clinical studies suggest that lipoic acid taken orally at a dose of 600 mg/day may resolve a wide array of pathological conditions ranging from orthopedic syndromes (low back pain, neck pain, carpal

tunnel syndrome) to diabetic complications, mainly in the management of the symptoms of peripheral diabetic neuropathy, with primary role in the control of pain, paresthesia and numbness. The common underlying pathogenesis of these dysfunctions is oxidative damage. Lipoic acid addresses directly the oxidative stress via three interrelated mechanisms: chelation of metals that catalyze the formation of Reactive Oxygen Species (ROS), quenching of free radicals and regeneration of endogenous antioxidants, primarily of glutathione (GSH). In addition lipoic acid indirectly resolves the consequences of oxidative imbalance, either by inducing PKB/Akt kinase or by activating transcriptional factors with key role in the redox modulation, like NFκB and Nrf2. Furthermore, lipoic acid acts as a reversible inhibitor of neural transduction in the sensory neurons by way of blocking T - channels and thus limiting the nerve impulse. Most of the above pharmacological attributes are prolonged and their IC50 is observed at the low micromolar (μM) range, a concentration that can be easily achieved with usual per os dosing.

KEYWORDS: Lipoic Acid, Dihydrolipoic Acid, Oxidative Stress, Redox Modulation, Peripheral Diabetic Neuropathy

Βιβλιογραφία

1. Reed L.J. Metabolic functions of thiamine and lipoic acid. *Physiol. Rev.* 33, 544 - 59, 1953.
2. Gleiter C.H., Schreeb K.H., Freudenthaler S., Thomas M., Elze M., Fieger - Buschges H., Potthast H., Schneider E., Schug B.S., Blume H.H., Hermann R. Lack of interaction between thioctic acid, glibenclamide and acarbose. *Brit.J.Clin. Pharmacol.* 48,819 - 25, 1999.
3. Yadav V., Marracci G.H., Munar M.Y., Cherala G., Stuber L.E., Alvarez L., Shinto L., Koop D.R., Bourdette D.N. Pharmacokinetic study of lipoic acid in multiple sclerosis: comparing mice and human pharmacokinetic parameters. *Mult. Scler.* 16, 387 - 97, 2010.
4. Gleiter C.H., Schug B.S., Hermann R., Elze M., Blume H.H., Gundert - Remy U. Influence of food intake on the bioavailability of thioctic acid enantiomers. *Eur.J. Clin. Pharmacol.* 50,513 - 4, 1996.
5. Pick U., Haramaki N., Constantinescu A., Handelman G.J., Tritschler H.J., Packer L. Glutathione reductase and lipoamide dehydrogenase have opposite stereospecificities for alpha - lipoic acid enantiomers. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 206,724 - 30, 1995.
6. Biewenga G.P., Dorstijn M.A., Verhagen J.V., Haenen G.R., Bast A. Reduction of lipoic acid by lipoamide dehydrogenase. *Biochem. Pharmacol.* 51, 233 - 8, 1996.
7. Maitra I., Serbinova E., Tritschler H.J., Packer L. Stereospecific effects of R - lipoic acid on buthionine sulfoximine - induced cataract formation in newborn rats. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 221, 422 - 9, 1996.
8. Packer L., Tritschler H.J., Wessel K. Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha - lipoic acid. *Free Rad. Biol. Med.* 22, 359 - 78, 1997.
9. Teichert J., Hermann R., Ruus P., Preiss R. Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha - lipoic acid following oral administration in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 43,1257 - 67, 2003.
10. Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. Alpha - Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Rad. Biol. Med.* 19, 227 - 50, 1995.
11. Podda M., Tritschler H.J., Ulrich H., Packer L. Alpha - lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 204, 98 - 104, 1994.
12. Han D., Tritschler H.J., Packer L. Alpha - lipoic acid increases intracellular glutathione in a human T - lymphocyte Jurkat cell line. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 207, 258 - 64, 1995.
13. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54,1615 - 25, 2005.
14. Nagamatsu M., Nickander K.K., Schmelzer J.D., Raya A., Wittrock D.A., Tritschler H., Low P.A. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress, and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes care* 18,1160 - 7, 1995.
15. Khamaisi M., Rudich A., Potashnik R., Tritschler H.J., Gutman A., Bashan N. Lipoic acid acutely induces hypoglycemia in fasting nondiabetic and diabetic rats. *Metabolism* 48:504 - 10, 1999.
16. Blumenthal S.A. Inhibition of gluconeogenesis in rat liver by lipoic acid. Evidence for more than one site of action. *Biochem. J.* 219,773 - 80, 1984.
17. Zhang L., Xing G.Q., Barker J.L., Chang Y., Maric D., Ma W., Li B.S., Rubinow D.R. Alpha - lipoic acid protects rat cortical neurons against cell death induced by amyloid and hydrogen peroxide through the Akt signalling pathway. *Neurosci. Lett.* 312,125 - 8, 2001.
18. Smith A.R., Hagen T.M. Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt - dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R) - alpha - lipoic acid. *Biochem. Soc. Trans.* 31,1447 - 9, 2003.
19. Smith A.R., Visioli F., Frei B., Hagen T.M. Lipoic acid significantly restores, in rats, the age - related decline in vasomotion. *Brit. J. Pharmacol.* 153,1615 - 22, 2008.
20. Li G., Fu J., Zhao Y., Ji K., Luan T., Zang B. Alpha - lipoic acid exerts anti - inflammatory effects on lipopolysaccharide - stimulated rat mesangial cells via inhibition of nuclear factor kappa B (NF - kappaB) signaling pathway. *Inflammation* 38,510 - 9, 2015.

21. Jin H.B., Yang Y.B., Song Y.L., Zhang Y.C., Li Y.R. Lipoic acid attenuates the expression of adhesion molecules by increasing endothelial nitric - oxide synthase activity. *Mol. Biol. Rep.* 40, 377 - 82, 2013.
22. Suh J.H., Shenvi S.V., Dixon B.M., Liu H., Jaiswal A.K., Liu R.M., Hagen T.M. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age - related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 3381 - 6, 2004.
23. Zhang W.J., Bird K.E., McMillen T.S., LeBoeuf R.C., Hagen T.M., Frei B. Dietary alpha - lipoic acid supplementation inhibits atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E - deficient and apolipoprotein E/low - density lipoprotein receptor - deficient mice. *Circulation* 117, 421 - 8, 2008.
24. Stevens M.J., Obrosova I., Cao X., Van Huysen C., Greene D.A. Effects of DL - alpha - lipoic acid on peripheral nerve conduction, blood flow, energy metabolism, and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 49, 1006 - 15, 2000.
25. Lee W.Y., Orestes P., Latham J., Naik A.K., Nelson M.T., Vitko I., Perez - Reyes E., Jevtovic - Todorovic V., Todorovic S.M. Molecular mechanisms of lipoic acid modulation of T - type calcium channels in pain pathway. *J. Neurosci.* 29, 9500 - 9, 2009.
26. Letizia Mauro G., Cataldo P., Barbera G., Sanfilippo A. alpha - Lipoic acid and superoxide dismutase in the management of chronic neck pain: a prospective randomized study. *Drugs in R&D* 14, 1 - 7, 2014.
27. Memeo A., Loiero M. Thiocctic acid and acetyl - L - carnitine in the treatment of sciatic pain caused by a herniated disc: a randomized, double - blind, comparative study. *Clin. Drug Inv.* 28:495 - 500, 2008.
28. Ranieri M., Sciuscio M., Cortese A.M., Santamato A., Di Teo L., Ianieri G., Bellomo R.G., Stasi M., Megna M. The use of alpha - lipoic acid (ALA), gamma linolenic acid (GLA) and rehabilitation in the treatment of back pain: effect on health - related quality of life. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 22, 45 - 50, 2009.
29. Battisti E., Albanese A., Guerra L., Argnani L., Giordano N. Alpha lipoic acid and superoxide dismutase in the treatment of chronic low back pain. *Eur. J. Phys. Rehab. Med.* 49, 659 - 64, 2013.
30. Di Geronimo G., Caccese A.F., Caruso L., Soldati A., Passaretti U. Treatment of carpal tunnel syndrome with alpha - lipoic acid. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 13, 133 - 9, 2009.
31. Natural Standard. Alpha - lipoic acid Professional Monograph. 2014.
32. Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K.J., Meissner H.P., Lobisch M., Schutte K., Gries F.A. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti - oxidant alpha - lipoic acid. A 3 - week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia* 38, 1425 - 33, 1995.
33. Reljanovic M., Reichel G., Rett K., Lobisch M., Schuette K., Moller W., Tritschler H.J., Mehnert H. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thiocctic acid (alpha - lipoic acid): a two year multicenter randomized double - blind placebo - controlled trial (ALADIN II). *Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Free Rad. Res.* 31, 171 - 9, 1999.
34. Ametov A.S., Barinov A., Dyck P.J., Hermann R., Kozlova N., Litchy W.J., Low P.A., Nehrdich D., Novosadova M., O'Brien P.C., Reljanovic M., Samigullin R., Schuette K., Stokov I., Tritschler H.J., Wessel K., Yakhno N., Ziegler D. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with alpha - lipoic acid: the SYDNEY trial. *Diabetes care* 26, 770 - 6, 2003.
35. Ruhnau K.J., Meissner H.P., Finn J.R., Reljanovic M., Lobisch M., Schutte K., Nehrdich D., Tritschler H.J., Mehnert H., Ziegler D. Effects of 3 - week oral treatment with the antioxidant thiocctic acid (alpha - lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy. *Diab. Med.* 16, 1040 - 3, 1999.
36. Ziegler D., Ametov A., Barinov A., Dyck P.J., Gurieva I., Low P.A., Munzel U., Yakhno N., Raz I., Novosadova M., Maus J., Samigullin R. Oral treatment with alpha - lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes care* 29, 2365 - 70, 2006.
37. Gu X.M., Zhang S.S., Wu J.C., Tang Z.Y., Lu Z.Q., Li H., Liu C., Chen L., Ning G. Efficacy and safety of

- high - dose alpha - lipoic acid in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Zhonghua yi xue za zhi* 90,2473 - 6, 2010.
38. Ziegler D., Low P.A., Litchy W.J., Boulton A.J., Vinik A.I., Freeman R., Samigullin R., Tritschler H., Munzel U., Maus J., Schütte K., Dyck P.J. Efficacy and safety of antioxidant treatment with alpha - lipoic acid over 4 years in diabetic polyneuropathy: the NATHAN 1 trial. *Diabetes care* 34,2054 - 60, 2011.
 39. Mijnhout G.S., Kollen B.J., Alkhalaf A., Kleefstra N., Bilo H.J. Alpha lipoic Acid for symptomatic peripheral neuropathy in patients with diabetes: a meta - analysis of randomized controlled trials. *Int. J. Endocrin.* 456279, 2012.
 40. Ruessmann H.J. German Society of out patient diabetes centres AND. Switching from pathogenetic treatment with alpha - lipoic acid to gabapentin and other analgesics in painful diabetic neuropathy: a real - world study in outpatients. *J.Diabetes Complicat.* 23,174 - 7, 2009.
 41. Patel N., Mishra V., Patel P., Dikshit R.K. A study of the use of carbamazepine, pregabalin and alpha lipoic acid in patients of diabetic neuropathy. *J. Diabetes Metab. Disord.* 13, 62, 2014 .
 42. Hahm J.R., Kim B.J., Kim K.W. Clinical experience with thioctacid (thioctic acid) in the treatment of distal symmetric polyneuropathy in Korean diabetic patients. *J.Diabetes Complicat.* 18, 79 - 85, 2004.
 43. Heinisch B.B., Francesconi M., Mittermayer F., Schaller G., Gouya G., Wolzt M., Pleiner J. Alpha - lipoic acid improves vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes: a placebo - controlled randomized trial. *Eur.J.Clin.Invest.* 40,148 - 54, 2010.
 44. Rahman S.T., Merchant N., Haque T., Wahi J., Bhaheetharan., Ferdinand K.C., Khan B.V. The impact of lipoic acid on endothelial function and proteinuria in quinapril - treated diabetic patients with stage I hypertension: results from the QUALITY study. *J. Cardiovasc. Pharm. Ther.* 17,139 - 45, 2012 .
 45. Xiang G.D., Sun H.L., Zhao L.S., Hou J., Yue L., Xu L. The antioxidant alpha - lipoic acid improves endothelial dysfunction induced by acute hyperglycaemia during OGTT in impaired glucose tolerance. *Clin. Endocrin.* 68,716 - 23, 2008.

Χημειομετρία - Χημειοπληροφορική ως εργαλείο στις ποσοτικές σχέσεις δομής - ιδιότητας & δομής - δράσης

Νικόλαος Κρητικός, Θεοδοσία Βαλλιανάτου, Ιωάννης Ντότσικας, Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου*

Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α., Πανεπιστημιόπολις, Ζωγράφου, Αθήνα 157 71

Περίληψη

Η Χημειομετρία (chemometrics) και η χημειοπληροφορική (chem(o)informatics) βρίσκουν ευρεία εφαρμογή για την βέλτιστη “εξόρυξη” δεδομένων και την αξιοποίηση και ποσοτικοποίηση της πληροφορίας διαμορφώνοντας την βάση για την ανάπτυξη Ποσοτικών Σχέσεων Δομής - Ιδιοτήτων και Ποσοτικών Σχέσεων Δομής - Δράσης. Στην παρούσα ανασκόπηση αναλύονται οι βασικότεροι όροι και περιγράφονται οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές για την ανάπτυξη μοντέλων, όπως η Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση (MLR), η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (PCA), η Παλινδρόμηση

Κυρίων Συνιστωσών (PCR), οι Προβολές σε Λανθάνουσες Δομές (PLS) και τα Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα (ANN). Για την υποστήριξη των στατιστικών μεθόδων και στατιστικών μεγεθών παρατίθενται οι βασικές μαθηματικές έννοιες και αναλύσεις που αποτελούν το υπόβαθρο για εξαγωγή τους. Έμφαση δίδεται επίσης στην αξιολόγηση και επικύρωση των μοντέλων καθώς και στον ορισμό του πεδίου εφαρμογής τους, διαδικασίες που είναι καθοριστικές για την κριτική θεώρηση των προβλέψεων και την ορθολογική ερμηνεία των μοντέλων.

ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ: Χημειομετρία, χημειοπληροφορική, Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση (MLR), η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών, Παλινδρόμηση Κυρίων Συνιστωσών, Προβολές σε Λανθάνουσες Δομές, Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα (ANN)

1. Εισαγωγή

Η Χημειομετρία (**chemometrics**) είναι αυτοτελής κλάδος της χημείας που αναγνωρίζει, μελετά και επιλύει ζητήματα που αφορούν τη χημεία με την εφαρμογή μεθόδων που προέρχονται από τα εφαρμοσμένα μαθηματικά, τη στατιστική και τις υπολογιστικές επιστήμες¹. Τμήμα αυτού του κλάδου είναι η χημειοπληροφορική (**chem(o)informatics**), η οποία αφορά στην εφαρμογή χημειομετρικών με-

θόδων για την βέλτιστη “εξόρυξη” και τον «εξευγενισμό - καθαρισμό» της πληροφορίας που παρέχεται από πειραματικές διαδικασίες ή κρίνεται πίσω από την ομοιότητα/κοινή φύση χημικών ουσιών. Η δεύτερη διαδικασία εντάσσεται και στο γενικότερο πλαίσιο των “informatics”, που αναφέρονται στο σύνολο της πληροφορίας που μπορεί να εξαχθεί από ένα σύστημα^{2,3}.

Η “εξόρυξη δεδομένων” μπορεί να είναι περιγρα-

* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου, tsantili@pharm.uoa.gr

φική (descriptive **data mining**), οπότε εστιάζει στην ανάλυση δεδομένων για την εύρεση μοτίβων, ομάδων, τάσεων ή έκτροπων αντικειμένων, ή να είναι προβλεπτική (predictive data mining), οπότε ασχολείται με την κατάταξη σε ομάδες, την ανάλυση παλινδρόμησης και την πρόβλεψη αγνώστων τιμών. Η δεύτερη περίπτωση απαιτεί κατά κύριο λόγο επιβλεπόμενες μεθόδους, ενώ η πρώτη μη επιβλεπόμενες⁴.

Η παρούσα ανασκόπηση έχει σκοπό να παρέχει μια συνοπτική ανάλυση και επεξήγηση των ευρύτερα χρησιμοποιούμενων όρων στη χημειομετρία, η ορθή ερμηνεία των οποίων είναι καθοριστική για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των αναλυτικών τεχνικών. Παράλληλα, η ανασκόπηση επικεντρώνει στη σημασία και εφαρμογή χημειομετρικών μεθόδων και χημειοπληροφορικής σε Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Ιδιοτήτων/Δράσης, οι οποίες συμβάλλουν στην κατανόηση φαινομένων, ενώ είναι δυνατόν να αποτελέσουν και χρήσιμο εργαλείο για περαιτέρω προβλέψεις. Επειδή ωστόσο, η χημειομετρία γεφυρώνει τη χημεία με στατιστικές/μαθηματικές επιστήμες κάποιοι όροι που είναι κοινοί, μπορεί να αποδίδονται διαφορετικά ανάλογα με τη φύση των φαινομένων που μελετώνται.

2. Αναλύσεις όρων - Ορισμοί

Οι σημαντικότεροι όροι που θεωρήθηκε αναγκαίο να αναλυθούν στην ενότητα αυτή αφορούν στην ακρίβεια (εργαστηριακή και στατιστική), την πιστότητα (εργαστηριακή), την ορθότητα, την διακύμανση και την συνδιακύμανση που επιτρέπουν τη σωστή αξιολόγηση των πειραματικών αποτελεσμάτων και των στατιστικών μοντέλων^{5,6}. Παρατίθενται, επίσης, οι αγγλικοί όροι προς αποφυγή οιασδήποτε σύγχυσης.

Ακρίβεια (εργαστηριακή)/Ορθότητα (στατιστική) (accuracy): είναι η εκτιμήτρια της εγγύτητας των τιμών, που λαμβάνονται υπό όμοιες συνθήκες, ως προς τη πραγματική τιμή μ η οποία είναι γνωστή για το πληθυσμό (όταν αυτό ισχύει). Η εκτιμήτρια αυτή αποδίδεται με τη διαφορά $x - \mu$ ή $x - \bar{x}$, το οποίο ουσιαστικά ισοδυναμεί με το σφάλμα e ή $\bar{e}$.

Οι διαφορετικοί συμβολισμοί δίνονται για να αναφερθεί η ιδέα του σφάλματος, ως πραγματικό σφάλμα ή ως φαινόμενο σφάλμα στις μεθόδους. Εάν για ένα πληθυσμό είναι πραγματικά γνωστή και νοητή η τιμή μ , η παραπάνω σχέση δίνει την τιμή του πραγμα-

τικού σφάλματος e . Σε πολλές, όμως, περιπτώσεις μια μέθοδος στατιστικής επεξεργασίας μπορεί να αφορά σε πληθυσμούς όπου δε μπορεί να γίνει νοητή η τιμή αυτή και ούτε και το σφάλμα σε αυτή. Το e σε αυτές τις περιπτώσεις ονομάζεται στατιστικό σφάλμα. Για παράδειγμα, μέθοδοι που δημιουργούν «εικόνες» για μηχανισμούς, σχέσεις ή μόρια, έχουν σαφώς σφάλματα στα μοντέλα τα οποία κατασκευάζουν για τα οποία όμως δε μπορούμε να ορίσουμε μ , αλλά ούτε και e . Μπορούμε όμως να αποκτήσουμε μια εικόνα για το e του πληθυσμού συσχετίζοντας το με το e που προκαλεί σε μια μεταβλητή (θα την ονομάσουμε παρακάτω απόκριση στη σχετική θεωρία). Το e για τη μεταβλητή αυτή θα μας είναι συνήθως και πάλι άγνωστο, αλλά θα προσπαθούμε να το προσεγγίσουμε μέσα από τιμές e .

Το σφάλμα e , είναι ένα φαινόμενο σφάλμα ή όπως ορίζεται ένα **υπόλοιπο**, για το οποίο θέλουμε $e \rightarrow \bar{e}$ και μας βοηθά να εκτιμήσουμε το στατιστικό σφάλμα του πληθυσμού που δεν είναι νοητό. Η αναλυτική χημεία ομοίως αποδίδει στα πειραματικά σφάλματα την μεταβλητή e , αφού στη πλειοψηφία των περιπτώσεων εξετάζει δείγματα για να εξάγει συμπέρασμα για πληθυσμό, ευρίσκει $\bar{x} \rightarrow \mu$ και προκύπτουν $\bar{e} \rightarrow e$, όπου $\bar{e} = \sum_{i=1}^n (\frac{e_i}{n})$ το μέσο σφάλμα για n στοιχεία ενός δείγματος.

Πιστότητα (εργαστηριακή)/ Ακρίβεια (στατιστική) (precision): είναι η εκτιμήτρια της εγγύτητας μεταξύ των τιμών, οι οποίες λαμβάνονται υπό όμοιες συνθήκες. Η «πρόκληση» της μεθόδου, ως προς την ομοιότητα στις συνθήκες της, δίνει εκτίμηση για την επαναληψιμότητα που είναι συγγενική της πιστότητας. Η πιστότητα «αδιαφορεί» για την εγγύτητα προς τη πραγματική τιμή μ .

Τα αποτελέσματα μιας εργαστηριακής μεθόδου, αλλά και γενικότερα ένας πληθυσμός τον οποίο θέλουμε να παρατηρήσουμε ως προς X χαρακτηριστικό, εμφανίζουν κάποια μεταβλητότητα. Η μεταβλητότητα αυτή θα μπορούσε μαθηματικά να εκφραστεί ως τάση των τιμών να κινούνται γύρω από ένα κέντρο. Όταν η κινητικότητα είναι μικρή οι τιμές καταλήγουν με μεγαλύτερη πιθανότητα κοντά στο κέντρο απ' το οποίο ξεκινούν. Η εγγύτητα αφορά ακριβώς σε αυτή τη διασπορά των τιμών ενός πληθυσμού ή δείγματος ακόμα και αν το κέντρο για αυτή τη διασπορά δεν προσεγγίζει τη πραγματική τιμή μ . Τυπι-

κότεροι εκφραστές αυτής είναι η διακύμανση και η τυπική απόκλιση.

Διακύμανση: ονομάζεται η εκτιμήτρια που αποδίδει την πυκνότητα με την οποία κατανέμονται οι τιμές x ενός πληθυσμού που έχει κατανομή $F(x)$ γύρω από το ορισμένο κέντρο (μέση τιμή). Μαθηματικά αποδίδεται ως:

$\text{Var}(X) = \int_{-\infty}^{\infty} (x_i - \mu)^2 dF(x) = E[(X - \mu)^2]$, με $E(X)$: μέση τιμή για τον πληθυσμό του X , αντιστοίχως για δεδομένο δείγμα ή στοιχείων αυτού χρησιμοποιούμε την μορφή:

$\text{Var}(X) = \sum_1^n (x_i - \bar{x})^2 / n - 1$, όπου $\bar{x}$: μέση τιμή για το δείγμα του πληθυσμού X διαφορετικός συμβολισμός αυτής είναι: s^2 ($s^2 \equiv \text{Var}(x)$), όπου s : η τυπική απόκλιση που ορίζεται ως η θετική τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης.

Όταν η πραγματική τιμή μ είναι γνωστή και οι τιμές των x_i ελεύθερες σφάλματος μεθόδου, η διακύμανση αφορά στην πραγματική μεταβλητότητα που εμφανίζει ο εξεταζόμενος πληθυσμός.

Συνδιακύμανση (ή συνδιασπορά): ονομάζεται η εκτιμήτρια της «ταυτόχρονης» μεταβλητότητας (συμμεταβλητότητας) των στοιχείων των πληθυσμών X και Y γύρω από τα αντίστοιχα ορισμένα κέντρα αυτών που θεωρούνται οι μέσες τιμές τους $E(X)$ και $E(Y)$. Αντιστοίχως και για ίδιου μεγέθους δείγματα αυτών των πληθυσμών και η μαθηματική απόδοση:

$$\text{Cov}(x, y) = \sum_1^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) / (n - 1)$$

Αξίζει ίσως να σημειωθεί ότι η αξία που έχουν οι παραπάνω στατιστικές εκτιμήτριες βάλλεται σημαντικά όταν οι πληθυσμοί οι οποίοι εξετάζουν δεν είναι κανονικοί.

3. Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Ιδιότητας / Δομής - Δράσης, QSPR/QSAR

Η ανάπτυξη Ποσοτικών Σχέσεων Δομής - Ιδιότητας (Quantitative Structure - Property Relationships, **QSPR**) και Δομής - Δράσης (Quantitative Structure - Activity Relationships, **QSAR**) είναι μια από τις επιλεγόμενες πρακτικές για την λήψη αξιοποιήσιμης μορφής πληροφορίας. Χρησιμοποιούν χημειομετρικές μεθόδους, συνήθως ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης (regression) ή πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων, αλλά και μη γραμμικές στατιστικές τεχνικές, όπως Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα, επιχειρώ-

ντας κατ' ουσία να εξομοιώσουν τη βασική λογική της επιστημονικής παρατήρησης με τη δυνατότητα προβολής των σημείων σε πολυδιάστατους, μη οπτικοποιήσιμους από τον άνθρωπο χώρους. Σε αυτούς τους χώρους, στη βάση μαθηματικών αλγορίθμων, αναγνωρίζουν τον τρόπο διασποράς των σημείων και σχηματίζουν μοντέλα - εξισώσεις με τα οποία μπορεί να αποδοθεί ο τρόπος που τοποθετούνται τα σημεία γύρω από ένα κέντρο. Η διαδικασία αυτή στηρίζεται στον ορισμό σχέσεων με βάση τις μεταβλητές που περιγράφουν το σύστημα μέσω των οποίων μπορούν να επιλυθούν ζητήματα ορθής περιγραφής πολύπλοκων ομάδων/συστημάτων ή πρόβλεψης ιδιοτήτων και συμπεριφοράς μορίων όταν συμμετέχουν σε αντιδράσεις/διεργασίες⁷.

Οι **Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Ιδιότητας** αφορούν στη μελέτη φυσικών/χημικών ιδιοτήτων και ως εκ τούτου αφορούν σε μεγαλύτερο βαθμό τις επιστήμες χημείας και χημικής μηχανικής^{8,9}. Ειδικότερα οι Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Συγκράτησης (Quantitative Structure - Retention Relationships, **QSRR**) εξετάζει τη συμπεριφορά μορίων σε χρωματογραφικά συστήματα και τη σύγκριση χρωματογραφικών συνθηκών¹⁰⁻¹³. Από την άλλη, οι **Ποσοτικές Σχέσεις Δομής - Δράσης** στη μελέτη της επίδρασης μορίων πάνω σε βιολογικά συστήματα και έχουν μεγαλύτερη εφαρμογή στη βιολογία, βιοχημεία και την φαρμακευτική χημεία^{14,15}. Κοινός πυρήνας των μεθόδων αυτών είναι η ανάλυση ενός συνόλου περιγραφικών μεταβλητών (descriptors)¹⁶ (πχ. μοριακό βάρος, λιποφιλία, ατομική σύσταση), που αφορούν σε μια ομάδα μορίων, και η εξαγωγή με μαθηματικό - στατιστικό τρόπο, συσχέτισης ανάμεσα σε αυτές και τη μελετώμενη ιδιότητα, λειτουργία ή σύστημα (πχ. σκληρότητα υλικού, βιολογική δράση, τοξικότητα, παθογονικότητα, χρόνος συγκράτησης, κλπ.).

Τα μοντέλα των μεθόδων αυτών αποδίδουν τελικά μια συνάρτηση η οποία εκφράζει τη σχέση: ιδιότητα (Y) = f (περιγραφικών μεταβλητών (X))

Στόχος είναι οι εξισώσεις αυτές να έχουν προβλεπτική ικανότητα. Η λογική της πρόβλεψης έγκειται στο γεγονός ότι μόρια τα οποία εμφανίζουν υψηλή ομοιότητα με αυτά που μελετήθηκαν, ή δρουν ομοίως πάνω στο σύστημα που περιγράφει το μοντέλο, πρέπει, εντός αποδεκτών αποκλίσεων, να ακολουθούν τους ίδιους κανόνες για τις ίδιες αλληλεπιδράσεις. Ως

εκ τούτου τα μοντέλα μπορούν να προβλέψουν την μεταβλητή Y τέτοιων μορίων, αρκεί να είναι διαθέσιμες οι απαιτούμενες περιγραφικές μεταβλητές $X^{17,18}$.

Ιστορικά, η ιδέα της συσχέτισης των χαρακτηριστικών των μορίων με ιδιότητες και λειτουργίες συναντάται πρώτη φορά το 1863, όταν ο Gros παρατηρεί ότι η τοξικότητα των αλκοολών στα θηλαστικά αυξάνεται καθώς μειώνεται η διαλυτότητα αυτών στο νερό¹⁹. Οι ερευνητές της εποχής του με σχετικές μελέτες θα διευρύνουν αυτή την παρατήρηση και θα συνδέσουν γενικότερα την λιποφιλία με την τοξικότητα που παρουσιάζουν οργανικές ενώσεις. Αργότερα ο Hammett θα προτείνει τις γραμμικές σχέσεις ελεύθερης ενέργειας (LFERs) με τις οποίες θα γίνει η αρχή για την μαθηματική απόδοση παρατηρούμενων σχέσεων που βασίζεται στη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs²⁰. Ο ίδιος θα τις χρησιμοποιήσει για να αποδώσει τη συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της μεταβολής των σταθερών ιονισμού υποκατεστημένων βενζοϊκών οξέων και των ηλεκτρονιακών σταθερών των υποκαταστατών. Τελικά ως επίσημος όρος θα γεννηθεί πρώτα το QSAR τη δεκαετία του '60 από παράλληλες εργασίες των Hansch και Free & Wilson^{21,22}. Στο διάστημα 1950 - 1990 θα δημοσιευτεί πλήθος εργασιών που θέτουν τις βάσεις για τη σημερινή ανάπτυξη των σχέσεων QSAR/QSPR με τομή την δημοσίευση των Hansch & Fujita όπου εισάγεται η λογική της μοντελοποίησης της δράσης σειράς συγγενικών ουσιών χρησιμοποιώντας τη λιποφιλία και τις ηλεκτρονικές ιδιότητες των υποκαταστατών στη βάση σχέσεων LFER²¹.

Σήμερα το QSAR χρησιμοποιείται πλέον ευρέως στον μοριακό σχεδιασμό φαρμακευτικών ενώσεων, στη βελτιστοποίηση δομών με βάση ενώσεις οδηγούς και στην κατανόηση του μηχανισμού δράσης. Ως εκ τούτου, η αξία της πληροφορίας που προκύπτει είναι συχνά διπλή. Ένα μοντέλο ενώσεων με γνωστή δράση σε ένα σύστημα, παρέχει μια εικόνα των απαιτήσεων του συστήματος, δίνοντας στοιχεία για απαραίτητες δομικές ομάδες, διευθετήσεις αυτών στο χώρο και μέγεθος αυτών, καθώς και «ανοχή» του συστήματος σε αποκλίσεις ως προς τα σημεία αλληλεπίδρασης του με τις ενώσεις. Αντιστρόφως, ένα επαρκώς περιγραφικό μοντέλο για ένα σύστημα μπορεί να αποκαλύψει ικανότητα ουσιών, να επιδράσουν σε αυτό,

ακόμη και αν δεν είναι προφανής η συγγένεια τους με τις ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την κατασκευή του. Από την άλλη, αυτές οι πληροφορίες δίνουν τη δυνατότητα πρόβλεψης της δράσης μιας ουσίας σε βιολογικά συστήματα, την αναμενόμενη ισχύ της δράσης, τον τρόπο αλληλεπίδρασης, τον εμπλεκόμενο μηχανισμό σε μια θεραπευτική δράση ή ακόμη και στοιχεία δομής του βιολογικού στόχου (έστω αδρά) αν αυτός δεν είναι προηγούμενα γνωστός. Σαφώς, η πολυπλοκότητα του εκάστοτε εγχειρήματος μπορεί να υπονομεύσει την επιτυχία δημιουργίας κατάλληλου μοντέλου.

Αντίστοιχα, το QSPR χρησιμοποιείται για την εκτίμηση, είτε μιας φυσικής/χημικής ιδιότητας που προκύπτει ως αποτέλεσμα βασικότερων μοριακών ιδιοτήτων (αυτών που απορρέουν άμεσα από τη δομή των ενώσεων) ή τη συμπεριφορά ενώσεων κατά τη συμμετοχή τους σε ένα φυσικοχημικό ή βιολογικό φαινόμενο /μία διεργασία, π.χ. χρωματογραφική συγκράτηση, διαπερατότητα μεμβρανών.

Σύμφωνα με τη με τη λογική του QSAR και του QSPR μια ομάδα ενώσεων χρησιμοποιείται για την εκπαίδευση/ δημιουργία του μοντέλου το οποίο διακρίνει πώς η διαφοροποίηση στις βασικές 'περιγραφικές' ιδιότητες (descriptors) επηρεάζει το υπό μελέτη φαινόμενο ή συμπεριφορά. Το μοντέλο συνοδεύεται από κατάλληλα στατιστικά στοιχεία που τεκμηριώνουν την ποιότητα, σταθερότητα και αξιοπιστία του. Ακολούθως, ομάδα ελέγχου χρησιμοποιείται για εξωτερική επικύρωση του μοντέλου, ενώ εφαρμόζονται διάφορα κριτήρια για τον προσδιορισμό του πεδίου εφαρμογής του.

Η εφαρμογή του QSAR και του QSPR στη βιομηχανία μπορεί να καθοδηγήσει την ανάπτυξη υλικών/ ουσιών/φαρμακομορίων με βελτιωμένα χαρακτηριστικά, τον πειραματικό σχεδιασμό ανάλυσης/ταυτοποίησης όμοιων ουσιών κλπ., χωρίς να απαιτεί εκτεταμένο τυφλό και δαπανηρό πειραματισμό με τα χαρακτηριστικά ή τις συνθήκες²³.

4. Η μορφή των σχέσεων QSAR/QSPR

Αφού δημιουργηθούν οι πίνακες των περιγραφικών μεταβλητών X (descriptors) και των αποκρίσεων Y (response variables), με συνολικά στοιχεία ij , όπου j περιγραφικές μεταβλητές και i τα αντικείμενα (ενώσεις), η επιλογή στατιστικής μεθόδου για το μοντέλο

καθορίζει το είδος των σχέσεων που θα προκύψουν. Η θεωρητική μορφή αυτών των σχέσεων είναι:

$$y_{(i)} = \sum_j (x_{(i,j)} \times b_j) + e_i$$

Όπου b_j οι συντελεστές παλινδρόμησης των μεταβλητών x_j και e_i το σφάλμα που προκύπτει κατά τις προβλέψεις.

Η έκφραση του μοντέλου συνήθως είναι της μορφής y_i , αφορά δηλαδή μια μεταβλητή απόκρισης i αριθμού ενώσεων. Κλασσική στατιστική τεχνική σε αυτήν την περίπτωση είναι η πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης.

Ορισμένες στατιστικές τεχνικές (πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων, multivariate data analysis) επιτρέπουν να εξετάζονται ταυτόχρονα m εξαρτώμενες μεταβλητές, αυτές συνθέτουν προηγούμενες μια σχέση που μπορεί να είναι της γενικότερης μορφής $y_{(i,m)}$. Οι μεταβλητές $y_{(i,m)}$ αναλύονται με γραμμικό συνδυασμό σύμφωνα με τη σχέση

$$y_i' u_i = \sum_1^m (y_{(i,m)} \times b_m') + e_i'$$

ώστε να προκύψει νέα μεταβλητή $y_i' u_i$, η οποία περιέχει την πληροφορία των προηγούμενων $y_{(i,m)}$ και χρησιμοποιείται στη συνέχεια στο μοντέλο. Ουσιαστικά, στην πολυμεταβλητή η ανάλυση δεδομένων η ίδια επεξεργασία γίνεται και για τις περιγραφικές μεταβλητές X και το τελικό μοντέλο εκφράζει τη σχέση ανάμεσα στις νέα μεταβλητές x και y (Κύριες συνιστώσες, βλ. και επόμενη ενότητα)

Το σύνολο των γινομένων $x_{(i,j)} \times b_j$ είναι η συστηματική πληροφορία. Οι τιμές του $x_{(i,j)}$ αναφέρονται στις τιμές των i ενώσεων των j περιγραφικών μεταβλητών X , ενώ ο πολλαπλασιαστής b είναι η κλίση ή συντελεστής συσχέτισης μέσω του οποίου η τιμή της μεταβλητής $x_{(i,j)}$ συνδέεται/εξηγεί την μεταβλητή y_i για συγκεκριμένη ένωση εντός του i συνόλου.

Το e_i είναι ένα υπόλοιπο (σφάλμα). Είναι το κομμάτι της τιμής για τη y_i μεταβλητή για τη συγκεκριμένη ένωση, που δε μπορούν τελικά να αιτιολογήσουν οι περιγραφικές μεταβλητές $x_{(i,j)}$ μέσα από την συγκεκριμένη συσχέτιση²³. Ανάλογα με το μέγεθος αυτού του σφάλματος, αυτό μπορεί πράγματι να είναι πειραματικό και να πλήττει την αξιοπιστία των τιμών y_i , μπορεί όμως να είναι και σφάλμα του μοντέλου. Κάποιες από τις διαδικασίες επικύρωσης του μοντέλου σχετίζονται με αυτό το σφάλμα, την κατανομή του για τις διάφορες ενώσεις (αντικείμενα) και το μέγε-

θος του σε σχέση με την τυπική απόκλιση του μοντέλου. Στην τελευταία περίπτωση εξετάζεται αν η συγκεκριμένη ένωση πρέπει να εξαχθεί από το μοντέλο ως έκτροπη τιμή και να διερευνηθούν οι λόγοι μη προσαρμογής της στο μοντέλο.

Η τελική μορφή μιας κλασσικής σχέσης QSAR/QSPR αποδίδεται με την εξίσωση

$$Y = a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + \dots + a_j x_j + e_i$$

Φυσικά, ανάλογα με τη μέθοδο που ακολουθείται η τελική σχέση μπορεί να έχει αρκετά πολύπλοκη δομή, οι τιμές των j περιγραφικών μεταβλητών να έχουν προηγούμενως συνθέσει άλλες μεταβλητές με ικανότητα εκπροσώπησης, ενώ χρησιμοποιούνται και μη γραμμικές σχέσεις, ειδικά για πολύπλοκα βιολογικά συστήματα.

5. Η ανάπτυξη σχέσεων QSPR/QSAR

Η ανάπτυξη των σχέσεων ξεκινάει από το σαφή ορισμό του στόχου. Αυτός θα καθορίσει και την μεταβλητή απόκρισης για το μοντέλο και θα καθορίσει και την καταλληλότητα ενώσεων να συμμετάσχουν στη δημιουργία του.

Η απόκριση Y που ενδιαφέρει και αναλύεται στο μοντέλο μπορεί να αποδίδεται με μια αριθμητική μεταβλητή, η οποία συσχετίζεται με περιγραφικές μεταβλητές. Μια διαφορετική εκδοχή είναι η μελετώμενη απόκριση να μη μπορεί να αποδοθεί από μια μόνο μεταβλητή αλλά να περιγράφεται από ένα σύστημα μεταβλητών απόκρισης, ενώ μια τρίτη εκδοχή είναι να μην ενδιαφέρει η μελέτη μιας αριθμητικής απόκρισης αλλά μιας ποιοτικής που διαφοροποιεί τις ενώσεις/ουσίες και τις χωρίζει σε διακριτές ομάδες (π.χ. δραστικές ενώσεις / αδρανείς ενώσεις).

Η επιλογή της κατάλληλης μεταβλητής απόκρισης Y επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητα του μοντέλου και μπορεί να απαιτηθεί μαθηματική μετατροπή/μορφοποίηση της πριν την ανάλυση (π.χ. μετατροπή σε λογαριθμική μορφή). Η μεταβλητή απόκρισης είναι σημαντικό να είναι υψηλής ακρίβειας. Εξυπακούεται ότι το τελικό μοντέλο δε μπορεί να παρουσιάσει ακρίβεια μεγαλύτερη από αυτή με την οποία προκύπτει η μεταβλητή απόκρισης. Εάν η μέθοδος με την οποία πειραματικά έχει προσδιοριστεί η μεταβλητή απόκρισης έχει για παράδειγμα 1% σφάλμα, τότε η τιμή e στην τελική εξίσωση πρέπει να είναι αυτής (στη βέλτιστη περίπτωση) ή μεγαλύτερης τά-

ξεως μεγέθους. Διαφορετικά, μέρος του σφάλματος της μεθόδου προσδιορισμού έχει εισαχθεί στο μοντέλο ως πραγματική πληροφορία.

Για την κατασκευή ενός ικανοποιητικού μοντέλου απαιτείται η χρήση, κατά την εκπαίδευση/ανάπτυξη του, ενώσεων που είναι επαρκώς όμοιες. Θα πρέπει δηλαδή, στην ευνοϊκότερη για το χρήστη περίπτωση, να είναι σε μεγάλο βαθμό κοινός ο μηχανισμός με τον οποίο προκύπτει η μεταβλητή απόκρισης για το σύστημα. Ωστόσο, η ετερογένεια ανάμεσα στις ενώσεις δεν είναι πάντα αρνητική, αρκεί να την επιτρέπει το υπο μελέτη φαινόμενο. Π.χ μια μελέτη QSAR της δράσης σε έναν υποδοχέα απαιτεί δομικώς συγγενείς ενώσεις που αλληλεπιδρούν με παρόμοιο τρόπο, αντίθετα η διαπερατότητα μεμβρανών ως παθητικό φαινόμενο, ή η χρωματογραφική συγκράτηση σε μελέτες QSPR, επιτρέπουν ετερογένεια στη σειρά εκπαίδευσης. Γενικά η ομοιότητα των ενώσεων (αντικειμένων) είναι κάτι το σχετικό, αφού αναφέρεται σε ομοιότητα ως προς το μηχανισμό που αφορά στην εξαγωγή της μεταβλητής απόκρισης.

Στην περίπτωση δομικώς συγγενών ενώσεων λαμβάνεται τοπικό μοντέλο (local model) με στενό πεδίο εφαρμογής (applicability domain). Αντίθετα η ετερογένεια ανάμεσα στις ενώσεις προσδίδει στην ομάδα εκπαίδευσης μεγαλύτερη αντιπροσωπευτικότητα ως προς το συνολικό πληθυσμό, μπορεί να βοηθήσει στη μελέτη και καλύτερη κατανόηση του φαινομένου και τελικά δίνει στο μοντέλο καλύτερη προβλεπτική ικανότητα σε μεγαλύτερο εύρος ενώσεων και μπορεί να οδηγήσει σε πιο γενικό μοντέλο (global model)²⁴⁻²⁶. Εάν το μοντέλο υποδείξει ότι κάποιες ενώσεις διαφοροποιούνται σημαντικά ως προς το μηχανισμό με τον οποίο εξάγεται η απόκριση, και δε μπορεί αυτή επαρκώς να αιτιολογηθεί από το μοντέλο, τότε αφαιρούνται από αυτό ως έκτροπες τιμές γιατί μονάχα θα το επιβαρύνουν.

Αφού καθοριστεί ο στόχος και εκφραστεί με μια μεταβλητή απόκρισης, πρέπει να δημιουργηθεί ο πίνακας των περιγραφικών μεταβλητών X. Τέτοιες μεταβλητές μπορεί να είναι φυσικοχημικές/μοριακές ιδιότητες πειραματικές ή υπολογιζόμενες με διάφορα λογισμικά (π.χ. λιποφιλία, διαλυτότητα, ηλεκτρονιακές ιδιότητες, κλπ) δομικά χαρακτηριστικά των ενώσεων (π.χ. παρουσία συγκεκριμένων ετεροατόμων, αριθμός βαριών ατόμων, παρουσία διπλών δεσμών

κλπ) μαθηματικές μεταβλητές που αντανakλούν μοριακές ιδιότητες αλλά προκύπτουν από αλγόριθμους (τοπολογικοί δείκτες). Οι περιγραφικές μεταβλητές είναι δυνατόν να προκύπτουν με βάση δισδιάστατες ή τρισδιάστατες απεικονίσεις των μορίων (μοριακός όγκος, διάμετρος, προβαλλόμενη επιφάνεια) ενώ μπορεί να αποτελούν και πειραματικά ευρεθείσες αποκρίσεις σε δοκιμασίες¹⁶. Η αξία των μεταβλητών αυτών κρίνεται από την αξιοπιστία με την οποία προκύπτουν και έπειτα, στη πράξη, από τη συσχέτιση που έχουν με τη μελετώμενη ιδιότητα ή τη συμμετοχή τους στο δημιουργούμενο μοντέλο. Έτσι σε όλες τις μεθόδους QSAR/QSPR περιγράφονται μεθοδολογίες εισαγωγής και αφαίρεσης μεταβλητών, έτσι ώστε να προκύψει τελικά ένα μοντέλο καλών χαρακτηριστικών που δε συντηρεί περιττές μεταβλητές.

Η συνεχής ανάπτυξη της υπολογιστικής χημείας και των κατάλληλων λογισμικών μας παρέχει πλέον με ευκολία πληθώρα περιγραφικών μεταβλητών.

Προγράμματα όπως το Marvin Suite, το ChemBioDraw, το HyperChem, κλπ. προσφέρουν τη δυνατότητα σχεδιασμού τρισδιάστατων μοντέλων χημικών μορίων, βελτιστοποίησης δομής και υπολογισμού μοριακών χαρακτηριστικών όπως μοριακή επιφάνεια, μοριακός όγκος, μοριακή πολωσιμότητα, λιποφιλία, διαλυτότητα, μερικά φορτία, διπολική ροπή κλπ και παραμέτρους ενέργειας όπως Energy HOMO, Energy LUMO, Ηλεκτροστατικά δυναμικά κλπ. Σε αυτή την κατηγορία προγραμμάτων τα μοριακά χαρακτηριστικά υπολογίζονται κατά κύριο λόγο με βάση καθιερωμένα φυσικοχημικά μοντέλα/εξισώσεις που αποτελούν ημι - εμπειρικά μοντέλα ή προκύπτουν με εφαρμογή κβαντομηχανικής. Η δομή εισάγεται είτε σχεδιαστικά ή με τη μορφή της γραφής SMILES (Simplified molecular - input line - entry system). Τα λογισμικά ενσωματώνουν προγράμματα απόδοσης τρισδιάστατης δομής όπως το CORINA²⁷ για την εύρεση συντεταγμένων θέσης στο χώρο για τα άτομα^{28,29}. Παράλληλα υπάρχουν λογισμικά όπως τα Dragon, JOELib, ADAPT, BioMedCache, GAMESS, τα οποία υπολογίζουν περιγραφικές μεταβλητές που στηρίζονται στη θεωρία γράφων (graph theory). Η θεωρία γράφων αφορά στο δισδιάστατο σκελετό των μορίων (χωρίς να λαμβάνονται υπ' όψη τα υδρογόνα) και αποδίδει σχέσεις μεταξύ ατόμων ανάλογα με τα μονοπάτια (δεσμούς, διακλαδώσεις) που παραβάλλ-

λοντα. Κατασκευάζεται έτσι σύστημα αποτελούμενο από κόμβους/σημεία και συνδέσμους/πτυχές. Τα άτομα απεικονίζονται με σημεία και οι σχέσεις τους με συνδέσμους (μονοπάτια)³⁰⁻³¹. Προκύπτουν τοπολογικές μεταβλητές όπως δείκτες συνδετικότητας, δείκτες μοριακής πυκνότητας και συμμετρίας, δείκτες σχετικών ατομικών αποστάσεων, διακλαδώσεων/πλευρικών αλυσίδων, σχετικής ατομικής σύστασης κλπ.³².

Ενώ όμως η πρόσβαση στην πληροφορία είναι εύκολη, η διάκριση τελικά της χρήσιμης πληροφορίας και η σωστή εφαρμογή της παραμένει ιδιαίτερα κρίσιμη. Συχνά απαιτείται προηγούμενη ζύγιση/εξομάλυνση των τιμών που θα απαγορεύσει σε μεταβλητές με πολύ υψηλή διαφοροποίηση ή αριθμητικά μεγέθη να επικρατήσουν στο μοντέλο. Περιγραφικές μεταβλητές που εκφράζουν εμφανώς ή εξ ορισμού την ίδια ιδιότητα δε πρέπει να χρησιμοποιούνται παράλληλα, ενώ αποκλείονται πάντα και αυτές που βρίσκονται να έχουν αμελητέα συμμετοχή στο μοντέλο, ή παρουσιάζουν πολύ μικρή διακύμανση¹⁶. Επιπλέον είναι δυνατόν να απαιτείται μετατροπή των δεδομένων για την απλούστευση των σχέσεων, οι οποίες συχνά είναι πολύπλοκες, σε γραμμική μορφή που είναι πιο «φιλική» για την ερμηνεία των μοντέλων QSAR/QSPR.

Σημαντικό κατά την ανάπτυξη των σχέσεων QSAR/QSPR είναι να αποφευχθεί το φαινόμενο της υπερεκπαίδευσης του μοντέλου. Στην περίπτωση αυτή το μοντέλο έχει μορφοποιηθεί αποκλειστικά γύρω από τη πρόβλεψη των τιμών των ενώσεων - εκπαίδευσης και έχει σε μεγάλο βαθμό περιττή πληροφορία, μηδενική ελευθερία και περιορισμένη πραγματική προβλεπτική ικανότητα. Γενικά μεταξύ διαφορετικών μοντέλων με ανάλογα στατιστικά στοιχεία προτιμάται το απλούστερο, αυτό δηλαδή με τις λιγότερες παραμέτρους.

6. Μέθοδοι και μοντελοποίηση

Δεδομένου ότι τα ζητήματα που εξετάζει η φαρμακευτική χημεία και ανάλυση αναφέρονται συνηθέστερα σε πολυπαραγοντικά συστήματα και διεργασίες, οι μέθοδοι που ενδιαφέρουν είναι σαφώς πολυπαραμετρικές, ενώ σε δεύτερο επίπεδο εξετάζεται η ανάγκη να είναι γραμμικές ή επιβλεπόμενες ή μη επιβλεπόμενες⁴.

6.1 Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (MLR)

Μια ευρύτατα χρησιμοποιημένη μέθοδος στην κατηγορία των πολυπαραμετρικών μεθόδων που βασίζονται στην παλινδρόμηση, είναι η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση **MLR** (**m**ultiple **l**inear **r**egression). Πρόκειται για επιβλεπόμενη γραμμική μέθοδο που αποδίδει, με τη χρήση αξόνων που εκφράζουν τις περιγραφικές μεταβλητές, την διασπορά των σημείων στο χώρο, όπως αυτή προκαλείται από τη μεταβλητή απόκρισης.

Έστω $\hat{X}$, ο πίνακας δεδομένων για τη μέθοδο που αποτελείται από i : αντικείμενα/ενώσεις και j : περιγραφικές μεταβλητές (διαστάσεις $i \times j$) και έστω πίνακας $\hat{Y}$, ο πίνακας δεδομένων απόκρισης που για τη μέθοδο αυτή αποτελείται από μόνο μια στήλη (διαστάσεις $i \times 1$). Η διαδικασία κατασκευάζει εξισώσεις της μορφής:

$$y_{(pred)i} = \beta_{0,i} + \beta_{1,i} X_{1,i} + \beta_{2,i} X_{2,i} + \dots + \beta_{j,i} X_{j,i}$$

με κριτήριο τα τετράγωνα των διαφορών υπολογιστικών και πειραματικών τιμών y να τείνουν στο 0, (μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων) ώστε να ελαχιστοποιούνται τα υπόλοιπα e_i^2 "όπου" $e_i = y_i - y_{pred,i}$

Η μέθοδος αυτή έχει **χαμηλή ανοχή σε αλληλοσυσχέτιση μεταβλητών**. Απαιτεί δηλαδή οι περιγραφικές μεταβλητές X να είναι κατά το δυνατό μεταξύ τους ανεξάρτητες. Διαφορετικά θα διαλέξει k : $0 < k \leq j$ αριθμό μεταβλητών με κριτήριο ένα όριο μέγιστης δυνατής ανεξαρτησίας τους^{33,34}. Η ανεξαρτησία δύο μεταβλητών, έστω k_1, k_2 , ελέγχεται με βάση τον συντελεστή συσχέτισης του Pearson, r όπου:

$$r = \frac{Cov(k_1, k_2)}{std(k_1) \times std(k_2)}$$

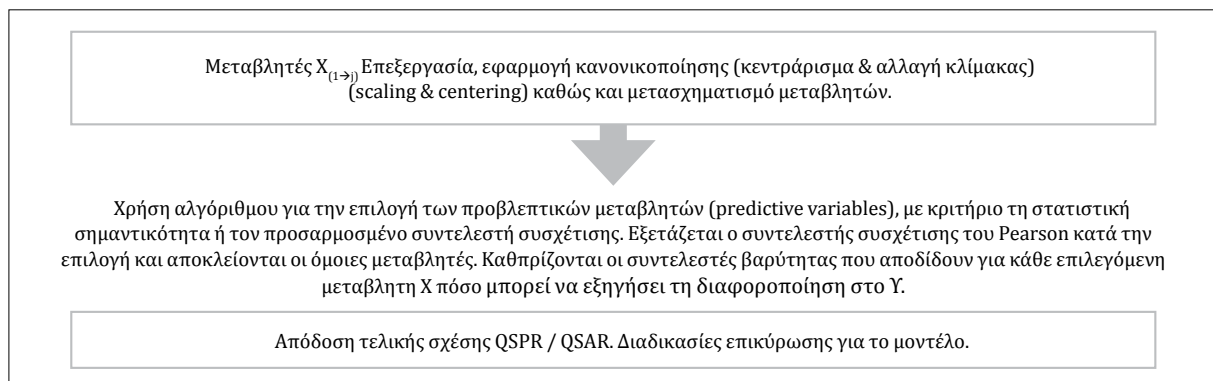
Ο συντελεστής συσχέτισης μπορεί να πάρει τιμές εντός του πλαισίου $[-1, 1]$ με προτιμότερες τιμές για την ανεξαρτησία των μεταβλητών πολύ κοντά στο μηδέν³⁵.

Ένας δεύτερος δείκτης ανίχνευσης συσχέτισης μεταξύ μεταβλητών, είναι ο δείκτης τ του Kendall οριζόμενος ως:

$$\tau = \frac{(number\ of\ concordant\ pairs) - (number\ of\ discordant\ pairs)}{1/2 n(n-1)}$$

Τα αναφερόμενα ζεύγη θεωρούνται συγκλίνοντα (concordant) ή αποκλίνοντα (discordant). Για τυχαία αντικείμενα a, b δημιουργούνται ζεύγη $\{k_{1,a}, k_{2,a}\}$ και $\{k_{1,b}, k_{2,b}\}$

Το κριτήριο με το οποίο ορίζονται τα συγκλίνοντα



Σχήμα 1: Τυπικό διάγραμμα διεργασιών για τη μέθοδο MLR

και αποκλίνοντα ζεύγη είναι: αν $k_{1,a} > k_{1,b}$ και ταυτόχρονα $k_{2,a} > k_{2,b}$, τα ζεύγη είναι συγκλίνοντα γιατί η φορά των ανισοτήτων είναι ίδια, στην αντίθετη περίπτωση τα ζεύγη θεωρούνται αποκλίνοντα.

Το προτέρημα του δείκτη t είναι η απεμπλοκή του από υποθέσεις σχετικά με την κανονικότητα του πληθυσμού των τιμών της κάθε μεταβλητής³⁶.

Ακολουθώντας, εξαιρώντας τις αλληλοσυσχετιζόμενες μεταβλητές μέθοδος της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης επιλέγει έναν αριθμό, έστω k , από τις μεταβλητές που εισάγονται στο σύστημα. Για την επιλογή αυτών, δοκιμάζει τις μεταβλητές και επιλέγει αυτές που με γραμμική συσχέτιση μπορούν να προβλέψουν την απόκριση Y , αφήνοντας τα μικρότερα υπόλοιπα. Το μέγεθος των συντελεστών παλινδρόμησης (regression coefficients) β είναι μάλιστα ενδεικτικό της συμμετοχής των επιλεγμένων μεταβλητών στον υπολογισμό του Y . Η συμμετοχή των μεταβλητών είναι καλύτερα αξιολογήσιμη στην standardized μορφή τους (εάν θεωρηθεί τομή ίση με το 0). Παράλληλα η σπουδαιότητα των μεταβλητών αξιολογείται με τις στατιστικές t (Student test) και τη σημαντικότητα (significance) για την υπόθεση: $H_0: \beta_k = 0$.

Τα περισσότερα λογισμικά προγράμματα περιλαμβάνουν αλγόριθμους σχετικά με την επιλογή των μεταβλητών για το μοντέλο με συνηθέστερα χρησιμοποιούμενους τις επιλογές enter (εισαγωγή όλων) και stepwise (σταδιακή εισαγωγή). Κριτήριο για την εισαγωγή είναι η διαμορφούμενη τιμή F εισόδου F_{in} (Fisher - Snedecor's test) με κατώτατη οριακή τιμή συνήθως 3,84, ή η πιθανότητα εισόδου P_{in} με ανώτατη οριακή τιμή 0,05. Η επιλογή backward χρησιμοποιεί αρχικά όλες τις διαθέσιμες παραμέτρους και ακολουθώντας αφαι-

ρεί σταδιακά αυτές που δεν επηρεάζουν το μοντέλο στη βάση της F -αφαίρεσης (F -to-remove) και της πιθανότητας αφαίρεσης (P -to-remove) με κατώτατες και ανώτατες οριακές τιμές 2,71 και 0,01 αντίστοιχα.

Η μαθηματική μορφή της στατιστικής Fisher - Snedecor's³⁷, όταν συγκρίνει δύο μοντέλα με k και k' αριθμό μεταβλητών, είναι:

$$F = \frac{\frac{\sum(e_{i,k})^2}{k' - k} - \frac{\sum(e_{i,k'})^2}{j - k'}}{\frac{\sum(e_{i,k'})^2}{j - k'}}, \text{ όπου } (k' - k, j - k') \text{ βαθμοί ελευθερίας}$$

Κλασικά στατιστικά στοιχεία για την ανάπτυξη του μοντέλου αποτελούν ο συντελεστής συσχέτισης r (ή r^2) και ο προσαρμοσμένος ως προς τους βαθμούς ελευθερίας συντελεστής συσχέτισης r^2_{adj} , καθώς η τυπική απόκλιση s .

Στο **Σχήμα 1** συνοψίζονται οι διεργασίες για την ανάπτυξη μοντελου με την μέθοδο της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης.

Η χρήση της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης συνήθως περιορίζεται για τη μελέτη σχέσεων/μοντέλων χαμηλής πολυπλοκότητας ή για την απόδοση πιο εύχρηστων μορφών σε μοντέλα που έχουν προκύψει από πολυπλοκότερες μεθόδους. Ειδικά σε βιολογικά συστήματα ή σύνθετες διεργασίες/φαινόμενα δεν μπορούν πάντα να περιγραφούν από απλές ανεξάρτητες γραμμικές σχέσεις³⁸.

Η χρήση της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης απαιτεί τελικούς πίνακες σαφώς πλουσιότερους σε αριθμό αντικειμένων (ενώσεων) απ' ό,τι σε αριθμό περιγραφικών μεταβλητών. Σημαντικό μειονέκτημα είναι η απαίτηση για ανεξαρτησία μεταξύ των μεταβλητών καθώς και για ακρίβεια στις τιμές των μεταβλητών.

6.2 Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (PCA)³⁹⁻⁴¹

Μια άλλη μέθοδος με ευρεία εφαρμογή, ακόμα και σε προκαταρκτικό επίπεδο, είναι η ανάλυση κύριων συνιστωσών **PCA** (**P**rin**C**ipal **C**omponent **A**nalysis). Με βάση την κυριότερη εφαρμογή της κατατάσσεται στις πολυπαραμετρικές, γραμμικές, μη επιβλεπόμενες μεθόδους. Αυτή η εφαρμογή αφορά στη διερεύνηση για ύπαρξη ομάδων (σμηνών) εντός δεδομένου δείγματος αντικειμένων καθώς και ανάλυση της συμβολής των μεταβλητών X στην περιγραφή της κάθε ομάδας⁴².

Ένα βασικό σημείο στο οποίο διαφέρει η μέθοδος αυτή από τη πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση είναι ότι οι μεταβλητές X δε συμμετέχουν αυτές καθ'εαυτές στην τελική σχέση, αλλά δημιουργούν μέσω γραμμικών συνδυασμών Κύριες Συνιστώσες, οι οποίες αποτελούν τους νέους άξονες όπου προβάλλονται τα σημεία. Οι Κύριες Συνιστώσες ερμηνεύουν την πληροφορία που περιέχει ο πίνακας X δεδομένων με διαστάσεις $i \times j$, όπου i ο αριθμός των αντικειμένων/ενώσεων και j ο αριθμός των περιγραφικών μεταβλητών. Για να επιτευχθεί αυτό η PCA μειώνει την πολυπλοκότητα του συστήματος προβάλλοντας τα σημεία από τον πίνακα των j διαστάσεων σε ένα πίνακα που ορίζεται από p νέες διαστάσεις, που εμπεριέχουν όσο το δυνατόν μεγαλύτερο ποσοστό της πληροφορίας του πίνακα X . Οι προβολές έχουν συντεταγμένες t , όπου $t_{j(i)} = x_i \times w_j$, όπου w_j ιδιοδιανύσματα (eigenvalues) και προκύπτουν με τρόπο που τους επιτρέπει να κληρονομήσουν τη πληροφορία των x_i , ερμηνεύοντας τη μέγιστη δυνατή διακύμανση υπό τον περιορισμό ότι το άθροισμα των τετραγώνων των βαρών w ισούται με 1. Θεωρητικά ο μέγιστος αριθμός των κυρίων συνιστωσών ταυτίζεται με τον αριθμό των αρχικών μεταβλητών, επιλέγεται ωστόσο ένας περιορισμένος αριθμός που ερμηνεύει το μέγιστο δυνατό ποσοστό της διακύμανσης. Το μέγεθος της ερμηνευόμενης διακύμανσης εκφράζεται με την ιδιοτιμή (eigenvalue) της κύριας συνιστώσας, η οποία αντιστοιχεί στο μήκος της. Επιλέγονται κατά συνέπεια οι κυριές συνιστώσες οι οποίες έχουν τη μεγαλύτερες ιδιοτιμές⁴³.

Οι δύο πίνακες που κατασκευάζονται κατά τη διεργασία αυτή είναι οι πίνακες W και T . Ο πίνακας T έχει διαστάσεις $i \times p$, ενώ ο W έχει διαστάσεις $p \times j$, με τη συνθήκη για τον αριθμό των νέων μεταβλητών που αποτελούν τις κύριες συνιστώσες (principal

components, PCs) $0 < p \leq j$. Ο T ονομάζεται πίνακας συντεταγμένων (scores), ενώ ο W πίνακας φορτίων ή βαρών (loadings). Ανάλογα με το λογισμικό ο πίνακας W συμβολίζεται και ως P .

Η διαδικασία μαθηματικά αναλύεται ως εξής, ξεκινώντας από τη πρώτη κύρια συνιστώσα w_1 :

$$\Delta \text{εδομένου ότι θέλουμε } t \rightarrow x, \text{ πρέπει } w_1 = \arg \max_{\|w\|=1} \{\sum_i (t_1)_{(i)}^2\},$$

$$\text{το οποίο ισοδυναμεί με: } w_1 = \arg \max_{\|w\|=1} \{\sum_i (x_i \times w)^2\},$$

και μπορεί να αποδοθεί με τη μορφή πινάκων ως:

$$w_1 = \arg \max_{\|w\|=1} \{\|Xw\|^2\} = \arg \max_{\|w\|=1} \left\{ \frac{w^T \times (X^T \times X) \times w}{w^T \times w} \right\},$$

σε αυτή την τελευταία όμως μορφή μπορούν να παρατηρηθούν τα παρακάτω:

$w^T \times w = 1$, διότι η παραδοχή θέλει το w να είναι μοναδιαίου μήκους $\|w\|=1$, και τον αριθμητή του κλάσματος $w^T \times (X^T \times X) \times w$, να είναι ένα πηλίκο Rayleigh^{44,45}. Ο πίνακας $X^T \times X$ είναι ουσιαστικά ο εμπειρικός πίνακας συνδιακύμανσης (empirical covariance table) για τα δεδομένα του πίνακα X ⁴⁶.

$$\text{Cov}(X) = X^T X = \begin{bmatrix} c_{(1,1)} & c_{(1,2)} & \dots & c_{(1,j-1)} & c_{(1,j)} \\ c_{(2,1)} & c_{(2,2)} & & c_{(2,j-1)} & c_{(2,j)} \\ \vdots & & \ddots & & \vdots \\ c_{(j-1,1)} & c_{(j-1,2)} & \dots & c_{(j-1,j-1)} & c_{(j-1,j)} \\ c_{(j,1)} & c_{(j,2)} & & c_{(j,j-1)} & c_{(j,j)} \end{bmatrix}$$

Αυτό δηλαδή που δείχνει η σχέση αυτή είναι ότι προκειμένου τα στοιχεία t να προσεγγίζουν τα x , πρέπει να πάρουν τη διακύμανση τους. Ένα άλλο ενδιαφέρον σημείο αυτού του πίνακα είναι ότι εάν η διαδικασία έχει συμπεριλάβει διεργασίες τυπικής εξομάλυνσης των δεδομένων για τις περιγραφικές μεταβλητές (διεργασίες που θα αναλυθούν αργότερα στη παράγραφο για τις περιγραφικές μεταβλητές) τότε ο πίνακας αυτός ταυτίζεται με τον πίνακα συσχέτισης (correlation table)⁴⁷.

$$R(x) = \begin{bmatrix} r_{(1,1)} & r_{(1,2)} & \dots & r_{(1,j-1)} & r_{(1,j)} \\ r_{(2,1)} & r_{(2,2)} & & r_{(2,j-1)} & r_{(2,j)} \\ \vdots & & \ddots & & \vdots \\ r_{(j-1,1)} & r_{(j-1,2)} & \dots & r_{(j-1,j-1)} & r_{(j-1,j)} \\ r_{(j,1)} & r_{(j,2)} & & r_{(j,j-1)} & r_{(j,j)} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & r_{(1,2)} & \dots & r_{(1,j)} \\ r_{(2,1)} & 1 & & r_{(2,j)} \\ \vdots & & \ddots & \vdots \\ r_{(j,1)} & \dots & 1 & r_{(j,j-1)} \\ r_{(j,j-1)} & & & 1 \end{bmatrix}$$

Ο πίνακας είναι συμμετρικός και ικανοποιεί τη συνθήκη για την επίλυση του προβλήματος με συνθήκες διαδικασίες για αυτά τα πηλίκια (γενικής μορφής $R(M, x)$), όπως επίσης το w είναι μη αρνητικό, όπως απαιτείται να είναι.

Αποδεικνύεται ότι οι λύσεις για το πηλίκο είναι λ , με $\lambda_{\min}$, τη μικρότερη ιδιοτιμή (eigenvalue) του συμ-

μετρικού πίνακα και αντίστοιχα $\lambda_{\max}$, τη μέγιστη να συμβαίνει όταν το διάνυσμα x γίνεται ιδιοδιάνυσμα (eigenvector) w_1 .

Οι λύσεις αυτές για διαδικασίες πραγματικών δεδομένων δίνονται συνήθως με χρήση της μεθόδου των πολλαπλασιαστών του Lagrange, που μετατρέπει το πηλίκιο σε μια συνάρτηση

$$L(x) = x^T M x - \lambda(x^T x - 1),$$

όπου λ : ο πολλαπλασιαστής Lagrange και συχνά $\hat{\lambda}$: ο διαγώνιος πίνακας με τιμές τα λ . Το μέγιστο αυτής της συνάρτησης βρίσκεται με εύρεση της λύσης που μηδενίζει την παράγωγο της (ακρότητα).

$$\frac{dL(x)}{dx} = 0 \rightarrow 2x^T M^T - 2\lambda x^T = 0 \rightarrow x^T M^T = \lambda x^T \rightarrow Mx = \lambda x,$$

με αντικατάσταση:

$$R(M, x) = \frac{x^T M x}{x^T x} = \lambda \frac{x^T x}{x^T x} = \lambda$$

Οι λύσεις είναι τα ιδιοδιανύσματα του πίνακα x , $x_1, x_2, \dots, x_p$ (ή με το δικό μας προηγούμενο συμβολισμό $w_1, w_2, \dots, w_p$) με σταθερές τιμές για αυτά, τις ιδιοτιμές τους $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_p$. Η επιλογή της κύριας συνιστώσας θα γίνει με βάση το μέγεθος της ιδιοτιμής λ , και κατά τη διαδικασία αυτή τα ιδιοδιανύσματα θα αντιστοιχιστούν στις ιδιοτιμές τους και θα καταταγούν με σειρά μεγέθους αυτών. Ακολουθώντας τη διαδικασία συνεχίζει για να ορίσει μία δεύτερη συνιστώσα. Η συνιστώσα w_2 , για την οποία (και κάθε άλλη επόμενη) εισάγεται κριτήριο ανεξαρτησίας ως προς τη προηγούμενη: $w_1 \perp w_2$ ή $w_2 w_1^T = 0$.

Προτού όμως γίνει αυτό, δημιουργείται κάθε φορά νέος πίνακας X , όπου:

$$\widehat{X}_{(p)} = X - \sum_1^{(p-1)} x w_{(p-1)} w_{(p-1)}^T$$

με p : γενικά τον αριθμό των κύριων συνιστωσών

Αυτός είναι και ο λόγος που η διαδικασία είναι ανθεκτική στην ύπαρξη δεδομένων που συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό και πιθανώς εμείς το αγνοούμε.

Οι επόμενες συνιστώσες θα ψάξουν για διαφορετική διακύμανση/πληροφορία εντός των μεταβλητών του πίνακα. Αυτή η τακτική καθορισμού των κύριων συνιστωσών και των φορτίων/βαρών τους, οδηγεί σε μεγιστοποίηση της διακύμανσης (variance - maximizing) που παρουσιάζουν τα δεδομένα.

Εναλλακτικά ο καθορισμός των ιδιοδιανυσμάτων $\vec{w}_{(p)}$ ή $PC_{(p)}$ μπορεί να γίνει με τακτική που στοχεύει να βελτιστοποιήσει τις τιμές των στοιχείων τους $w_{(p,i)}$

προκειμένου το μοντέλο να αφήνει κατά το δυνατό μικρότερα υπόλοιπα (least - squares optimality). Εδώ η επιλογή των w σαφώς και επηρεάζεται επίσης από τις ιδιοτιμές, αλλά το κριτήριο των υπολοίπων απαιτεί να βρεθούν οι λύσεις με βάση την εξίσωση ελαχίστων τετραγώνων. Δηλαδή:

$$\sum_1 (X_{(i,j)} \times w_j) = t_i$$

με ζητούμενο ουσιαστικά το $\vec{w}_{(p)}$ ή $PC_{(p)}$ που θα έχει βάρη w_j τέτοια ώστε:

$$\vec{w} = \arg \min \left\{ \sum_1^i \left| t_i - \sum_1^j X_{(i,j)} w_j \right|^2 \right\} = \arg \min \{ \|t - Xw\|^2 \}$$

Το μοντέλο δημιουργεί τους πίνακες με τα ιδιοδιανύσματα και τους ανακατασκευάζει στοιχίζοντας και εδώ τα ιδιοδιανύσματα με σειρά μειούμενης ιδιοτιμής. Η αποτελεσματικότητα του μοντέλου κρίνεται με το πηλίκιο:

$$(\lambda_{(p+1)} + \dots + \lambda_j) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_j)$$

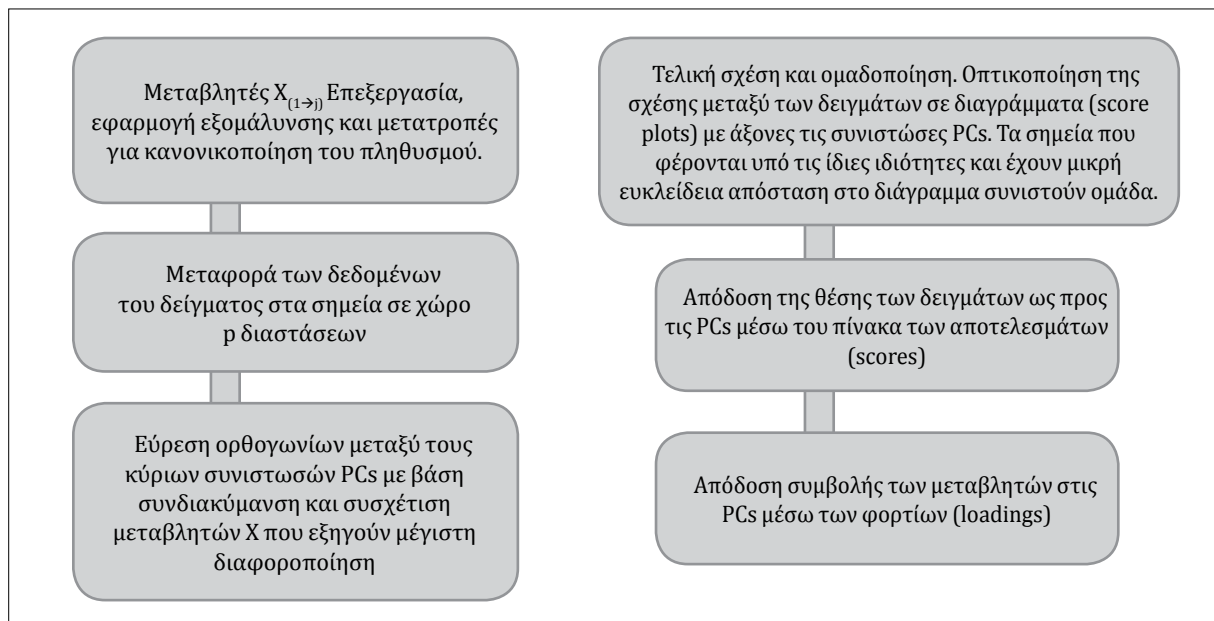
που εύκολα φαίνεται ότι αποδίδει το ποσοστό που η διαδικασία πέταξε από το μοντέλο έναντι της ολικής διαφοροποίησης που μπορούσε να αποδοθεί. Εδώ ουσιαστικά η PCA κατευθύνεται στο να αποδώσει έναν κανόνα για το τι κατά κύριο λόγο συνθέτει τις μεταβλητές X (η μορφή αυτή ανάλυσης, εάν απεμπλακεί από το κριτήριο ορθοκανονικότητας των συνιστωσών, οδηγεί στην παραγοντική ανάλυση - factorial analysis, σε πολλά προγράμματα οι δύο μέθοδοι δε διαφοροποιούνται και τελικά σε μεγάλο βαθμό δίνουν ίδια αποτελέσματα)^{4,48}.

Σε κάθε περίπτωση η διαδικασία δημιουργεί τελικά έναν πίνακα, όπως αναφέρθηκε T , όπου:

$$X = T \times W^T (+E) \quad (\text{ή } X = T \times P^T (+E))$$

Ο πίνακας E πρακτικά πάντα υπάρχει, αφού θα ήταν μάλλον μη ρεαλιστικό να ισχυριστεί κανείς πως έχει δεδομένα ελεύθερα τυχαίων σφαλμάτων/θορύβου και περιγραφικές μεταβλητές ικανές να εξηγήσουν πλήρως την πληροφορία στο X .

Πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι από το σύνολο των κύριων συνιστωσών p που μπορούν να δημιουργηθούν από τη διαδικασία δεν είναι απαραίτητο ότι όλες θα είναι σημαντικές, αφού είναι προφανές ότι καθώς εξαλείφεται πληροφορία από το X η διαδικασία θα προσπαθήσει να εισάγει και τυχαία διακύμανση στο μοντέλο να είναι συστηματική πληροφορο-



Σχήμα 2: Τυπικό διάγραμμα εργασιών για τη μέθοδο PCA

ρία, πράγμα αθέμιτο. Τα περισσότερα προγράμματα παρέχουν για αυτό το λόγο στο χρήστη ικανότητα να ορίσει το πλήθος των συνιστωσών που θέλει να παραχθούν ή να αφαιρέσει από το τέλος συνιστώσες.

Οι συνιστώσες που προκύπτουν μπορούν να γραφούν υπό τη μορφή:

$$PC_1 = w_{(0,j)}^T X_{(i,p)} = w_{0,1}x_{(i,1)} + w_{0,2}x_{(i,2)} + \dots + w_{0,j}x_{(i,p)},$$

πχ. για τη 1^η συνιστώσα και πάντοτε

$$-1 < w_{(p,j)} < 1, \sum_1^j w_{(p,j)} = 1 \text{ για κάθε PC.}$$

Εκτίμηση του μοντέλου με βάση αυτές γίνεται και από το χρήστη μετά την υπολογιστική εξαγωγή τους με κριτήρια όπως το **διάγραμμα διαλογής (Scree plot)**, το οποίο αναπαριστά τον αριθμό των συνιστωσών στο μοντέλο έναντι των ιδιοτιμών τους. Το διάγραμμα αυτό απεικονίζει μια συνήθως απότομη φθίνουσα πορεία καθώς το p αυξάνεται, με βάση την οποία χρησιμοποιούνται οι τιμές πριν την απότομη αύξηση της κλίσης στη γραφική παράσταση αλλά και η πρώτη μετά αυτή. Υπάρχουν ταυτόχρονα και κριτήρια που θέτουν καθαρά και μόνο όριο αριθμητικού μεγέθους για τα λ που θα έχουν οι συνιστώσες που θα κρατηθούν στο μοντέλο, συννηθέστερο είναι το $if: \lambda_p < 2 \rightarrow PC_p \text{ rejection}$, (ελαστικότερο αυτού είναι κριτήριο για απόρριψη τιμής $\lambda_p < 1$)⁴⁹.

Τελικά η πληροφορία των διεργασιών της PCA,

όπως και αν επιλέξαμε να τη χειριστούμε, αποδίδεται σε φιλική προς το χρήστη μορφή μέσω γραφημάτων.

Το ένα γράφημα είναι το **γράφημα φορτίων (loadings plot)**, το οποίο εξάγεται από τον πίνακα W που έχει αναφερθεί παραπάνω, και δίνει πληροφορίες για τις σχέσεις των μεταβλητών μεταξύ τους.

Το δεύτερο, είναι το **γράφημα συντεταγμένων (scores plot)**, το οποίο εξάγεται από τον πίνακα T , με τις τιμές του όπως αναλύθηκε παραπάνω να καθορίζονται από το γινόμενο $X_{(i,j)} \times W_{(i,p)}$. Το γράφημα συντεταγμένων παρουσιάζει τα σημεία των ενώσεων στο νέο χώρο που όρισαν οι PCs και δίνει πληροφορίες για τη σχέση των αντικειμένων (ενώσεων, δειγμάτων) μεταξύ τους και αποκαλύπτει ύπαρξη ομάδων (ομοιογένεια - ετερογένεια, βαθμό συγγένειας κτλ.)²³.

Σε περιπτώσεις που είναι σαφής η διαφοροποίηση ανάμεσα στα αντικείμενα, η PCA μπορεί να κάνει ικανοποιητική διάκριση ομάδων εντός του δείγματος αλλά συχνά είναι ανεπαρκής για πολυπλοκότερα χημικά προβλήματα. Σημαντικότερη είναι η χρήση της και στην σύνθεση περιγραφικών μεταβλητών με αντιπροσωπευτική ικανότητα για ένα σύνολο άλλων. Μια τέτοια σύνθετη μεταβλητή συγκεντρώνει τη πληροφορία ενός συνόλου υψηλά σχετιζόμενων μεταβλητών οπότε απλουστεύει την έκφραση του τε-

λικού μοντέλου και αφαιρεί την επιβάρυνση/ζύγιση που προκαλεί η άθροιση όμοιας πληροφορίας.

6.3 Ανάλυση Σμηνών (Cluster Analysis, CA) και Γραμμική Διακριτική Ανάλυση (Linear Discriminant Analysis, LDA)

Επιγραμματικά θα αναφερθούν και δύο ακόμη μέθοδοι που χρησιμοποιούνται όπως και η PCA στην κατάταξη/αναγνώριση ομάδων εντός δείγματος και αποδίδουν ίσως καλύτερα σε πολυπλοκότερα συστήματα. Πρόκειται για την ανάλυση σμηνών **CA** (cluster analysis) και την γραμμική διακριτική ανάλυση **LDA** (linear discriminant analysis). Η πρώτη εντάσσεται ομοίως με την PCA στις μη επιβλεπόμενες μεθόδους, ενώ η δεύτερη στις επιβλεπόμενες/καθοδηγούμενες.

Η CA, ομοίως με την PCA, μεταφέρει τα δείγματα ως σημεία σε πολυδιάστατο χώρο j - διαστάσεων (όπου j , ο αριθμός των X μεταβλητών). Εκεί πλέον αντί να δημιουργήσει συνιστώσες εξετάζει τις αποστάσεις μεταξύ των σημείων και προχωράει στην συνένωση του χώρου γύρω από τα σημεία που είναι κοντύτερα μεταξύ τους. Υπάρχουν πολλοί αλγόριθμοι στη λογική αυτή με συνηθέστερο αυτόν που θεωρεί αρχικά χώρο μιας μονάδας γύρω από κάθε σημείο και προχωράει σε σταδιακή επέκταση εξετάζοντας τις αποστάσεις μεταξύ γειτόνων σε σχέση με τη μέγιστη απόσταση για όλα τα ζεύγη σημείων σε κάθε επίπεδο $d_{(i,j)}/d_{max}$. Ως απόσταση μπορεί να χρησιμοποιείται η Ευκλείδεια (που αποτελεί και την πλέον συνήθη), το τετράγωνο αυτής, η απόσταση Manhattan και η απόσταση Mahalanobis. Ο αλγόριθμος αυτός δημιουργεί μοντέλα ιεραρχικής σύμπλεξης (hierarchical clustering)^{50,51}.

Η σχέση των αντικειμένων αποδίδεται και ως ομοιότητα s (similarity):

$$s_{(i,j)} = 100 \times \left(1 - d_{(i,j)}/d_{max} \right)$$

Υπάρχει επί πλέον πλήθος άλλων τεχνικών που εξετάζουν το σχηματισμό σμηνών με διαφορετικά κριτήρια, όπως η πυκνότητα (density - based clustering), η κατανομή (distribution - based clustering) και η ύπαρξη κεντροειδούς (centroid - based clustering: όπου και ανήκει η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη τεχνική k - means clustering)⁵².

Η LDA ομοιάζει ως προς την PCA στην σύνθεση νέας μεταβλητής από τις αρχικές X περιγραφικές μεταβλητές, την LDF (linear discriminant function). Στην ου-

σία έχει μεγάλη συγγένεια με την μέθοδο ANOVA, και ομοίως με αυτή συγκρίνει την διακύμανση που εμφανίζεται μεταξύ των ομάδων έναντι της εσωτερικής διακύμανσης κάθε ομάδας.

Η LDA παραλαμβάνει τις X μεταβλητές και καθορίζει μια μεταβλητή Y η οποία φέρει τις μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις στην πληροφορία των X . Μέτρο της διαφοροποίησης των ομάδων είναι η:

$$S = \frac{\sigma_{between}^2}{\sigma_{within}^2} = \frac{(\bar{w}\vec{\mu}_1 - \bar{w}\vec{\mu}_0)^2}{\bar{w}^T M_1 \bar{w} + \bar{w}^T M_0 \bar{w}} = \frac{(\bar{w}(\vec{\mu}_1 - \vec{\mu}_0))^2}{\bar{w}^T (M_1 + M_0) \bar{w}}$$

όπου M : ο πίνακας συνδιακύμανσης και μ : η μέση τιμή των ομάδων

Ο παραπάνω τύπος αφορά στη διάκριση δύο ομάδων αλλά η ίδια λογική επεκτείνεται και σε διαδικασίες διάκρισης ανάμεσα σε μεγαλύτερο αριθμό ομάδων⁵³.

Ως μέθοδος η LDA απαιτεί μεταβλητές X στις οποίες οι τιμές ακολουθούν κατά το δυνατό κανονική κατανομή (αν και στην πρώτη μορφή με την οποία δημοσιεύτηκε δεν είχε τέτοιες παραδοχές). Η LDA, που σαν επιβλεπόμενη μέθοδος γνωρίζει εξ αρχής την πραγματική ομαδοποίηση στο δείγμα, δίνει τελικά τιμή $Y_1, Y_2, \dots, Y_i$ σε κάθε ομάδα και προβλέπει τελικά την κατάταξη των αγνώστων με βάση την ταύτιση τους με το καθοριζόμενο Y για κάθε ομάδα⁵⁴.

6.4 Παλινδρόμηση Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Regression, PCR) και Παλινδρόμηση με Προβολή σε Λανθάνουσες Δομές (Projection to Latent Structures, PLS)

Επιστρέφοντας στις μεθόδους που αξιοποιούν την παλινδρόμηση (regression), όπως η MLR, και εξετάζουν σε μεγαλύτερο βαθμό προβλήματα χημείας με αριθμητικά δεδομένα και προβλέψεις αγνώστων τιμών, οφείλουμε να αναφερθούμε στη παλινδρόμηση κύριων συνιστωσών **PCR** (Principal Component Regression) και παλινδρόμηση μερικών ελαχίστων τετραγώνων ή παλινδρόμηση με προβολή σε λανθάνουσες δομές **PLSR** (Projection to Latent Structures). Και οι δύο μέθοδοι έχουν μεγάλη ομοιότητα με την PCA ως προς τη λογική τους και ουσιαστικά αποτελούν προέκταση της.

Η PCR, ομοίως με την PCA, χρησιμοποιεί τον πίνακα αλληλοσυσχετίσεων για τις μεταβλητές X για να εκφράσει τα διανύσματα (eigenvectors) που συντί-

θενται από τις αρχικές μεταβλητές X και προβλέπουν την μέγιστη παρατηρούμενη διακύμανση. Σε αντίθεση με την PCA, η PCR είναι επιβλεπόμενη μέθοδος και το μοντέλο χτίζεται ώστε να αποδίδει τελικά μια τιμή στην μεταβλητή απόκρισης Y και όχι απλά να αποδίδει τον χώρο των σημείων τους. Η διαδικασία της PCR, όπως εξάλλου και της PCA/ PLS επιφέρει στο σύστημα απλοποίηση ή, όπως διαφορετικά αναφέρεται, επίδραση συρρίκνωσης (shrinkage effect), διαδικασία κατά την οποία κάποια χαρακτηριστικά μικρότερης σχετικής μεταβλητότητας μπορεί να εξαλειφθούν πλήρως κατά την αξιολόγηση του συστήματος [55].

Αυτό που προσθέτει η PLS είναι η εξαγωγή **συσχέτισης με τη μεταβλητή απόκρισης Y** ($\beta_{(p-1,j)}$). Η PLS επιλέγει ανάμεσα στις μεταβλητές X αυτές που έχουν την υψηλότερη συσχέτιση με το Y ενώ ταυτόχρονα εξηγούν τη διακύμανση των σημείων εντός του πίνακα X . Αυτό γίνεται με την εισαγωγή κριτηρίου κατά την επιλογή των Κυρίων Συνιστωσών (PCs) στην PCA, το οποίο οδηγεί τη διαδικασία να επιλέξει αυτές τις PCs, οι οποίες καθορίζουν τιμές t που εμφανίζουν συνδιακύμανση/συσχέτιση με τις μεταβλητές απόκρισης. Η διαφοροποίηση αυτή σε σχέση με την PCR είναι κρίσιμη γιατί οι Κύριες Συνιστώσες με τη μεγαλύτερη περιγραφική αξία για έναν πίνακα μεταβλητών X δεν ταυτίζονται οπωσδήποτε με αυτές με την μεγαλύτερη περιγραφική/προβλεπτική ικανότητα για το εξεταζόμενο σύστημα έτσι η PCR είναι δυνατόν να παραδώσει συνιστώσες με χαμηλή συσχέτιση με τη ζητούμενη μεταβλητή απόκρισης. Η PLS “στρέφει” το σύστημα προς τη ζητούμενη μεταβλητή Y και έτσι αποκτά ισχυρότερη προβλεπτική ικανότητα.

Η μαθηματική απόδοση των δδιδεργσιών στην PCR και PLS έχει ως εξής:

Η λογική της PCA που αποδίδεται στη σχέση $X = T \times W^T + E$, και αναλύθηκε παραπάνω, επεκτείνεται στο δεύτερο πίνακα δεδομένων που περιλαμβάνει τις μεταβλητές απόκρισης Y . Η επεξεργασία του πίνακα Y με διαστάσεις $i \times m$, όπου m : ο αριθμός των μεταβλητών απόκρισης, οδηγεί στη σχέση:

$$Y = U \times Q^T + F,$$

όπου κατ’ αντιστοιχία U : ο πίνακας συντεταγμένων (scores) για τον Y , με διαστάσεις $i \times l$, όπου l : ο αριθμός των κύριων συνιστωσών για τη μετατροπή αυτή Q : ο πίνακας φορτίων/βαρών με διαστάσεις $l \times m$ και F : ο πίνακας υπολοίπων (residuals) για τις τιμές του πί-

νακα Y . Ανάλογα με τον αλγόριθμο που έχει επιλεγεί για τη διεργασία, ο πίνακας T μπορεί να είναι ορθοκανονικός ή και όχι, και μπορεί να τροποποιηθούν σημεία της διαδικασίας ως προς τον τρόπο ‘συρρίκνωσης’ των πινάκων X και Y ^{56,57}.

Η PCR δημιουργεί ανεξάρτητα τον πίνακα T για το X και τον πίνακα U για το Y . Ακολούθως προσπαθεί να δημιουργήσει τη σχέση με την οποία ο πίνακας των T , ως πίνακας περιγραφικών μεταβλητών πλέον προσπαθεί να εξηγήσει τον πίνακα U .

Η PLS, θέτει κριτήριο της συνδιακύμανσης για τη δημιουργία των δύο πινάκων T και U , και προφανώς κατ’ επέκταση τον καθορισμό των φορτίων των PCs, το:

$$PC_p = \arg \max_{\|w\|=1} \{cov(T, U)\}$$

Με δεδομένη την εξομάλυνση των μεταβλητών το κριτήριο της συνδιακύμανσης είναι ουσιαστικά κριτήριο συσχέτισης. Εδώ οι δύο μητρικοί πίνακες ‘συρρικνώνονται’ εξαρχής με τρόπο που να εξασφαλίζει τη μεγαλύτερη δυνατή συσχέτισή τους.

Ανάμεσα στους αλγόριθμους που υπάρχουν για τη μέθοδο PLS συγκαταλέγονται οι ακόλουθοι⁵⁸:

- NIPALS
- Modified NIPALS
- Kernel algorithm
- Modified Kernel
- SIMPLS

Ο αλγόριθμος που αναλύεται εδώ για τη μέθοδο PLS αποτελεί την απλή βασική τυπική μορφή, και όχι κάποια τροποποίηση.

Για την εξαγωγή της πρώτης συνιστώσας έστω $\hat{z}_1$ ή PC_1 (από το σύνολο p που τελικά μπορούν να εξαχθούν), θεωρώντας την απλούστερη και συνηθέστερη περίπτωση όπου αριθμός των μεταβλητών y $m=1$, ισχύει:

$$\beta_{(p-1,j)} = \frac{cov(x_j^{(p-1)}, y^{(p-1)})}{var(x_j^{(p-1)})},$$

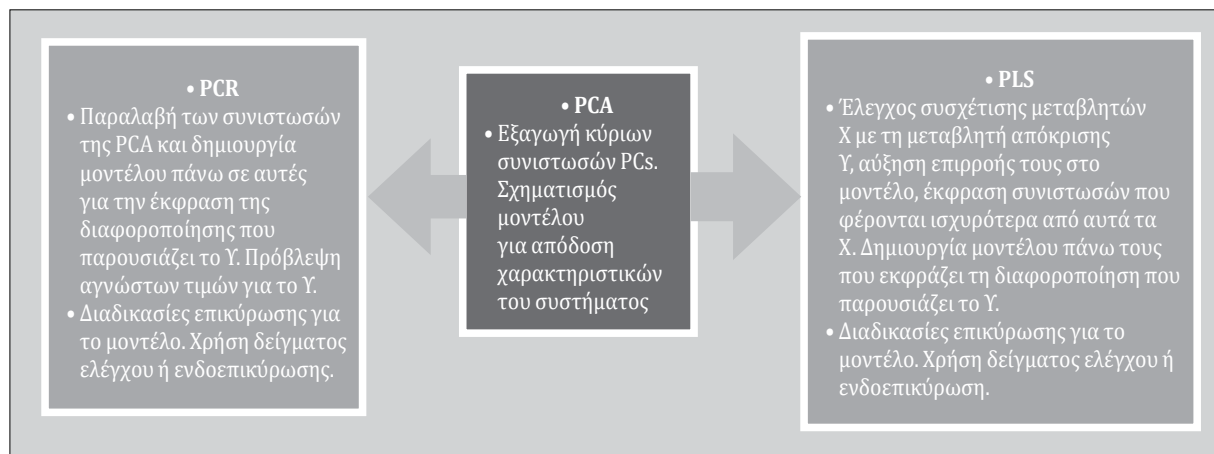
με $cov(X, Y) = X^T Y$ και $var(X) = X^T X$, και χρήση τους στον υπολογισμό των:

$$\beta_{(p-1,j)} \times x_j^{(p-1)}, \text{ προσοχή } x_j^{(p-1)} \xrightarrow{\text{(για } p=1 \text{ είναι)}} x_j \text{ και όχι } x_j^0 = 1$$

Η PLS υπολογίζει την

$$z_1 = \sum_1^j w_{(0,j)} \beta_{(0,j)} x_j, \text{ με το } w_{(0,j)} \propto var(x_j),$$

με τον β να εξασφαλίζει τη «στροφή» προς το y . Η συνιστώσα που προκύπτει είναι ταυτόχρονα εκτίμηση για το y .



Σχήμα 3: Διάγραμμα διάκρισης των μεθόδων PCR & PLS ως επέκτασης της μεθόδου PCA

Ακολουθώντας με παλινδρόμηση του Y, αλλά και του X, πάνω στη z, κατασκευάζει τους πίνακες συντεταγμένων (scores) U και T αντίστοιχα και προχωρεί ομοίως όπως την κλασσική διεργασία στην PCA να αφαιρέσει από τα δεδομένα των αρχικών πινάκων τη διακύμανση που «αιτιολογήθηκε» από την παλινδρόμηση στη z_1 και να ορίσει νέους πίνακες, για το παράδειγμα μας X^2, Y^2 , αλλά γενικά X^p, Y^p , όπου:

$$X^p = X^{p-1} - T^p \times Z^p$$

$$Y^p = Y^{p-1} - U^p \times Z^p$$

Η διαδικασία τελικά σταματά όταν δε μπορεί να εξαχθεί από τον πίνακα X^p που απομένει άλλη πληροφορία, δηλαδή $\sum_1^j \text{var}(x_j^p) = 0^{59}$. Η απλουστευμένη περίπτωση που πήραμε, όταν θεωρήσαμε ότι δεν υπάρχει πλήθος μεταβλητών στον πίνακα Y ($m=1$), ονομάζεται και PLSR1. Η PLS μπορεί να διαχωριστεί σε PLSR1 και PLSR2 με βάση αυτό ακριβώς το κριτήριο. Η PLSR2 αφορά στη χρήση περισσότερων μεταβλητών απόκρισης, οπότε και αιτιολογείται ο πίνακας Q, που υπάρχει στην εξίσωση όπως παρουσιάστηκε στην αρχή. Ο πίνακας αυτός τότε περιέχει τις τιμές q , όπου $q_{(p-1,j)} \propto \text{var}(y_j^p)$, ομοίως δηλαδή με το w για το X.

Η PLS αποτελεί μια από τις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες μεθόδους στον τομέα της προβλεπτικής εξόρυξης δεδομένων (predictive data mining) ειδικά στον τομέα της φασματοσκοπίας και ακόμη περισσότερο σε περιπτώσεις οργάνων ευαίσθητων σε θόρυβο ή με σημαντικές επικαλύψεις δεδομένων στο φάσμα²³.

Στο **Σχήμα 3** απεικονίζεται σε διάγραμμα η διάκρι-

ση των μεθόδων PCR & PLS και η συγγενική τους σχέση με τη μέθοδο PCA της οποίας αποτελούν επέκταση

6.5. Γενετικοί Αλγόριθμοι και Τεχνητά νευρωνικά δίκτυα (ANNs)

Μια σαφώς νεότερη κατηγορία μεθόδων, που δεν εντάσσονται στις μεθόδους ανάλυσης παλινδρόμησης, είναι οι φυσικές υπολογιστικές μέθοδοι (natural computation methods). Εδώ ανήκουν οι γενετικοί αλγόριθμοι (genetic algorithms) και τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα ANNs (artificial neuronal networks). Το όνομα τους οφείλεται στην μίμηση φυσικών διεργασιών για την κατασκευή μοντέλων, συνηθέστερα βιολογικής προέλευσης.

Οι γενετικοί αλγόριθμοι εξομοιώνουν τη διαδικασία με την οποία μεταφέρεται η γενετική πληροφορία στους απογόνους βάσει της αρχής ότι ένας πληθυσμός θα αναπτυχθεί με την επικράτηση (επιβίωση) του περισσότερο κατάλληλου χαρακτηριστικού (survival of the fittest)^{60, 61}. Ανήκουν στις επιβλεπόμενες μεθόδους ανάλυσης δεδομένων και η κύρια εφαρμογή τους είναι η επιλογή των σημαντικότερων μεταβλητών x, δηλαδή αυτών οι οποίες βελτιώνουν την πρόβλεψη του y, και η απομάκρυνση των μη σημαντικών, δηλαδή αυτών οι οποίες δυσχεραίνουν την πρόβλεψη. Για την ανάπτυξη των ΓΑ δημιουργείται ο αρχικός πληθυσμός ο οποίος περιλαμβάνει έναν αριθμό τεχνητών χρωμοσωμάτων, καθένα εκ των οποίων φέρει μονάδες και μηδενικά, διατεταγμένα με τυχαίο τρόπο. Μόνο τα καλύτερα χρωμοσώματα θα διαβιβάσουν τα χαρακτηριστικά τους στην επόμε-

νη γενιά κατά τη διάρκεια της εξελικτικής πορείας. Στην περίπτωση κατά την οποία ο ΓΑ χρησιμοποιείται για την επιλογή μεταβλητών, αυτό συνεπάγεται ότι θα επιλεγούν μόνο οι μεταβλητές οι οποίες αντιστοιχούν στην τιμή 1, ενώ οι μεταβλητές οι οποίες αντιστοιχούν στην τιμή 0 θα απορριφθούν. Οι συνηθέστεροι τρόποι με τους οποίους εισάγεται ποικιλία μεταξύ των πληθυσμών προκειμένου να επιλεγεί ο βέλτιστος είναι η διασταύρωση (crossover) και η μετάλλαξη (mutation). Στη διασταύρωση, τα δύο μητρικά χρωμοσώματα κόβονται στη θέση διασταύρωσης και το αρχικό τμήμα του ενός χρωμοσώματος συνδέεται με το τελικό τμήμα του άλλου και αντιστρόφως. Κατά τη μετάλλαξη, πραγματοποιείται αλλαγή ενός ψηφίου του χρωμοσώματος.

Τα Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα (ANNs) προσομοιώνουν την μορφοποίηση ενός νευρώνα κατά τη διαδικασία καταχώρησης μιας πληροφορίας/ερεθίσματος και είναι ικανά να αποτυπώσουν φαινόμενα πολύπλοκα για τα οποία δε γνωρίζουμε εκ των προτέρων μαθηματική σχέση που να συνδέει τη μεταβλητή απόκρισης με τις περιγραφικές μεταβλητές. Από την άλλη βέβαια, τα μοντέλα ANN είναι τελικά δυσκολότερα στη «μετάφραση» και απαιτούν μεγαλύτερο αριθμό δεδομένων για την κατασκευή τους αλλά και για τις διαδικασίες επαλήθευσης και αξιολόγησης⁴.

Η απλούστερη πρώτη σημαντική μορφή ANN είναι το Perceptron⁶² το οποίο προέκυψε σε μια προσπάθεια μελέτης της λειτουργίας των ανθρώπινων νευρικών κυττάρων με κυριότερο ίσως χαρακτηριστικό τη λογική κατωφλιού (threshold logic), που είχε μελετηθεί ωρίτερα από τους McCulloch & Pitts⁶³. Πάνω σε αυτό τον τύπο δικτύου χτίστηκαν τα σημερινά πολύπλοκότερα δίκτυα, με την εισαγωγή ενός μη επιβλεπόμενου αλγόριθμου εκπαίδευσης ο οποίος επιτρέπει τη δημιουργία δομών επικοινωνούντων «νευρώνων» που αναπροσαρμόζουν το σήμα τους (τα βάρη στις συνδέσεις τους) μέσα από μια διαδικασία εκπαίδευση πάνω στην πρόβλεψη απόκρισης για ένα πληθυσμό (back - propagation).

7. Περιγραφικές μεταβλητές - Μοριακοί περιγραφείς (Molecular Descriptors)

Έγινε ήδη μια σημαντική αναφορά στις περιγραφικές μεταβλητές μέσα από τη χρήση τους στις μεθόδους. Στην ενότητα αυτή ωστόσο γίνεται περιγραφή

ως προς την εξαγωγή τους και την φύση τους.

Οι περιγραφικές μεταβλητές (ή μοριακοί περιγραφείς) είναι το αποτέλεσμα μιας λογικής και μαθηματικής διεργασίας, η οποία μετατρέπει τη χημική πληροφορία που εμπεριέχεται στη συμβολική απεικόνιση ενός μορίου σε έναν αντιπροσωπευτικό αριθμό, ή το αποτέλεσμα μιας τυποποιημένης πειραματικής διαδικασίας¹⁶.

Μια πρώτη κατηγορία αφορά σε μεταβλητές που εκφράζουν σαφή και λογικά για το μόριο δεδομένα, συνήθως φυσικοχημικά, εύκολα διαθέσιμα από τη βιβλιογραφία ή προσδιοριζόμενα πειραματικά. Εδώ υπάγονται η λιποφιλία, το μοριακό βάρος, η πυκνότητα σε δεδομένο περιβάλλον, η διπολική ροπή κλπ. Η εκτίμηση φυσικοχημικών παραμέτρων με λογισμικά προγράμματα στηρίζεται σε ευρέως αποδεκτά μοντέλα/ εξισώσεις, που έχουν προκύψει από πειραματικά δεδομένα (ημι - εμπειρικές μέθοδοι). Πληθώρα τέτοιων μοντέλων υπάρχει για τον υπολογισμό του συντελεστή κατανομής⁶⁴⁻⁶⁷.

Η **συμβολική απεικόνιση** χημικών μορίων μπορεί να ακολουθεί διαφορετικές λογικές. Η μια, περισσότερο γνώριμη, λογική αφορά στην υπολογιστική απεικόνιση χημικών μορίων με κατάλληλα λογισμικά προγράμματα αρχικά σε δύο διαστάσεις, οπότε αποδίδεται μια εικόνα του τρόπου δόμησης, αλλά και σε τρισδιάστατο χώρο, οπότε οπτικοποιούνται χαρακτηριστικά όπως η μοριακή επιφάνεια, ο όγκος, οι σχετικές θέσεις ατόμων στο χώρο ανάλογα με τη διάμορφωση του μορίου, καθώς και ηλεκτροχημικές παραμέτρους του μορίου συνολικά (π.χ. ηλεκτροστατικά δυναμικά) ή εστιαζόμενες σε επί μέρους άτομα ή (ομάδες) (π.χ μερικά φορτία, ηλεκτρονιακή πυκνότητα). Με βάση τις γνώσεις μας για τη γεωμετρία δεσμών, τις ατομικές ακτίνες και τις ενέργειες δεσμών, σχετικά προγράμματα παρέχουν εκτιμήσεις μοριακών χαρακτηριστικών στο χώρο, καθώς επίσης και βελτιστοποίηση δομών, σε δεδομένο περιβάλλον ή στο κενό, με βάση την ελεύθερη ενέργεια Gibbs για το σύστημα. Η τελευταία αυτή πρακτική είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στη κατασκευή μοντέλων αλληλεπίδρασης μεταξύ μικρομορίων - μακρομορίων (φάρμακο - υποδοχέας), ενώ υπολογίζουν επίσης κβαντομηχανικές ιδιότητες των μορίων⁶⁸⁻⁷⁰.

Αυτό που πρέπει να σημειωθεί (διότι δεν είναι τόσο σαφές, όσο είναι στην περίπτωση των πειραματικών

Φυσικοχημικές ιδιότητες (περιγραφικές μεταβλητές)	Βασικές φυσικές και χημικές ιδιότητες	κατάσταση σε δεδομένη θ°, ατομική σύσταση - αριθμοί ατόμων nX, αριθμός δεσμών nB, πυκνότητα, μοριακό βάρος, αρωματικοί δεσμοί & αρωματικότητα, πολωσιμότητα δεσμών,...
	Ιδιότητες που αφορούν σε φυσικοχημικά φαινόμενα και ευρίσκονται πειραματικά με τυποποιημένη μέθοδο για την επιστημονική κοινότητα	δείκτης διάθλασης, γωνία στροφής πολωμένου φωτός, σκληρότητα, συντελεστής μερισμού (πειραματικός), σ. τήξης, σ. πήξης, ηλεκτρική αγωγιμότητα, βαθμός ιονισμού, διαλυτότητα,...
	Φυσικοχημικές ιδιότητες εκτιμώμενες με βάση θεσπισμένες θεωρίες και υπολογιστικά μοντέλα	Διαθέσιμη πολική επιφάνεια, παράγοντας υδοφιλίας, μέγιστη & ελάχιστη προβαλλόμενη σε κίνηση εντόε πεδίου επιφάνεια, ενέργεια Gibbs, εντροπία, συντελεστής μερισμού (μοντέλα), συντελεστής κατανομής (μοντέλα), υδρόφοβη επιφάνεια,...

Σχήμα 4: Διάγραμμα κατάταξης μεταβλητών για φυσικοχημικά χαρακτηριστικά με βάση τον τρόπο με τον οποίο υπολογίζονται. Το περιεχόμενο σφάλμα σε αυτές τις μεταβλητές αυξάνεται καθώς κινούμαστε από τα βασικά χαρακτηριστικά, σε σαφώς ορισμένες πειραματικές τιμές και σε υπολογιστικά μοντέλα εκτίμησης

δεδομένων) είναι ότι τα δεδομένα που προκύπτουν από υπολογιστικά μοντέλα **φέρουν σφάλματα** της μεθόδου/θεωρίας με την οποία προκύπτουν. Αυτό, το οποίο πολλές φορές προτείνεται, είναι η εισαγωγή δεδομένων που έχουν προκύψει με την ίδια μέθοδο ή που προκύπτουν με κοινή λογική ως προς τη θεώρηση των μορίων ώστε το σφάλμα να είναι συστηματικό και να μπορεί πιθανώς το μοντέλο να το εξαλείψει¹⁶.

Μια δεύτερη κατηγορία αφορά σε συντελεστές που προκύπτουν με βάση τη θεωρία γράφων για χημικά μόρια. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα η **θεωρία γράφων** (graph theory) είναι κλάδος της επιστήμης των μαθηματικών που ασχολείται με τη μελέτη της δομής γραφημάτων και δικτύων. Εμπνευστής της ο Euler το 1736³⁰, ο οποίος κατάφερε να επιλύσει το πρόβλημα των γεφυριών του Königsberg, υποβιβάζοντας το σε πρόβλημα της θεωρίας αυτής. Κλάδος της η **θεωρία χημικών γράφων** (chemical graph theory), η οποία ανάγει σε γραφήματα τους κλασσικούς χημικούς τύπους.

Οι συντελεστές εδώ αποτελούν μαθηματική έκφραση χαρακτηριστικών που εμφανίζουν τα γραφήματα (βασικά στοιχεία της θεωρίας γράφων) και συνδέονται με ιδιότητες ή χαρακτηριστικά των χημικών μορίων που εκπροσωπούνται. Η σύνδεση αυτή πολλές φορές μπορεί να διαπιστωθεί μετά τον ορισμό αυτών των συντελεστών (συνήθως την απόδοση μιας συγκεκριμένης σχέσης στις συνδέσεις) οπότε και κατατάσσονται στις

κατηγορίες που παραθέτει ο παρακάτω πίνακας μαζί με αντιπροσωπευτικά παραδείγματα⁷⁰. Τα γραφήματα αυτά αποτελούν δίκτυα και ως τέτοια οι συνηθέστερες παράμετροι με ενδιαφέρον είναι η έκταση και οι σχετικές αποστάσεις ανάμεσα τα άκρα, η σχετική πυκνότητα, η συνολική συνεκτικότητα των στοιχείων, η ύπαρξη κόμβων/ κρίσιμων σημείων κλπ⁷¹.

7.1. Η διαδικασία επιλογής των περιγραφικών μεταβλητών^{23,72}

Έχει γίνει ήδη αναφορά για την επιλογή μεταβλητών στην Πολλαπλή Γραμμική Παλινδρόμηση, όπου ωστόσο ο Πίνακας Χ συνήθως είναι αρκετά περιορισμένος. Όταν ωστόσο πρόκειται να γίνει διαχείριση πολύ μεγαλύτερου αριθμού μεταβλητών απαιτούνται πρόσθετες διαδικασίες για την τελική επιλογή τους. Ειδικότερα στην μέθοδο PLS η κλασσικότερη πορεία σύνθεσης μοντέλων προβλέπει την αρχική εισαγωγή όλων των διαθέσιμων, επαρκώς ανόμοιων, μεταβλητών και τη σταδιακή αφαίρεση τους από αυτό με κριτήρια όπως το γράφημα σημαντικότητας στην προβολή **VIP** (variable importance to projection) και το γράφημα συντελεστών παλινδρόμησης (coefficient plot) στην περίπτωση της μεθόδου PLS. Το γράφημα σημαντικότητας αφορά στην συμμετοχή της μεταβλητής αθροιστικά σε όλα τα ορισμένα επίπεδα του μοντέλου (batch variable importance). Μεταβλητές που συμμετέχουν στο μοντέλο με $VIP \leq 0.5$ συχνά απορρίπτονται ως μη επαρκώς σημαντικές.

Φυσικοχημικές ιδιότητες (περιγραφικές μεταβλητές)	Τοποδομικοί δείκτες (topostructural)	Τοπολογικοί πληροφοριακοί δείκτες (topological information)	Weiner, Zagreb, Randic conn., Balaban distance, Schultz, Kier sha, Eigenvalue of D-matrix, Kirchhoffpe simple, Eigenvalue of A-matrix, Detour, Topological
			Total information content on...
	Τοποχημικοί δείκτες (topochemical)	Τοπολογικοί πληροφοριακοί δείκτες (topological information)	Mean information content on...
			Kier-Hall Conn., Kier alpha modified shape, Auto-correlation descriptors, Burden Eigenvalues
	Τοπογραφικοί περιγραφείς (topographic)		3D-Balaban, 3D-Weiner, D/D index, folding degree, GETAWAY descriptor group

Σχήμα 5: Διάγραμμα κατάταξης των μεταβλητών που προκύπτουν με βάση τα γραφήματα απεικόνισης των χημικών μορίων. Ο βασικός διαχωρισμός γίνεται σε τοποχημικούς, τοπογραφικούς και τοποδομικούς δείκτες, συχνά όμως δεν είναι απόλυτος

Κριτήριο, το οποίο αναφέρθηκε ιδιαίτερα στην πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση (MLR), είναι και ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Pearson r , που εξετάζεται με τη μορφή σχετικού πίνακα καθώς και ο συντελεστής πληθωρισμού διακύμανσης **VIF** (variance inflation factor) που σχετίζεται με αυτόν με τη σχέση:

$$VIF = \frac{1}{1-r^2}.$$

Μια ερμηνεία του τι εκφράζει ο παράγοντας VIF, είναι πόσες τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη είναι η τυπική απόκλιση του συντελεστή β (κλίση της μεταβλητής) σε σχέση με την εκδοχή η μεταβλητή η ήταν ανεξάρτητη από τις υπόλοιπες στο μοντέλο.

Στην MLR, καθώς και άλλες μεθόδους με χαμηλή ανοχή σε συσχετίσεις μεταβλητών, επιλέγονται όρια με βάση τους δείκτες **VIF** και Pearson r για να κριθεί αν μια μεταβλητή θα διατηρηθεί ή όχι στο μοντέλο. Συνήθως τέτοια όρια είναι το 5 για την ένδειξη ύπαρξης υψηλής συσχέτισης και ≥ 10 για την αποκοπή με βάση τον VIF ή το ≥ 0.800 αντίστοιχα για το $r_{\text{Pearson}}^{73,74}$.

Οι Γενετικοί Αλγόριθμοι που αναφέρθηκαν σε προηγούμενη ενότητα συνδυάζονται επίσης με MLR για την αρχική επιλογή των μεταβλητών.

7.2. Προκατεργασία των μεταβλητών (pre - processing)

Προτού γίνει οποιαδήποτε επιλογή μεταβλητών για το μοντέλο είναι σημαντικό αυτές να μπορούν να συμμετέχουν «επί ίσοις όροις». Στις περισσότερες περιπτώσεις τα δεδομένα από τις περιγραφικές μεταβλητές δεν βρίσκονται στην ίδια κλίμακα μεγεθών και εμφανίζουν διαφορετική μεταβλητότητα. Είναι επίσης πιθανό ενώσεις εντός του επιλεγμένου συνόλου εργασίας να εμφανίζουν ακραίες μεταβολές στις τιμές, οι οποίες ανάλογα με το χαρακτηριστικό μπορεί να κρίνονται λογικές λόγω της φύσης του ή απαράδεκτες και να αποτελούν λόγο για την αφαίρεση των ενώσεων που τις εμφανίζουν.

Ως εκ τούτου, οι τιμές των πινάκων για τα δεδομένα $x_{(i,j)}$, y_i συνήθως υπόκεινται σε **διεργασίες εξο-**

μάλυνσης / κανονικοποίησης (normalization/standardizing) προ της εισαγωγής τους στο μοντέλο. Αυτές περιλαμβάνουν^{23,75}:

Μεταφορά στο κέντρο των αξόνων (centering):

Οι τιμές των μεταβλητών «μεταφέρονται» στο κέντρο των αξόνων μέσω αφαίρεσης της μέσης τιμής για τον πληθυσμό τους, δηλαδή:

$$x'_i = x_i - \bar{x}$$

Αλλαγή της κλίμακας των τιμών για τις μεταβλητές (scaling):

Στόχος είναι οι μεταβλητές να συμμετέχουν στο μοντέλο ευρισκόμενες στην ίδια κλίμακα τιμών, και για να γίνει αυτό γίνεται τροποποίηση της διακύμανσης. Η αυστηρότερη τέτοια μετατροπή είναι η μετατροπή **UV** (scale to unit variance) στην οποία:

$$x'_i = \frac{x_i}{\sqrt{\text{var}(X)}} = \frac{x_i}{\text{std}(X)}$$
 και συνήθως εφαρμόζεται μαζί με το centering σαν προ - επιλογή στα περισσότερα σχετικά λογισμικά. Ονομάζεται **auto - scaling** και ουσιαστικά αφορά στη μετατροπή **Z**, την κανονικοποίηση κατά Fisher, μια από τις πλέον χρησιμοποιούμενες μαθηματικές μετατροπές.

Η μετατροπή αυτή έχει μια σημαντική παραδοχή: Η διακύμανση που εμφανίζουν οι μεταβλητές πρέπει να οφείλεται πρωτίστως σε πληροφορία και όχι σε σφάλμα, διαφορετικά η μετατροπή μεγεθύνει την επίδραση του σφάλματος πάνω στο σήμα και αλλοιώνει την πληροφορία. Προϋποθέτει δηλαδή μια καλή σχέση *signal/noise*.

Τα αποτελέσματα δεν είναι βέλτιστα ούτε για μεταβλητές με σχεδόν μηδενική διακύμανση (και άρα μικρή μεταβολή). Σε κάποια λογισμικά υπάρχει η δυνατότητα εισαγωγής αντισταθμιστικού όρου (offset) μέσω του οποίου μπορεί να διορθωθεί η λανθασμένη εμφάνιση που μπορεί να δοθεί από το μοντέλο σε τέτοιες μεταβλητές (zero - variance).

Μια συχνή δεύτερη επιλογή είναι η μετατροπή **Pareto** (Pareto scaling)⁷⁶. Η μετατροπή αυτή αφήνει στο σύστημα μεγαλύτερη μεταβλητότητα γιατί στηρίζεται στη συνάρτηση:

$$x'_i = \frac{x_i}{\sqrt{\text{std}(X)}}$$

και πολλές φορές ειδικά σε προβλήματα οικονομετρίας (econometrics) εφαρμόζεται χωρίς centering. Στη χημειομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε δεδομένα

που έχουν πληθυσμούς με κυρτές κατανομές ή προκειμένου να αφήσουν μεταβλητές με υψηλότερη μεταβλητότητα από άλλες να επικρατήσουν στο μοντέλο. Αυτό έχει λογική όταν η δυναμική των μεταβλητών είναι η ίδια, οπότε και η διαφορά τιμών τους αποτελεί και η ίδια πληροφορία.

Στη δεύτερη περίπτωση κλασσικό παράδειγμα αποτελούν τα δεδομένα φασμάτων (συνηθέστερα UV - Vis, NMR, κτλ.). Όλες οι περιγραφικές μεταβλητές σε αυτά έχουν θεωρητικά την ίδια δυναμική αλλά δεν εμφανίζονται να έχουν την ίδια διακύμανση, οπότε η μετατροπή αυτή βοηθά το μοντέλο να στρέφεται προς τα υψηλής διαφοροποίησης δεδομένα (κορυφές που μεταβάλλονται για διαφορετικές ουσίες) παρά αυτά που εμφανίζουν κάποια τυχαία μεταβλητότητα (εντάσεις σήματος των φασμάτων).

Μια άλλη μετατροπή είναι αυτή της λογαριθμικής εξασθένισης (**log decay**), η οποία βρίσκει εφαρμογή (και είναι μέθοδος εκλογής μετά την μετατροπή UV) για φασματικά δεδομένα της φασματομετρίας μαζών. Αυτό οφείλεται στην (κατά προσέγγιση) λογαριθμική μείωση της ευαισθησίας καθώς αυξάνεται ο λόγος m/z για τα ιόντα. Η σχέση στην οποία στηρίζεται είναι: $S_i = e^{-i/nt}$

Η παράμετρος t είναι ο παράγοντας διόρθωσης με συνήθη τιμή 0,3, i είναι ο αριθμός που αντιπροσωπεύει τη θέση του θραύσματος όταν αυτά τοποθετηθούν σε σειρά από το μικρότερο στο μεγαλύτερο και n , ο συνολικός αριθμός των θραυσμάτων^{77,78}. Άλλες μετατροπές είναι οι:

- α. μετατροπή **Poisson** (ζύγιση με $\sqrt{x}$)
- β. μετατροπή με βάση το εύρος (**range scaling**, ζύγιση με $x_{\max} - x_{\min}$)
- γ. ζύγιση ομάδων (**group/battery scaling**, ζυγίζει με βάση τη διακύμανση της ομάδας)

Μετασχηματισμός μεταβλητών (transformation)²³

Ο μετασχηματισμός μεταβλητών συμπληρώνει ουσιαστικά την αξία των παραπάνω μετατροπών για το μοντέλο. Οι τιμές που εμφανίζουν τόσο οι περιγραφικές μεταβλητές, όσο και οι αποκρίσεις σε δεδομένα που χρησιμοποιούνται στη χημειομετρία συνήθως σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά τα οποία περιγράφουν καθώς και με τον τρόπο με τον οποίο αποκτούνται.

Είναι για παράδειγμα αναμενόμενη η ανάγκη για λογαριθμική μετατροπή δεδομένων που αφορούν σε

αποτελέσματα πειραμάτων βιολογικής απόκρισης, τα οποία χρησιμοποιούνται σε μελέτες QSAR, ώστε να βρίσκονται σε γραμμική σχέση με την ελεύθερη ενέργεια.

Αναμενόμενη είναι επίσης η ανάγκη για μετασχηματισμούς με χρήση φίλτρων (**lag variables, noise filters**) για δεδομένα που αφορούν σε φάσματα τα οποία λαμβάνονται με εξοπλισμό/μεθόδους ευάλωτο σε επιμολύνσεις ή drift.

Αν και γενικά προτιμώνται συντηρητικοί μετασχηματισμοί, καθώς και μετασχηματισμοί που μπορούν να αιτιολογηθούν από αποδεκτές επιστημονικές θεωρίες του εκάστοτε πεδίου και να εφαρμοστούν συνολικά στο πλήθος των μεταβλητών, η χρήση των μετασχηματισμών δεν κρίνεται αθέμιτη σε οποιαδήποτε περίπτωση. Ο λόγος είναι ότι οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στηρίζονται σε μεγάλο βαθμό σε στατιστικές παραμέτρους όπως η μέση τιμή $\bar{x}$, η τυπική απόκλιση και διακύμανση $std(X)$, $var(X)$, κτλ. Πληθυσμοί οι οποίοι δεν εμφανίζουν κανονικές κατανομές δεν περιγράφονται καλώς από τα στοιχεία αυτά.

Οι πολυπαραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης δεν προϋποθέτουν κανονικότητα στους πληθυσμούς, αλλά αποδίδουν καλύτερα με δεδομένα τέτοιων πληθυσμών.

Θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ο μετασχηματισμός των δεδομένων γίνεται μόνο με βάση συναρτήσεις που αντιστρέφονται και ορίζονται για όλες τις πιθανές για τον πληθυσμό τιμές της μεταβλητής (όχι αποκλειστικά κατά την κατασκευή του μοντέλου αλλά και με πρόνοια για τη μετέπειτα χρήση του). Οι μετατροπές που χρησιμοποιούνται ανήκουν στην κατηγορία των μετασχηματισμών με διατήρηση της τάξης (rank - preserving transformation), - οι μετατροπές αυτές δε μεταβάλλουν το συντελεστή συσχέτισης $r^{79,80}$.

8. Αξιολόγηση και επικύρωση μοντέλων²³

Η ανάπτυξη μοντέλων ολοκληρώνεται με τη διαδικασία εσωτερικής διασταυρούμενης επικύρωσης τους. Σε αυτή αξιολογείται η προβλεπτική ικανότητα των μοντέλων που έχουν προκύψει. Εκτιμήτρια της προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου είναι το **άθροισμα των τετραγώνων του σφάλματος πρόβλεψης** (PRESS).

Η μαθηματική απόδοση αυτού είναι :

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{i/i})^2$$

και η αβεβαιότητα αυτής $S_{PRESS} = \sqrt{\frac{PRESS}{n-p}}$,

όπου p οι συνιστώσες στο μοντέλο, n ο αριθμός των ενώσεων και $\hat{y}$ οι προβλεπόμενες τιμές.

Η εκτιμήτρια αποδίδεται τελικά με τη μορφή του RCV2 (διασταυρωμένος συντελεστής συσχέτισης R2) ή Q2 το οποίο εκτιμά την **αιτιολογημένη διακύμανση** στις προβλεπόμενες τιμές. Μαθηματικά αντιπροσωπεύει:

$$Q^2 = 1 - PRESS/TSS = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{i/i})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2},$$

όπου TSS το συνολικό άθροισμα τετραγώνων.

Μια άλλη σχετιζόμενη και αξιοποιήσιμη μεταβλητή είναι η RMSEP, **SEP** ή SDEP που αναφέρεται στο **τυπικό σφάλμα πρόβλεψης** (standard error of prediction). Η μαθηματική της απόδοση είναι:

$$RMSEP \equiv SEP \equiv SDEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{i/i})^2}{n}} = \sqrt{\frac{PRESS}{n}} = \sqrt{PSE},$$

όπου PSE ορίζεται το τετράγωνο του σφάλματος πρόβλεψης.

Ο δείκτης αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης στην αξιολόγηση του αριθμού κύριων συνιστωσών στο τελικό μοντέλο με τον ίδιο τρόπο που αξιολογούνται τα προαναφερθέντα scree plots.

Ένα διαφορετικό κριτήριο βασιζόμενο στα υπόλοιπα των μεθόδων είναι ο **δείκτης Durbin - Watson**. Αυτός ουσιαστικά ελέγχει την ύπαρξη ιδιοσυσχέτισης (auto-correlation) στον πίνακα υπολοίπων των μεθόδων. Η μαθηματική του απόδοση είναι:

$$d_a = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{(i-1)})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2},$$

τιμές $0 < d_a < 2$, είναι ενδεικτικές θετικής ιδιοσυσχέτισης ειδικά όσο $d_a \rightarrow 0$, όταν $d_a = 2$, δεν υπάρχει ιδιοσυσχέτιση και τέλος όταν $2 < d_a < 4$, όσο $d_a \rightarrow 4$, είναι ενδεικτικές αρνητικής ιδιοσυσχέτισης. Επιδιώκουμε εδώ τιμές $d_a \in [1,5, 2,5]^{81}$.

Κατά την κατασκευή, και φυσικά την τελική αξιολόγηση ενός μοντέλου, γίνεται προσπάθεια εκτίμησης της εκπαίδευσης που έχει γίνει⁸². Κατά τη διάρκεια της κατασκευής ακολουθούνται οι διαδικασίες που προβλέπονται από τον αλγόριθμο που έχει ορισθεί σε επίπεδο επιλογής μεταβλητών. Ακολουθούνται επίσης διαδικασίες διερεύνησης για έκτροπες τιμές με βάση:

α) Παρατήρηση των γραφημάτων των υπολοίπων για τα δείγματα/ενώσεις του μοντέλου (normal probability residual plot), όπου ελέγχεται η κανονικότητα της κατανομής τους γύρω από το μηδέν καθώς και η απόσταση τους από αυτό, για την οποία υπάρ-

χουν όρια με συνηθέστερα αποδεκτή απόσταση μέχρι και ± 4 , αρκεί να επιβεβαιώνεται η ομαλότητα της κατανομής τους γύρω από το κέντρο

β) Το κριτήριο απόστασης από τον χώρο του X και Y, DModX και DModY (distance to model), το οποίο εκτιμά ομοίως με το κριτήριο του Hotelling, την πιθανότητα ένα σημείο να ανήκει στο σμήνος που ορίζουν τα υπόλοιπα με βάση την ύπαρξη υψηλής διαφοροποίησης ως προς κάποιες τιμές εντός των συνόλων X,Y αντίστοιχα. Το σημείο αυτό μπορεί να βρίσκεται εντός της έλλειψης Hotelling αλλά οι υψηλές επί μέρους διαφοροποιήσεις, το χαρακτηρίζουν ως μετρίως ή λανθάνουσα έκτροπη τιμή. Με βάση τις τιμές των ενώσεων στους πίνακες ορίζεται μια μέση τιμή και, με βάση την μεταβλητότητα που παρουσιάζουν γενικότερα τα δεδομένα, ορίζεται μια αποδεκτή απόκλιση. Η μέγιστη απόκλιση από την μέση τιμή, D_{crit} θέτει το όριο, οπότε εξετάζεται αν κάποια ένωση ξεπερνά αυτή την τιμή. Για το καθορισμό της έλλειψης Hotelling και της απόστασης από το μοντέλο το λογισμικό SIMCA χρησιμοποιεί την απόσταση Mahalanobis⁸³.

γ) Το γράφημα σχέσης μεταξύ $Y_{experimental}$ και $Y_{predicted}$, όπου θέτονται όρια για τη μέγιστη επιτρεπτή απόκλιση από τη γραμμική σχέση και παρουσιάζεται και η τιμή του μέσου σχετικού τετραγώνου του σφάλματος **RMSEE** (συνήθως της τάξης του $e_i \leq 2RMSEE$ ή με μικρότερη αυστηρότητα $e_i \leq 3RMSEE$).

Οι παραπάνω διαδικασίες στηρίζονται στη μεθοδολογία SIMCA (**Soft independent modelling by class analogy**)⁸⁴, η οποία βασίζεται στη δημιουργία ελλειπτικών χώρων σε πολλές διαστάσεις, τα όρια των οποίων εκφράζει είτε με βάση τις κρίσιμες τιμές για το κριτήριο του Hotelling με βάση αποστάσεις Mahalanobis.

Οι διαδικασίες αυτές ακολουθούνται διότι στην προσπάθεια τα υπόλοιπα που αποδίδει το εκάστοτε μοντέλο να προσεγγίσουν το «θεωρητικό πραγματικό σφάλμα» που προβλέπεται για αυτό ($e \rightarrow \varepsilon$) να προκύψουν πολλά ενδιάμεσα μοντέλα τα οποία μπορεί να εμφανίζουν ελλιπή εκπαίδευση και να εξηγούν σε μικρότερο βαθμό τα δεδομένα $e > \varepsilon$ ή και να εμφανίζουν υπερεκπαίδευση $e < \varepsilon$, οπότε έχουν εισάγει ως συστηματική πληροφορία, δεδομένα που δεν είναι πραγματικά.

Η υπερεκπαίδευση είναι, ειδικά στην αρχή της διαδικασίας, πολύ εύκολο να συμβεί αφού συνήθως ο πίνακας των X είναι αρκετά μεγάλος. Μια εκτίμηση της υπερεκπαίδευσης δίδεται με τη δοκιμασία **της τυχαί-**

ας ανακατανομής των τιμών Y (Y value - scrambling) ή δοκιμασία μετάθεσης (**permutation test**). Η διαδικασία αυτή αποκαλύπτει τη δυνατότητα **τυχαίας συσχέτισης** με βάση τα δεδομένα του πίνακα X (chance - correlation)⁸⁵.

Κατά τη διαδικασία αυτή γίνεται μετάθεση των τιμών των Y ανάμεσα στα δείγματα και ακολούθως δημιουργείται πλήθος μοντέλων με βάση τα νέα ανακατανεμημένα δεδομένα. Αποδίδονται για το πλήθος των διαφορετικών τέτοιων μοντέλων οι τιμές R^2 και Q^2 και συγκρίνονται με τις τιμές για το μοντέλο με τις σωστές τιμές απόκρισης. Εξυπακούεται ότι θα πρέπει να είναι σημαντικά μικρότερες τείνοντας στο 0 για το R^2 ή και σε αρνητικές τιμές για το Q^2 . Σε φαινόμενα υπερεκπαίδευσης τα μοντέλα από τη μετάθεση μπορούν να εμφανίσουν τιμές R^2 και Q^2 συγκρίσιμου μεγέθους με αυτή του πραγματικού μοντέλου οπότε και η διαδικασία της εκπαίδευσης πρέπει να συνεχίσει προκειμένου να αφαιρεθεί η πληροφορία που δεν ανήκει πραγματικά στο σύστημα. Αφού γίνει αξιολόγηση των στοιχείων που μπορούν να προσφέρουν τα παραπάνω σχετικά με τη ποιότητα του μοντέλου που έχει προκύψει γίνεται τελικά επικύρωση του μοντέλου με έναν από τους τρόπους που περιγράφονται ακολούθως:

Διασταυρούμενη επικύρωση (cross - validation):

Η διαδικασία αυτή, ονομαζόμενη και **V - fold cross - validation** περιλαμβάνει το διαχωρισμό του συνόλου των δεδομένων σε V υποσύνολα με τυχαία επιλογή αντικειμένων, τα οποία όμως υποσύνολα δεν έχουν κοινά σημεία⁸⁶.

Μία πχ. 6πλή διασταυρούμενη επικύρωση ενός συνόλου 60 αντικειμένων (ενώσεων) δίνει 6 υποσύνολα έστω: A, B, Γ, Δ, Ε, ΣΤ 10 στοιχείων για τα ζεύγη των οποίων ισχύει: AUB=0

Δημιουργούνται τότε μοντέλα με ομάδες εκπαίδευσης που περιλαμβάνουν όλα τα υποσύνολα εκτός ενός, το οποίο παραλείπουν. Το παραλειπόμενο υποσύνολο χρησιμοποιείται ως εξωτερική ομάδα ελέγχου για το μοντέλο στο οποίο δεν συμμετείχε.

Τελικά τα μοντέλα θα δώσουν για όλα τα αντικείμενα προβλεπόμενες αποκρίσεις μέσω των οποίων για κάθε αντικείμενο υπολογίζεται η το τετράγωνο της διαφοράς από την πειραματική τιμή: $(y_i - y_{i,pred})^2$

Με βάση τις τιμές των τετραγώνων των διαφορών υπολογίζεται η τιμή PRESS και μέσω αυτής ο διασταυ-

ρούμενος συντελεστής συσχέτισης Q_{CV}^2 και το μέσο σφάλμα των προβλέψεων RMSEP (Root Mean Square Error of Predictions) του μοντέλου. Η τιμή του Q_{CV}^2 δεν πρέπει να έχει σημαντική διαφορά από το R^2 του μοντέλου και το RMSEP πρέπει να είναι προφανώς πολύ μικρό.

Η τεχνική αυτή ονομάζεται και **LMO cross-validation** (leave - more - out), σε αντιπαράθεση με την **LOO cross-validation** (leave - one - out) όπου το $V=i$ και ουσιαστικά αφαιρείται από την εκπαίδευση κάθε φορά μόνο ένα αντικείμενο/ένωση⁸⁷. Η τεχνική **LOO** δεν προτιμάται πλέον γιατί επιστημονικές εργασίες απέδειξαν ότι κάνει σοβαρή υπερέτιμηση του, δεδομένου ότι συνήθως η αφαίρεση ενός μόνο αντικειμένου δεν αρκεί για να διαφοροποιήσει τον χώρο που δημιουργεί το μοντέλο, ειδικά σε περιπτώσεις που εργαζόμαστε με πλήθος αντικειμένων/ενώσεων. Εάν ωστόσο το αντικείμενο που θα αφαιρεθεί αποτελούσε έκτροπη τιμή και χαρακτηρίζεται από μεγάλη δύναμη εκμόχλευσης (leverage) τότε μπορεί να υπάρξει σημαντική διαφοροποίηση του μοντέλου με την αφαίρεση του.

Άλλη τεχνική που υπάγεται σε αυτή την κατηγορία είναι το **jack-knifing** στο οποίο γίνεται η αποκοπή αριθμού ενώσεων και χρήση των υπολοίπων ως ομάδα εκπαίδευσης. Κατά την τεχνική αυτή μπορεί να αποκοπεί οποιοσδήποτε αριθμός αντικειμένων από το σύνολο έως και ο μισός⁸⁸. Η επιλογή των αντικειμένων στα υποσύνολα μπορεί να γίνει με διαδικασίες προσομοίωσης Monte Carlo τυχαία ή μεθοδευμένα δημιουργώντας έναν αριθμό διαφορετικών συνδυασμών ομάδας εκπαίδευσης - ομάδας επικύρωσης (multiple splitting) και έλεγχο των μοντέλων που προκύπτουν για διαφοροποίηση και υπολογισμό του μέσου σφάλματος πρόβλεψης RMSEP από τη Μέθοδο **bootstrap**⁸⁹.

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην εικόνα που έχουμε για το στοχαστικό μοντέλο που έχουμε κατασκευάσει. Δεν κρίνει με βάση γενικότερους πληθυσμούς και δεν έχει απαιτήσεις κανονικότητας ή γενικότερα συγκεκριμένης κατανομής στα δεδομένα. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί λογισμικά εξομοίωσης για να δημιουργήσει ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων βασισμένα στο δείγμα με στοιχεία ίσα ή και περισσότερα από αυτό(!).

Για να το κάνει αυτό χρησιμοποιεί δειγματοληψία με αντικατάσταση. Θεωρεί το δείγμα σα πληθυσμό όπου το κάθε στοιχείο έχει $1/i$ πιθανότητα επιλογής με επανατοποθέτηση. Αυτό σημαίνει ότι η επιλογή ενός στοι-

χείου δεν αποκλείει την 2^η ή και 3^η επανεπιλογή του(!). Σε αυτή τη μέθοδο δημιουργείται ένας αρκετά μεγάλος αριθμός «δειγμάτων» συνήθως >500. Εάν η μέθοδος της διασταυρούμενης επικύρωσης μπορεί να θεωρηθεί «υπεραισιόδοξη» ως προς τις προβλεπτικές ικανότητες του μοντέλου, αυτή θεωρείται μάλλον προκατειλημμένη προς υποτίμηση των ικανοτήτων του μοντέλου. Είναι προτιμότερη της ϵ διασταυρούμενης επικύρωσης όταν ο αριθμός των στοιχείων είναι υπερβολικά μικρός για να διαχωριστούν σε σύνολα, αρκεί ωστόσο να υπάρχει καλή εκπροσώπηση όλων των υποομάδων, αν υπάρχουν τέτοιες, στο δείγμα⁹⁰.

Εξωτερική επικύρωση (external validation):

Θεωρείται η πλέον ελεύθερη προκατάληψης μέθοδος. Σε αυτή το σύνολο των δεδομένων που είναι διαθέσιμα εξετάζονται και χωρίζονται σε 2 ή και σε 3 (αν υπάρχει άνεση ως προς τον διαθέσιμο αριθμό αντικειμένων) σύνολα με αριθμητικά σαφώς μεγαλύτερο αυτό που αποτελεί την ομάδα εκπαίδευσης. Η 2^η ομάδα αποτελεί την πρώτη ομάδα ελέγχου και η 3^η ομάδα (δεύτερη ομάδα ελέγχου) κάνει την εξωτερική επικύρωση (external test set). Η μόνη ομάδα που χρησιμοποιείται κατά την διαμόρφωση του μοντέλου είναι η 1^η, η 2^η χρησιμοποιείται από τον χρήστη για να εκτιμήσει ότι το μοντέλο δεν είναι υπερεκπαιδευμένο και τελικά η 3^η εκτιμά την προβλεπτική του ικανότητα. Τα στατιστικά του μοντέλου παρουσιάζονται με βάση τις προβλέψεις του των αντικειμένων της ομάδας ελέγχου.

Η μέθοδος αυτή είναι ευαίσθητη ως προς την αντιπροσωπευτικότητα των ομάδων στις οποίες θα χωριστούν τα δεδομένα. Το μοντέλο δε θα μπορεί να προβλέψει αντικείμενα τα οποία δεν εκπροσωπούνται επαρκώς στην ομάδα εκπαίδευσης και αντιστρόφως δεν μπορεί να βεβαιωθεί η καλή προβλεπτική ικανότητα του μοντέλου σε αντικείμενα που δεν εκπροσωπούνται στην ομάδα επικύρωσης.

Πρόσφατα για την εξωτερική επικύρωση των μοντέλων εισήχθησαν τα στατιστικά μεγέθη R^2_{pred} , r^2_m , r^2_m και Δr^2_m ⁹¹⁻⁹⁴

$$R^2_{pred} = 1 - \frac{\sum (Y_{pred(test)} - Y_{(test)})^2}{\sum (Y_{(test)} - \hat{Y}_{(training)})^2}$$

όπου $Y_{pred(test)}$ και $Y_{(test)}$ είναι οι προβλεπόμενες από το μοντέλο και οι πειραματικές τιμές της μεταβλητής απόκρισης για την τυφλή ομάδα ελέγχου, αντίστοιχα, και

Υtraining η μέση τιμή της μεταβλητής απόκρισης για την ομάδα εκμάθησης. Η προβλεπτική ικανότητα ενός μοντέλου θεωρείται ικανοποιητική όταν $R^2_{pred} > 0.5$. Η τιμή του R^2_{pred} εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ της μέσης τιμής της μεταβλητής απόκρισης για την ομάδα εκμάθησης και της αντίστοιχης τιμής έकाστης ένωσης. Συνεπώς, όσο η απόσταση αυτή αυξάνει, δηλαδή το εύρος των τιμών της μεταβλητής απόκρισης είναι μεγάλο, αυξάνει και η τιμή R^2_{pred} . Η αύξηση αυτή είναι πιθανό να είναι πλασματική και να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της προβλεπτικής ικανότητας του μοντέλου, σε περιπτώσεις στις οποίες το εύρος των τιμών απόκρισης είναι μεγάλο, εντούτοις οι προβλεπόμενες τιμές απόκρισης διαφέρουν σημαντικά από τις πειραματικές.

Το μέγεθος r^2_m υπολογίζεται βάσει της συσχέτισης μεταξύ πειραματικών (y άξονας) και προβλεπόμενων από το μοντέλο (x άξονας) τιμών της μεταβλητής απόκρισης με (r^2) και χωρίς (r^2_o) την τομή της ευθείας παλινδρόμησης, όπως φαίνεται και στην ακόλουθη εξίσωση:

$$r^2_m = r^2 * [1 - (r^2 - r^2_o)^{1/2}]$$

Σε αντίθεση με το μέγεθος R^2_{pred} , το r^2_m δεν εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ των μεμονωμένων τιμών απόκρισης των ενώσεων και της αντίστοιχης μέσης τιμής και, συνεπώς, αποφεύγεται η υπερεκτίμηση της προβλεπτικής ικανότητας μοντέλων σε περιπτώσεις ευρείας κατανομής των τιμών της μεταβλητής απόκρισης. Ένα μοντέλο θεωρείται αξιόπιστο όταν $r^2_m > 0.5$. Το μέγεθος r^2_m μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τον εσωτερικό έλεγχο αξιοπιστίας των μοντέλων, εφαρμόζοντας τη μέθοδο της αφαίρεσης μίας ένωσης (leave - one - out, LOO) ($r^2_{m(LOO)}$).

Αντιστρέφοντας τους άξονες κατά τη συσχέτιση μεταξύ προβλεπόμενων από το μοντέλο (y άξονας) και πειραματικών (x άξονας) τιμών της μεταβλητής απόκρισης, εξάγεται το μέγεθος $r^{2/2}_m$. Η διαφορά μεταξύ των μεγεθών r^2_m και $r^{2/2}_m$ (Δr^2_m) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως μέτρο της προβλεπτικής ικανότητας των μοντέλων, υποδεικνύοντας αξιόπιστα μοντέλα όταν η τιμή της είναι μικρότερη από 0.2.

Τελευταία, τα κριτήρια επικύρωσης των μοντέλων έχουν αυστηροποιηθεί περαιτέρω και απαιτείται τυφλή σειρά ελέγχου (blind test set), δηλαδή αντικείμενα (ενώσεις, δείγματα) για τα οποία δεν υπάρχει καμία προηγούμενη γνώση. Ωστόσο, η επικύρωση με τυφλή ομάδα ελέγχου ενδέχεται να μην είναι πάντα εφαρμόσι-

μη λόγω των πηγών οι οποίες απαιτούνται για τη συλλογή των νέων ενώσεων⁶². Επιπλέον, η χρήση τυφλής ομάδας ελέγχου προϋποθέτει ότι οι νέες ενώσεις εμπίπτουν στο πεδίο εφαρμογής του μοντέλου (βλ. επόμενη παράγραφο).

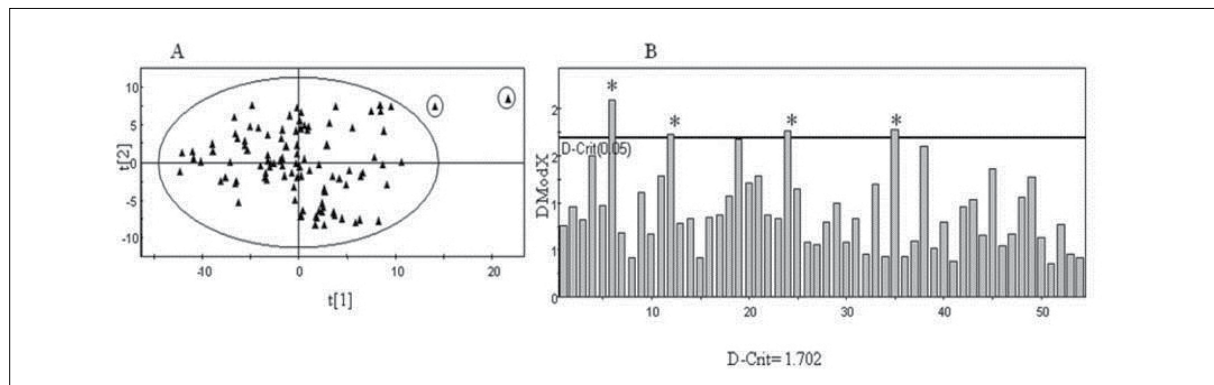
Η ικανότητα ερμηνείας του μοντέλου που προκύπτει δεν αποτελεί ζητούμενο πάντα (!). Σαφώς, ειδικά πχ. σε περιπτώσεις κατηγοριοποίησης ουσιών, είναι πολύ χρήσιμη η πληροφορία που υποκρύπτεται σε ένα τέτοιο μοντέλο αλλά δεν είναι πάντοτε απαραίτητο ότι είναι προφανής ή έστω μερικώς ερμηνεύσιμη η επιλογή συγκεκριμένων descriptors στη σύνθεση του μοντέλου. Αυτό ίσως συναντάται περισσότερο σε μελέτες QSPR, σε σύγκριση με μελέτες QSAR, γιατί ερευνούν συχνά σχέσεις σε χημικές ιδιότητες ή διεργασίες.

9. Πεδίο εφαρμογής (applicability domain).

Ως πεδίο εφαρμογής (applicability domain) ενός μοντέλου QSAR μπορεί να θεωρηθεί το εύρος μέσα στο οποίο το μοντέλο μπορεί να ανεχθεί ένα νέο μόριο. Υπάρχουν περισσότεροι ορισμοί του πεδίου εφαρμογής και του τρόπου προσδιορισμού αντικειμένων (ενώσεις, δείγματα) τα οποία εμπίπτουν ή όχι σε αυτό⁹⁵⁻⁹⁷. Στην πραγματικότητα, το πεδίο εφαρμογής ενός μοντέλου πρέπει να θεωρείται ως ένα μοντέλο αυτό καθ' αυτό ανεξάρτητα από την εξαγωγή του ίδιου του μοντέλου.

Ένας τρόπος για να προσδιοριστεί το εύρος ενός QSAR μοντέλου είναι βάσει της εκμόχλευσης (leverage) μίας ένωσης, μέσω της οποίας μετράται η επιρροή την οποία ασκεί η ένωση στο μοντέλο. Οι τιμές εκμόχλευσης μπορούν να υπολογιστούν για τις ενώσεις της ομάδας εκμάθησης καθώς και για νέες ενώσεις. Στην πρώτη περίπτωση, αποτελεί χρήσιμο μέγεθος για τον εντοπισμό ενώσεων οι οποίες επιδρούν σε σημαντικό βαθμό στις παραμέτρους του μοντέλου και οδηγούν σε ασταθές μοντέλο (δηλαδή, αφαίρεσή τους συνεπάγεται την κατάρρευση του μοντέλου). Στη δεύτερη περίπτωση, χρησιμεύουν για τον έλεγχο του πεδίου εφαρμογής του μοντέλου.

Άλλο κριτήριο για τον προσδιορισμό του πεδίου εφαρμογής αποτελεί η έλλειψη Hotelling T² στα γραφήματα των συντεταγμένων (scores plot), η οποία ουσιαστικά αποτελεί μεταφορά του στατιστικού κριτηρίου βεβαιότητας 95% ή 99%, όπως έχει επιλεγεί από τον χρήστη. Το κριτήριο εάν μια ένωση (αντικείμενο) είναι πιθανό να ανήκει σε ένα πληθυσμό, είναι η απόσταση



Σχήμα 6: Διάγραμμα συντεταγμένων για μία σειρά δεδομένων. Σε κύκλο επισημαίνονται οι ενώσεις οι οποίες βρίσκονται εκτός της έλλειψης Hotelling T^2 και αποτελούν έκροπες τιμές. Β) Ιστογράμμο των τιμών $DModX$ για μία σειρά εκμάθησης. Με αστερίσκο επισημαίνονται οι ιστοί οι οποίοι αντιστοιχούν σε ενώσεις με τιμές $DModX$ που ξεπερνούν την κρίσιμη απόσταση (μαύρη ευθεία)

που έχει η προβολή της στο νέο χώρο των συνιστωσών σε σχέση με τις αποστάσεις που προκύπτουν για τις υπόλοιπες ενώσεις (αντικείμενα). Η έλλειψη Hotelling T^2 ή η σφαίρα, όπως απεικονίζονται γραφικά σε δι-διάστατα και τριδιάστατα γραφήματα συντεταγμένων αντίστοιχα, ορίζουν χώρους γύρω από το κέντρο για τους οποίους υπάρχει 95% ή 99% βεβαιότητα ότι τα σημεία που βρίσκονται εντός ανήκουν σε έναν κανονικό πληθυσμό⁹⁸.

Η δυνατότητα ελέγχου του πεδίου εφαρμογής του μοντέλου γίνεται επίσης μέσω του κριτηρίου Distance to Model on X Block ($DModX$). Με το μέγεθος αυτό ελέγχεται κατά πόσο μία νέα ένωση, η οποία δηλαδή δεν περιλαμβάνεται στην ομάδα εκμάθησης, απέχει από το σύνολο των ενώσεων της ομάδας εκμάθησης όσον αφορά στο χώρο ο οποίος ορίζεται από τις περιγραφικές μεταβλητές. Όταν η απόσταση αυτή υπερβεί μια καθορισμένη (οριακή) τιμή (σε επίπεδο εμπιστοσύνης 0.05), η πρόβλεψη για την ένωση αυτή καθίσταται επισφαλής. Η τιμή αυτή καλείται κρίσιμη απόσταση (critical distance) και εκφράζει τον «όγκο ανοχής» (tolerance volume) γύρω από το μοντέλο, δηλαδή το εύρος του μοντέλου για τα X - δεδομένα. Το μέγεθος $DModX$ προκύπτει από το ποσοστό της μη ερμηνευμένης από το μοντέλο διακύμανσης των X μεταβλητών (X - residuals). Επίσης, είναι δυνατό να υπολογιστεί για κάθε ένωση και το μέγεθος Distance to Model on Y Block ($DModY$), το οποίο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο όταν περισσότερες της μίας μεταβλητές απόκρισης αναλύονται ταυτόχρονα.

Το κριτήριο απόστασης από τον χώρο του X και Y ,

$DModX$ και $DModY$ εκτιμά τη πιθανότητα ένα σημείο να ανήκει στο σμήνος που ορίζουν τα υπόλοιπα με βάση την ύπαρξη υψηλής διαφοροποίησης ως προς κάποιες τιμές εντός των συνόλων X, Y αντίστοιχα. Το σημείο αυτό μπορεί να βρίσκεται ενός της έλλειψης Hotelling αλλά οι υψηλές επί μέρους διαφοροποιήσεις, το χαρακτηρίζουν ως μετρίως ή λανθάνουσα έκτροπη τιμή. Με βάση τις τιμές των ενώσεων στους πίνακες ορίζεται μια μέση τιμή και, με βάση την μεταβλητότητα που παρουσιάζουν γενικότερα τα δεδομένα, ορίζεται μια αποδεκτή απόκλιση. Η μέγιστη απόκλιση από την μέση τιμή, D_{crit} θέτει το όριο, οπότε εξετάζεται αν κάποια ένωση ξεπερνά αυτή την τιμή.

Η διαφορά μεταξύ των δύο διαγνωστικών κριτηρίων, Hotelling T^2 και $DModX$, είναι ότι, ενώ το μέγεθος $DModX$ προκύπτει από τη μη ερμηνευόμενη διακύμανση X (X - residuals), η έλλειψη Hotelling T^2 ορίζεται μέσω της ερμηνευόμενης διακύμανσης. Συνεπώς, τα δύο αυτά εργαλεία μπορούν να εφαρμοστούν συμπληρωματικά⁹⁹.

Η πρόβλεψη του μοντέλου είναι επισφαλής για μόρια τα οποία δεν εντάσσονται στο «χημικό χώρο» που έχει κατασκευάσει και συχνά η πρόβλεψη τους γίνεται με έντονη προέκταση (extrapolation). Η στατιστική πιθανότητα να ανήκει ένα δείγμα/μόριο στον πληθυσμό που περιγράφει το μοντέλο (membership probability) βασισμένη σε αποστάσεις στο χώρο του μοντέλου κάνει μια εκτίμηση της ικανότητας εφαρμογής του μοντέλου σε μια νέα ένωση που εισάγεται σε αυτό. Εάν η πιθανότητα αυτή τείνει στο μηδέν, η πρόβλεψη θα

γίνει με προέκταση, χωρίς βέβαια αυτό να προδικάζει την αστοχία της αλλά απλά να ενημερώνει για το ρίσκο της.

Μία περαιτέρω προσέγγιση για τον έλεγχο του πεδίου εφαρμογής και της αξιοπιστίας των μοντέλων είναι μέσω της επικαιροποίησης τους (updating) κατά τακτικά χρονικά διαστήματα μέσα σε μία συγκεκριμένη περίοδο. Η διαδικασία η οποία ακολουθείται αφορά στην εφαρμογή υπαρχόντων μοντέλων στην πρόβλεψη νέων ενώσεων (τυφλή ομάδα ελέγχου) και ένταξής τους σε αυτά συγκρίνοντας τα τελικά μοντέλα με τα αρχικά. Με τη μεθοδολογία αυτή επιδιώκεται η επέκταση του πεδίου εφαρμογής των μοντέλων και κατ'επέκταση η ενίσχυση της προβλεπτικής τους ικανότητας¹⁰⁰⁻¹⁰¹.

10. Συμπεράσματα

Η αυξανόμενη συσσώρευση δεδομένων και η ανάγκη για αξιοποίηση της χρήσιμης πληροφορίας που εμπεριέχεται σε αυτά, διαχωρίζοντας το 'θόρυβο' και τη μη σχετική πληροφορία, καθιστούν τη χη-

μειοπληροφορική και τις χημειομετρικές μεθόδους απαραίτητα εργαλεία για την ανάπτυξη μοντέλων που είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε προβλέψεις ή/και στην κατανόηση των παραγόντων που διέπουν ένα φαινόμενο/μια διαδικασία. Η ανάπτυξη αξιόπιστων μοντέλων ωστόσο απαιτεί καλή γνώση των εφαρμοζόμενων στατιστικών τεχνικών και σωστή αξιολόγηση των στατιστικών στοιχείων. Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η σωστή, αυστηρή και 'ειλικρινής' επικύρωση των μοντέλων¹⁰² ενώ ο καθορισμός του πεδίου εφαρμογής επιτρέπει την αξιολόγηση της αξιοπιστίας των προβλέψεων. Επί πλέον, τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να αποδίδεται αυξανόμενη σημασία στην προσεκτική 'επιμέλεια' (curation) των βάσεων δεδομένων οι οποίες τροφοδοτούν τα μοντέλα. Η παρούσα ανασκόπηση δεν έθιξε το θέμα της επιμέλειας. Ο αναγνώστης παραπέμπεται σε πρόσφατο άρθρο με συν συγγραφείς ομάδα γνωστών εμπειρογνομόνων σε θέματα QSPR όπου παρέχονται λεπτομερείς οδηγίες για τους κανόνες που πρέπει να ακολουθούνται¹⁰⁴. □

Chemometrics - chem(o)informatics as a tool in quantitative structure - property and structure - activity relationships, qspr & qsar

Nikolaos Kritikos, Theodosia Vallianatou, Yannis Dotsikas, Anna Tsantili - Kakoulidou

Department of Pharmaceutical Chemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Athens,
Panepistimiopolis, Zografou, Athens, 157 01, Greece

Summary

The interdisciplinary fields of Chemometrics and Chem(o)informatics focus mainly on the extraction of valuable information from chemical

data and have a wide range of applicability forming the basis for the development of Quantitative Structure - Properties and Structure - Activity Relationships.

In the present review, the basic terms and the fundamental theory are discussed. The most common techniques for model construction, such as Multiple Linear Regression (MLR), Principal Component Analysis (PCA), Principal Component Regression (PCR), Projection to Latent Structures (PLS) and Artificial Neural Networks (ANN), are described. In support of the statistical methods and metrics the basic mathematical concepts are provided. More to the point, emphasis is given to model evaluation and validation, as well as to the definition and assessment of their applicability domain. The latter is a crucial issue for the critical analysis of predictions and rational interpretation of models.

Βιβλιογραφία

1. Wold, S. (1995). Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it?. *Chem. Intell. Lab. Syst.*, 30, 109 - 115, 1995.
2. Brown F. Chapter 35. Chemoinformatics: What is it and How does it Impact Drug Discovery. *Ann. Rep. Med. Chem.* 375 - 384, 1998
3. Brown, F., Editorial Opinion: Chemoinformatics - a ten year update. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 8, 296 - 302, 2005.
4. Izenman A. (2008) Data Mining. In: G. Casella, S. Fienberg & I. Olkin, eds. *Modern Multivariate: Regression, Classification and Manifold Learning*. New York: Springer Science, pp. 3 - 9.
5. Miller J., Miller J. (2010) *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6th ed. Essex, England: Pearson Education Limited.
6. BIPM, JCGM (2008) Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement. 1st ed. s.l.:JCGM.
7. Aldrich J. Fisher and Regression. *Stat. Sci.*, 20, 401 - 417, 2005.
8. Le T., Chandana Epa V., Burden F.R., Winkler D.A. Quantitative Structure - Property Relationship Modeling of Diverse Materials Properties *Chem. Rev.* 112, 2889 - 2919, 2012
9. Karalis V, Tsantili - Kakoulidou A, Macheras P. Quantitative structure - pharmacokinetic relationships for disposition parameters of cephalosporins. *Eur J Pharm Sci.* 20, 115 - 23, 2003
10. Kaliszan R. (1987) Quantitative structure - chromatographic relationships, vol 93, *Chemical Analysis*. Wiley, New York.
11. Kaliszan R. Quantitative structure - retention relationships applied to reversed - phase high - performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 656, 417 - 435, 1993.
12. Fragkaki A.G., Tsantili - Kakoulidou A., Angelis Y.S., M. Koupparis M., Georgakopoulos C. Gas chromatographic quantitative structure - retention relationships of trimethylsilylated anabolic androgenic steroids by multiple linear regression and partial least squares. *J. Chromatogr. A* 1216, 8404 - 8420, 2009
13. Giaginis C., Tsantili - Kakoulidou A., Quantitative Structure - Retention Relationships as Useful Tool to Characterize Chromatographic Systems and Their Potential to Simulate Biological Processes. *Chromatographia* 76, 211 - 226, 2013.
14. Martin Y.C. (1978) *Quantitative Drug Design. A Critical Introduction*. Marcel Dekker: New York, 1978
15. Hansch C., Hoekman D., Leo A., Zhang L., Li, P. The expanding role of quantitative structure - activity relationships (QSAR) in toxicology. *Toxicol. Lett.* 79, 45 - 53, 1995.
16. Todeschini R., Consonni V. (2009) *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*. 2nd ed. Weinheim: Wiley - VCH Verlag - GmbH & Co.
17. Nantasenamat C., Isarankura - Na - Ayudhya C., Naenna T., Prachayasittikul V. A practical overview of quantitative structure - activity relationship (Review). *Exp. Clin. Sci. J.*, 8, 74 - 88, 2009.
18. Nantasenamat C., Isarankura - Na - Ayudhya C., Prachayasittikul V. Advances in computational methods to predict the biological activity of compounds. *Exp. Opin. Drug Disc.* 5, 633 - 654, 2010.
19. Cros, A. (1863) *Thesis: Action de l'alcool amylique sur l'organisme.*, Strasbourg: University of Strasbourg
20. Hammett, L. P. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. *Benzene Derivatives. J. Am. Chem. Soc.* 59, 96, 1937.
21. Hansch C., Fujita T. ρ - σ - π analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 1616 - 1626, 1964.
22. Kubinyi H. *Free Wilson Analysis. Theory, Applications and its Relationship to Hansch Analysis*. *Quant. Struct. - Act. Relat.* 7, 121 - 133, 1988
23. Eriksson L., Johansson E., Kettaneh - Wold N., Trygg J., Wikström C., Wold S. (2006) *Multi - and Megavariate Data Analysis Part 1: Principles & Applications*. 2nd ed. Umea, Sweden: MKS Umetrics AB.
24. Martin T.M., Harten P., Young D.M., Muratov E.N., Golbraikh A., Zhu H., Tropsha A.. Does rational selection of training and test sets improve the outcome of QSAR modeling? *J. Chem. Inf. Model.* 52, 2570 - 2578, 2012.

25. Golbraikh A., Tropsha A. 2002. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training & test set selection. *Mol. Divers.* 5, 231 - 243, 2002.
26. Kubinyi H. (1997) Chapter 1. A General View on Similarity and QSAR Studies. In: *Computer - Assisted Lead Finding and Optimization: Current Tools for Medicinal Chemistry*. Zürich, Switzerland: Verlag Helvetica Chimica Acta.
27. Sadowski J., Gasteiger J., Klebe G. Comparison of Automatic Three - Dimensional Model Builders Using 639 X - Ray Structures. *J. Chem. Inf. Model.* 34, 1000 - 1008, 1994.
28. Worachartcheewan A. Mandi P., Prachayasittikul V. Toropova A. Toropov A. · Nantasenamat C.. Large - scale QSAR study of aromatase inhibitors using SMILES - based descriptors. *Chem. Intell. Lab. Syst.* 138 120 - 126, 2014.
29. Helguera A., Combes R., Gonzalez M., Cordeiro, M. Applications of 2D Descriptors in Drug Design. *Curr. Top. Med. Chem.* 8, 1628 - 1655, 2008.
30. Biggs N., Lloyd E., Wilson R. (1986) *Graph Theory*. London: Oxford University Press, pp. 1736 - 1936.
31. Bondy A., Murty U. (2008) *Graph Theory In Mathematics*. Graduate Texts in Mathematics, Vol. 244 ed. Springer Science.
32. Perkins R., Fang H., Tong, W., Welsh, W. Quantitative structure - activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology.. *Env. Toxicol. Chem.* 22, 1666 - 1679, 2003.
33. Stigler S. M. Francis Galton's Account of the Invention of Correlation. *Stat. Sci.*, 4, 73 - 79, 1989.
34. Pearson K. Notes on regression and inheritance in the case of two parents.. *Proc. Roy. Soc. Lond.* 58, 240 - 242, 1895.
35. Francis D., Coats A., Gibson D. How high can a correlation coefficient be?. *Int. J. Cardiol.* 69, 185 - 199, 1999.
36. Kendall M., Stuart A. (1973) *Inference and Relationship*. In: *The Advanced Theory of Statistics Vol.2*, 3rd edition Griffin, London.
37. Fisher R. (1924). On a distribution yielding the error functions of several well - known statistics. (Conference of the International Mathematical Union). Toronto, USA, Univ. Toronto Press.
38. Katz M. H. (2011) What are variable selection techniques? (Section 7.8). In: *Multivariable Analysis: A Practical Guide for Clinicians and Public Health Researchers*. Cambridge, Cambridge University Press, pp. 134 - 139.
39. Hotelling H. Relations between two sets of variates.. *Biometrika* 27, 321 - 377, 1936.
40. Hotelling, H. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *J. Educ. Psychol.* 24., 417 - 441 and 498 - 520, 1933.
41. Abdi H., Williams L. 2010. Principal component analysis (Overview). *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, Vol. 2, p. 433 - 459.
42. Pearson K. On Lines and Planes of Closest Fit to Systems of Points in Space. *Philosophical Magazine*, 2, 559 - 572, 1901.
43. Hawkins T. Cauchy and the spectral theory of matrices. *Hist. Math.*, 2, 1 - 29, 1975.
44. Gu M., Ruhe A, Lehoucq, R. Sorensen D., Freund R., Sleijpen G., van der Vorst H., Bai Z., Li R. (2000) *Hermitian Eigenvalue Problems*. In: *Templates for the Solution of Algebraic Eigenvalue Problems: A Practical Guide*. Philadelphia: Society for Industrial & Applied Mathematics, pp. 45 - 107.
45. Parlett B. (1998) *The Symmetric Eigenvalue Problem*. 2nd. ed. Philadelphia: Society for Industrial and Applied Mathematics.
46. Snedecor G., Cochran W. (1980) *Statistical Methods*. 7th ed. ed. Ames, IA: Iowa State Press.
47. Rodgers J., Nicewander W. Thirteen ways to look at the correlation coefficient. *The American Statistician*, 42, 59 - 66, 1988.
48. Izenman A. J. (2008) *Modern Multivariate Statistical Techniques: Regression, Classification, and Manifold Learning (Springer Texts in Statistics Series)*. 1st ed. New York, USA: Springer Science.
49. Zhu M., Ghodsi A. Automatic dimensionality selection from the scree plot via the use of profile likelihood. *Computational Statistics & Data Analysis*, 51., 918 - 930, 2006.
50. Defays D. An efficient algorithm for a complete link method. *The Computer Journal (British Computer Society)*, 20, 364 - 366, 1977.
51. SAS - Institute (2009) *The DISTANCE Procedure: Proximity Measures*. In: *SAS/STAT 9.2 User's Guide*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., p. 1483.

52. Estivill - Castro V. Why so many clustering algorithms — A Position Paper. ACM SIGKDD Explorations Newsletter; 4, 65 - 75, 2002
53. Rao R. The utilization of multiple measurements in problems of biological classification. J. Roy. Stat. Soc. Series B, 10, 159 - 203, 1948.
54. Fisher R. The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems.. Annals of Eugenics, 7, 179 - 188, 1936.
55. Jolliffe I. A note on the Use of Principal Components in Regression. J. Roy. Stat. Soc., Series C, 31, 300 - 303, 1982.
56. Lindgren F, Geladi P, Wold S. The kernel algorithm for PLS. J. Chemom. 7, p. 45 - 59, 1993.
57. Rannar S., Lindgren F, Geladi P, Wold S. A PLS Kernel Algorithm for Data Sets with Many Variables and Fewer Objects. Part 1: Theory and Algorithm. J. Chemom. 8, 111 - 125, 1994.
58. Dayal B., McGregor J. Improved PLS Algorithms. J. Chemom. 11, 73 - 85, 1997.
59. Wold S., Sjostrom M., Eriksson L. PLS - regression: a basic tool of chemometrics. Chem. Intell. Lab. Syst. 58, 109 - 130, 2001..
60. Kubinyi H. Variable Selection in QSAR Studies. I. An Evolutionary Algorithm. Quant. Struct. - Act. Relat. 13, 285 - 294, 1994
61. Kubinyi H. Variable Selection in QSAR Studies. II. A Highly Efficient Combination of Systematic Search and Evolution. Quant. Struct. - Act. Relat. 13, 393 - 401, 1994
62. Rosenblatt F. The Perceptron: A Probabilistic Model For Information Storage And Organization In The Brain. Psychol. Rev. 65, 386 - 408, 1958.
63. McCulloch W.S, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity Bull. Math. Biol. 52, 99 - 115, 1990
64. Klopman G., Li J., Wang S., Dimayuga M. Computer Automated log P Calculations Based on an Extended Group Contribution Approach. J. Chem. Inf. Model., 34, 752 - 781, 1994.
65. Viswanadhan V., Ghose A., Revankar G., Robins R. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure - activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain. Journal of Chemical Information and Modeling, 29, 163 - 172, 1989.
66. Csizmadia, F., Tsantili - Kakoulidou, A., Panderi, I. & Darvas, F. Prediction of distribution coefficient from structure. 1. Estimation method. J. Pharm. Sci. 86, 865 - 871, 1997.
67. Mannhold R., van de Waterbeemd H. Substructure and whole molecule approaches for calculating log P. J. Comp. - Aid. Mol. Des. 15: 337 - 354, 2001
68. Zwanzig R. High-Temperature Equation of State by a Perturbation Method. I. Nonpolar Gases. J. Chem. Phys. 22, 1420, 1954..
69. Goodford P. J. A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules. J. Med. Chem. 28, 849 - 857, 1985
70. Helguera A., Combes R., Gonzalez M., Cordeiro M. Applications of 2D descriptors in drug design: a DRAGON tale. Curr. Top. Med. Chem. 8, 1628 - 1655, 2008.
71. Nešetřil, J. & Ossona de Mendez, P., 2012. Sparsity: Graphs, Structures, and Algorithms, Algorithms and Combinatorics. Berlin: Springer Science.
72. Varmuza K., Filzmoser P., Dehmer M. Multivariate linear QSPR/QSAR models: Rigorous evaluation of variable selection for PLS. Comp. Struct. Biotech. J. 5, 1 - 10, 2013.
73. Farrar D., Glauber R, Multicollinearity in Regression Analysis: The Problem Revisited. Rev. Econ. Stat. 49, 92 - 107, 1967.
74. O'Brien R. A Caution Regarding Rules of Thumb for Variance Inflation Factors. Quality & Quantity, 41, 673, 2007.
75. Bro R., Smilde A. Centering and scaling in component analysis. J. Chemom. 17, 16 - 33, 2003.
76. Newman M. Power laws, Pareto distributions and Zipf's law. Contem. Phys. 4, 323 - 351, 2005.
77. Dubitzky W., Granzow M., Berrar D. (2007) Fundamentals of Data Mining in Genomics and Proteomics. New York, USA, Springer Science.
78. Eigenvector Research (2010) Solo Software User's Guide. v 1.1 ed. Wenatchee, WA: Eigenvector Research Inc..
79. Fink E. The FAQs on data transformation. Comm. Monogr. 76, 379 - 397, 2009.

80. Box G., Cox D., An Analysis of Transformations. *J. e Roy. Stat. Soc. B* 26, 211 - 252, 1964.
81. Durbin J., Watson G. 1. Testing for serial correlation in least squares regression. *III. Biometrika*, 58, 1 - 19, 1971.
82. Yuan M., Ekic A., Lu Z., Monteiro R. Dimension reduction and coefficient estimation in multivariate linear regression *J. Roy. Stat. Soci.: Series B (Statistical Methodology)* 69, 329 - 346, 2007.
83. De Maesschalck R, Jouan - Rimbaud D., Massart D.L. The Mahalanobis distance. *Chem. Intell. Lab. Sys.* 50, 1 - 18, 2000.
84. Wold S., Sjostrom M. (1977) SIMCA: A method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. *Chemometrics Theory and Application*, American Chemical Society Symposium Series 52 ed. Washington, D.C. American Chemical Society.
85. Welch W. Construction of permutation tests. *J. Am. Stat. Assoc.* 85, 693 - 698, 1990.
86. Zhang P. Model selection via multifold cross validation. *Ann. Stat.*, 21, 299 - 313, 1993.
87. Breiman L., Friedman J., Olshen R., Stone C. (1984) Classification and regression trees.. Belmont, CA: Wadsworth Advanced Books and Software.
88. Picard R., Cook R. Cross - validation of regression models. *J. Am. Stat. Assoc.* 79, 575 - 583, 1984.
89. Efron B. Bootstrap methods: Another look at the jackknife. *Ann. Stat.*, 7, 1 - 26, 1979.
90. Varian H. Bootstrap Tutorial. *Math. J.* 9, 768 - 775, 2005.
91. Roy P. P., Leonard J. T., Roy, K. Exploring the impact of size of training sets for the development of predictive QSAR models. *Chem. Intell. Lab. Syst.* 90, 31 - 42, 2008.
92. Roy P. P., Roy K. On Some Aspects of Variable Selection for Partial Least Squares Regression Models. *QSAR Comb. Sci.* 27, 302 - 313, 2008.
93. Veerasamy R., Rajak H., Jain A., Sivasadan S., Varghese C. P., Agrawal R. K. Validation of QSAR Models - Strategies and Importance. *Int. J. Drug Des. Disc.* 2, 511 - 519, 2011.
94. Ojha P. K., Mitra I., Das R. N., Roy K. Further exploring r²m metrics for validation of QSPR models. *Chem. Intell. Lab. Sys.* 107, 194 - 205, 2011.
95. Netzeva I., Worth A. P., Aldenberg T., Benigni R., Cronin M. T.D., Gramatica P., Jaworska J. S., Kahn S., Klopman G., Marchant C. A, Myatt G., Nikolova - Jeliaskova N., Patlewicz G. Y., Perkins R., Roberts D. W., Schultz T. W., Stanton D. T., van de Sandt J. J.M., Tong W., Veith G., Yang C. Current Status of Methods for Defining the Applicability Domain of (Quantitative) Structure - Activity Relationships The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 52.
96. Weaver S., Gleeson M. P. The importance of the domain of applicability in QSAR modeling. *J. Mol. Graph. Model.* 26, 1315 - 1326, 2008.
97. Dragos H., Gilles M. Alexandre V. Predicting the Predictability: A Useful Approach to the Applicability Domain Problem of QSAR Models. *J. Chem. Inf. Model.* 49, 1762 - 1776, 2009.
98. Hotelling H. The generalization of Student's ratio. *Ann. Math. Stat.* 2, 360 - 378, 1931.
99. Eriksson L., Jaworska, J. Worth A. P., Cronin M. T. D., McDowell R. M., Gramatica P., Methods for Reliability and Uncertainty Assessment and for Applicability Evaluations of Classification - and Regression - Based QSARs. *Envir. Health Persp.* 111, 1361 - 1375, 2003.
100. Rodgers S. L., Davis A. M., van de Waterbeemd H. Time - Series QSAR Analysis of Human Plasma Protein Binding. *QSAR Comb. Sci.* 26, 511 - 21, 2007.
101. Rodgers S. L., Davis A. M., Tomkinson N. P., van de Waterbeemd H. Predictivity of Simulated ADME AutoQSAR Models over Time. *Mol. Inf.* 30, 256 - 266, 2011.
102. Tropsha A., Gramatica P., Gombar V. K. The Importance of Being Earnest: Validation is the Absolute Essential for Successful Application and Interpretation of QSPR Models. *QSAR Comb. Sci.* 22, 69 - 77, 2003.
103. Fourches D., Muratov E., Tropsha A. Curation of chemogenomics data. *Nat. Chem. Biol.* 11, 535, 2015.
104. Cherkasov A., Muratov E.N., Fourches D., Varnek A., Baskin I.I., Cronin M., Dearden J., Gramatica P., Martin Y.C., Todeschini R., Consonni V., Kuz'min V.E., Cramer R., Benigni R., Yang C., Rathman J., Terfloth L., Gasteiger J., Richard A., Tropsha A. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? *J. Med. Chem.* 57, 4977 - 5010, 2014.



Report on the 21st Annual EAFP Conference

The 21st Annual Conference of the European Association of Faculties of Pharmacy (EAFP) took place from 14 to 16 of May 2015 at the Central Building of the University of Athens, Greece.

It was co-chaired by Professor Panos Macheras, Professor Anna Tsantili Kakoulidou and Assoc. Professor Dimitis Rekkas. The topic of the Meeting was entitled 'Quality Assurance in Pharmacy Education'. It was attended by 130 participants including Eminent Professors from top universities across Europe as well as many students and representatives of the European Pharmacy Student Association (EPSA).

The scientific Program of the Conference included:

- 1 Pre-Conference Workshop
- 6 sessions
- 1 Workshop
- 1 round table for Erasmus Plus Program
- The EPSA-EAFP Meeting
- 12 Oral Presentations
- 23 Poster Presentations

The Meeting has been a very successful event during which there was a fruitful exchange of ideas on different aspects of pharmacy education

as well as of student and staff mobility across the European countries. There were very enthusiastic reports by the students who had already the experience or are in the process to participate in the Erasmus exchange programs. They emphasized the contribution of this experience in strengthening their scientific background and their overall scientific personality despite the administration problems that they often have to face.

It should be noted that it is a second time that the University of Athens hosted the EAFP Annual Meeting. In 2003, the 9th Annual Meeting had been successfully organized in Athens with main topic the harmonization of Pharmacy Education in the frame of the Bologna Bachelor-Master Model.

...and a few words on the history and the aim of EAFP

The European Association of Faculties of Pharmacy (EAFP) was founded in Paris on October 1992 in the aim to promote contacts and collaboration between the Faculties of Pharmacy in Europe, as well as the collaboration with the European authorities and national and international organizations in the field of pharmacy education and profession.



EAFP is nowadays at the forefront of developments in pharmacy education and pharmacy in the various professional settings including community pharmacy, hospital and clinical pharmacy, industrial pharmacy and the pharmaceutical regulatory field. EAFP serves as a platform for its member institutions to be part of the changes, plan the future and address

challenges to ensure that the high standards that are achieved in pharmacy education and research within faculties of pharmacy is maintained.

More information on EAFP mission and activities as well as its historical documents can be found at the website <http://eafponline.eu/>

Its next annual conference will be held at 12 - 14 May 2016 in Chatenay-Malabry, France. □



Report on the IXth Joint Meeting in Medicinal 7-10 June 2015, Athens - Greece

The IXth Joint Meeting in Medicinal was organized by the Hellenic Society of Medicinal Chemistry at 7-10 June, 2015 in Athens, Greece. It was chaired by Professor Anna Tsantili-Kakoulidou and was an event sponsored by the European Federation of Medicinal Chemistry.

The IXth JMMC followed the tradition created by several European national medicinal chemistry societies to organize such joint scientific events in the years between the biennial International Symposia on Medicinal Chemistry (EFMC/ISMC). Started in 1999 in Taormina, the JMMCs have been up to now hosted in Budapest (2001 and 2009), in Krakow (2003), in Vienna (2005), Portoroz (2007), Catania (2011) and in Lublin (2013). During all these years the JMMCs have been recognized as important scientific events and the network of participating countries has been expanded to include nine European countries- Austria, Croatia, Greece, Hungary, Italy, Poland, Slovakia, Slovenia and Czech Republic. The principal aim of the JMMCs is to disseminate medicinal chemistry activities carried out mainly in the participating countries and to promote interactions and collaborations between scientists.

The 2015 JMMC edition, organized in Athens, was a very successful scientific event which covered a broad spectrum of medicinal chemistry topics and advances in drug discovery reflecting the evolution in the rapidly changing environment of drug research. The Symposium was opened by the inaugural lecture of Emeritus Professor Bernard Testa with a challenging lecture entitled 'The Concept of Stereoselectivity in Pharmacology - A Candle or a Spotlight?' which provoked lively discussion. The scientific program followed with 10 plenary lectures, 17 main lectures and 12 oral communications, while more than 100 posters were presented in two poster sessions. Three posters presented by young researchers were awarded and presented as flash talks before the end of the symposium.

The three awardees are:

- **Drier Dietrich** (University of Technology, Vienna, Austria) for the poster entitled: SYNTHESIS OF POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY AGENTS INSPIRED BY NATURE.
- **Maria-Elena Liosi** (Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens, Greece) for the poster entitled 'STRUCTURE - AND



LIGAND - BASED DRUG DESIGN STUDIES FOR IDENTIFICATION OF NOVEL Myc INHIBITORS'

• **Veronica Rodriguez** (Sapienza University of Rome, Italy). for the poster entitled: 'PYRROLE - AND INDOLE-CONTAINING TRANLYCYPROMINE DERIVATIVES AS NOVEL LYSINE-SPECIFIC DEMETHYLASE 1 INHIBITORS ACTIVE ON CANCER CELLS.

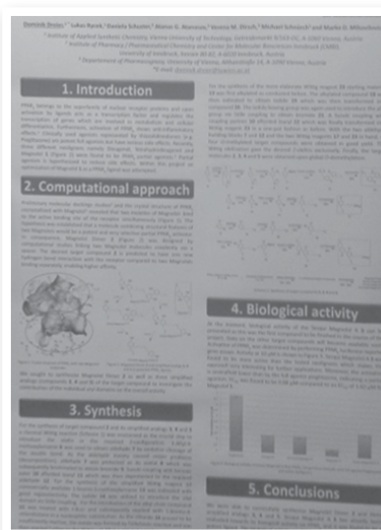
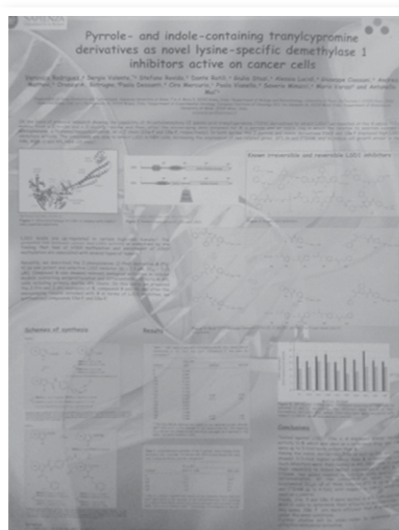
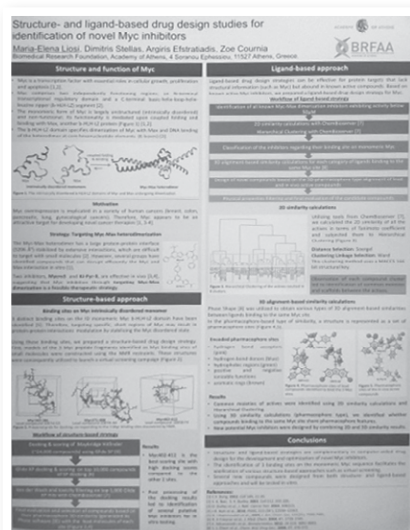
(see below photos of the posters)

The closing lecture, given by Professor Stefan Hanessian, entitled 'The Enterprise of Drug

Discovery from an Academic Perspective: From Design to Practice' passed challenging messages to the young medicinal chemists, stimulating a creative research reasoning.

More than 160 participants, among them many students, created during the Symposium a warm scientific atmosphere, which encouraged the exchange of ideas between medicinal chemists and the creation of new collaborations.

The next meeting of this series of Symposia will take place in 2017 in Croatia. □



Posters awarded in the IXth Joint Meeting in Medicinal

Ημερίδες Επιμόρφωσης & Εκπαίδευσης Φαρμακοποιών Φαρμακείου από την Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία



1. Φ.Σ. Ηρακλείου 1/3/2015, 2. Φ.Σ. Μαγνησίας & Αλμυρού, 14/3/2015, 3,4 Φ.Σ. Πέλλας, Κυριακή

Οι Επιμορφωτικές Ημερίδες που διοργάνωσε η ΕΦΕ συνεχίστηκαν με επιτυχία και ο Β' Κύκλος εγκαινιάσθηκε στα Χανιά, με τη συνδιοργάνωση των Φαρμακευτικών Συλλόγων Χανίων & Ρεθύμνης. Ο Β' κύκλος των σεμιναρίων ολοκληρώθηκε με μεγάλη συμμετοχή και επιτυχία και οι ημερίδες που περιλάμβανε διοργανώθηκαν σε συνεργασία με τον εκάστοτε τοπικό Φαρμακευτικό Σύλλογο. Επιμορφωτικές Ημερίδες, με τη συμμετοχή φαρμακοποιών και ευρύτερου κοινού έγιναν στις εξής πόλεις:

- Κυριακή 5/10/2014, Φ.Σ. Ιωαννίνων
- Κυριακή 12/10/2014, Φ.Σ. Πατρών
- Κυριακή 19/10/2014, Φ.Σ. Λάρισας
- Σάββατο 1/11/2014, Φ.Σ. Αιτωλοακαρνανίας
- Κυριακή 23/11/2014, Φ.Σ. Σερρών
- Σάββατο 29/11/2014, Φ.Σ. Κέρκυρας
- Κυριακή 30/11/2014, Φ.Σ. Θεσσαλονίκης

Με τη βεβαιότητα ότι οι φαρμακοποιοί έχουν ανάγκη περισσότερο από ποτέ την επιστημονική τεκμηρίωση, την συναδελφική ενθάρρυνση, μέσα στους δύσκολους καιρούς που διανύει η επιστήμη και το λειτούργημά τους: ένα βήμα ακόμη πιο κοντά στον άνθρωπο - ασθενή, μια συμβουλή και παρακολούθηση που σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα ζωής του.

Μετά την ολοκλήρωση του Β' Κύκλου Ημερίδων η ΕΦΕ προχώρησε στον Γ' Κύκλο Ημερίδων του οποίου το πρόγραμμα παρατίθεται στην επόμενη σελίδα.

Για περαιτέρω ενημέρωση, για τη θεματολογία και τον τόπο διεξαγωγής της κάθε Ημερίδας ανά νομό, επικοινωνήστε μαζί μας στο 211 100 1762 ή στο e.aggelopoulou@zita-management.com. □

Πρόγραμμα Γ' Κύκλου Ημερίδων

1/3/2015

Φ. Σ. Ηρακλείου - Ηράκλειο

- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Πρακτική, από την Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου, Α' Αντιπρόεδρο της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Φαρμακοεπαγρύπνηση σε σχέση με την ασφαλή χρήση των φυτικών προϊόντων στο Φαρμακείο, από την Ιωάννα Χήνου Καθηγήτρια στον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία από την AstraZeneca, για το Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία, από τον Γεώργιο Μελέτη, Διευθυντή ΕΣΥ, Γ.Ν. Βενιζέλειο Ηρακλείου.

14/3/2015

Φ. Σ. Μαγνησίας & Αλμυρού - Βόλος

- Μη Υποχρεωτικός Συνταγογραφούμενα Φάρμακα, από την Ελένη Σκαλτσά, Ταμία της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική: Ο ρόλος του Φαρμακοποιού, από την Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου, Α' Αντιπρόεδρο της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής στο ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία από την AstraZeneca, για το Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία, από τον Ανδρέα Δημουλή, Πνευμονολόγο.

29/3/2015

Φ. Σ. Πέλλας - Έδεσσα

- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική, από τον Άλκη Παπαχρήστο, Κλινικό Φαρμακοποιό.
- Δορυφορική Ομιλία PFIZER, «Σεξουαλική Υγεία: Δικαιώμα όλων», από τον Παύλο Γκρίτσιο, Χειρουργό - Ουρολόγο - Ανδρολόγο, Διδάκτορα Πανεπιστημίου Θεσ/νικης, F.E.B.U.
- Δορυφορική Ομιλία AstraZeneca, «Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία» από τον Δημήτριο Λαγονίδη, Διευθυντή ΜΕΘ του Νοσοκομείου Γιαννιτσών.
- Σχέση Φαρμακοποιού - Πελάτη: δυνατό όπλο στην αντιμετώπιση εναλλακτικών καναλιών διάθεσης, από τον Πέτρο Κασαρτζιάν, Φαρμακοποιό - Χημικό Φαρμάκων, Αντιπρόεδρο ΑΚΜΕΥ (Ακαδημία Marketing Επαγγελματιών Υγείας).

25/4/2015

Φ.Σ. Δωδεκανήσου - Ρόδος (πόλη)

- Φυτοθεραπεία - Βοτανοθεραπεία, από την Ιωάννα Χήνου, Γενική Γραμματέα της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων, ΕΚΠΑ.
- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική: Ο ρόλος του φαρμακοποιού στην παρακολούθηση των θεραπευτικών συγκεντρώσεων των φαρμάκων στο αίμα, από την Τζούλια Αττά - Πολίτου, Φαρμακοποιό - Τοξικολόγο, Β' Αντιπρόεδρο ΕΦΕ και Αν. Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία PFIZER «Σεξουαλική Υγεία: Δικαιώμα όλων», από τον Βασίλειο Γραμμέλη, Παθολόγο - Ιατρικό Διευθυντή GEP Pfizer Hellas.
- Δορυφορική Ομιλία AstraZeneca «Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία», από τον Κρητικό Δημήτριο, Πνευμονολόγο.

10/5/2015

Φ.Σ. Μεσσηνίας - Καλαμάτα

24/5/2015

Φ. Σ. Εύβοιας - Χαλκίδα

7/6/2015

Φ. Σ. Δράμας και Ξάνθης - Δράμα

21/6/2015

Φ. Σ. Κοζάνης - Κοζάνη

Χορηγοί ομιλιών:

AstraZeneca

Pfizer

Η Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία ευχαριστεί θερμά τις εταιρείες, οι οποίες μέσω της ενεργούς παρουσίας και συμμετοχής τους στις Επιμορφωτικές Ημερίδες της ΕΦΕ συμβάλλουν στην προώθηση της Επιστημονικής Γνώσης

ΧΡΥΣΟΙ ΧΟΡΗΓΟΙ



ΑΡΓΥΡΟΙ ΧΟΡΗΓΟΙ



ΧΟΡΗΓΟΙ



ΧΟΡΗΓΟΙ



Pharmaceutical Laboratories S.A.



ΒΟΤΑΝΑ / ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΕΣ / ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ / ΕΡΕΥΝΑ

KORRES



Ο ειδικός στη φυτοθεραπεία

l'Entreprise de l'Année® 2013



ΥΠΟΣΤΗΡΙΚΤΗΣ



ΧΟΡΗΓΟΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ



ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

SEPTEMBER 14-16, 2015

ANTWERP, BELGIUM

Frontiers in Medicinal Chemistry Symposium

<http://www.frontiers2015.org>

SEPTEMBER 17, 2015

ANTWERP, BELGIUM

2nd EFMC Young Medicinal Chemist Symposium (EFMC-YMCS 2015)

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915995&cle_data=1360153425

SEPTEMBER 20-25, 2015

VIENNA, AUSTRIA

8th Summer School on Drug Design

<http://www.univie.ac.at/europin/summerschool/europin-summerschool.html>

SEPTEMBER 20-25, 2015

VIENNA, AUSTRIA

8th Summer School on Drug Design

<http://www.univie.ac.at/europin/summerschool/europin-summerschool.html>

SEPTEMBER 27-30, 2015

OEGSTGEEST (NEAR LEIDEN), THE NETHERLANDS

11th EFMC Short Course on Medicinal Chemistry - Engineering of Biopharmaceuticals

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915978

NOVEMBER 15-18, 2015

REHOVOT, ISRAEL

6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (EFMC-ASMC'15)

<http://www.efmc-asmc2015.org>

MAY 15-19, 2016

CAMERINO, ITALY

33rd Camerino-Cyprus Symposium : "Receptor Chemistry: Reality and Vision"

<http://www.unicam.it/farmacia/symposium/welcome.htm>

AUGUST 28 - SEPTEMBER 1, 2016

MANCHESTER, UK

XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC 2016)

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915829

SEPTEMBER 4-8, 2016

VERONA, ITALY

**21st European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationship
Where Molecular Simulations Meet Drug Discovery**

Aptuit Conference Center, website: www.euroqsar2016.org

ΔΥ FORUM

ΔΙΑΤΡΟΦΗ | ΥΓΕΙΑ | ΟΜΟΡΦΙΑ

www.dyoforum.gr

Δηλώστε συμμετοχή στο μεγαλύτερο Εκθεσιακό και Συνεδριακό Forum

16 - 17 Απριλίου 2016

Ο όμιλος **ZITA** (Zita Congress & Zita Medical Management) και το περιοδικό «**ΔΥΟ**» (Διατροφή - Υγεία - Ομορφιά), οργανώνουν **Επιστημονικό και Εκθεσιακό Forum** στις **16 & 17 Απριλίου 2016**. Πολύτιμοι αρωγοί στην προσπάθεια αυτή είναι συγκεκριμένες επιστημονικές εταιρείες, οι οποίες θα διοργανώσουν **δέκα (10) Επιστημονικές Ημερίδες με ευρεία γκάμα θεματολογίας και καταξιωμένους ομιλητές.**

ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΩΝ



Επιστημονικές Εταιρείες,
Ιατροί, Φαρμακοποιοί,
Επιστήμονες του χώρου
της Υγείας, Διατροφής,
Ομορφιάς και η αντίστοιχη
Βιομηχανία συναντώνται
σε μια απόλυτα
διαδραστική εκδήλωση

Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ
ΙΑΤΡΩΝ,
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΩΝ,
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΕΙΝΑΙ ΔΩΡΕΑΝ



ORGANIZATION:
ZITA MEDICAL MANAGEMENT



1st km Peanias-Markopoulou Ave. www.zita-group.com
Εμπορική Διεύθυνση: Κουλουμπής Γεράσιμος
tel.: +30 211 1001780 fax: +30 210 6642116

METROPOLITAN
EXPO EXHIBITION CENTRE

Ένα μυαλό... χειμώννα καλοκαίρι;



flying colours

Το NeuroAge είναι μία σειρά συμπληρωμάτων διατροφής που υποστηρίζει την γνωστική λειτουργία, την πνευματική εγρήγορση και τη διευκόλυνση του ύπνου.

NeuroAge

- Βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου και την ενίσχυση της μνήμης. Περιέχει έναν αποτελεσματικό συνδυασμό βασικών συστατικών που έχει αποδειχθεί ότι βοηθά στην υποστήριξη ενός υγιούς εγκεφάλου.

• Σίδηρος¹:

- Συμβάλλει στη φυσιολογική γνωστική λειτουργία.

• Παντοθενικό Οξύ¹:

- Συμβάλλει στη φυσιολογική διανοητική απόδοση.

• Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

NeuroAge^{NRG}

- Έχει ειδικά σχεδιαστεί για να συμβάλει στην ενίσχυση της εγρήγορσης όταν χρειαστεί. Επιπλέον βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου, της συγκέντρωσης και της μνήμης.

• Σίδηρος¹, Παντοθενικό Οξύ¹, Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

+ Καφεΐνη¹:

- Συμβάλλει στην ενίσχυση της εγρήγορσης και στη βελτίωση της συγκέντρωσης.

+ (L)-Θειανίνη:

- Συμβάλλει στη βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας.

NeuroAge^{Sleep}

- Έχει ειδικά σχεδιαστεί για να συμβάλει στη διευκόλυνση του ύπνου και στη μείωση του χρόνου μετάβασης στον ύπνο. Επιπλέον βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου και της μνήμης.

• Σίδηρος¹, Παντοθενικό Οξύ¹, Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

+ Μελατονίνη¹:

- Συμβάλλει στη μείωση του χρόνου μετάβασης στον ύπνο.

+ Βαλεριάνα:

- Συμβάλλει στη διευκόλυνση του ύπνου.



1. Εγκεκριμένο Συστατικό

Συμπληρώματα Διατροφής με σίδηρο και παντοθενικό οξύ. Διαβάστε τις "Οδηγίες Χρήσης" για τη συνιστώμενη δόσολογία. Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ημερήσια δόση. Τα συμπληρώματα διατροφής δεν υποκαθιστούν την ισορροπημένη διατροφή και τον υγιεινό τρόπο ζωής.

Φυλάσσεται μακριά από τα παιδιά.

Αριθμοί Γνωστοποίησης ΕΟΦ: NeuroAge 70674 / 4-10-2012, NeuroAge NRG 96836/7-11-2014, NeuroAge Sleep 96837/7-11-2014

2. Κλινικά Ελεγμένο Συστατικό



ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ
ΣΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΙΑ

NeuroAge

Κρατά τη μνήμη σε εγρήγορση.

Αποκλειστικός Διανομέας για την Ελλάδα:

ELPEN Α.Ε. Φαρμακευτική Βιομηχανία

Τμήμα Consumer Health Care

Λεωφ. Μαραθώνος 95, 190 09 Πικέρμι Αττικής, Τηλ.: 211 1865 347,

Εθνικής Αντιστάσεως 114, 551 34 Θεσσαλονίκη, Τηλ.: 2310 459 920-1

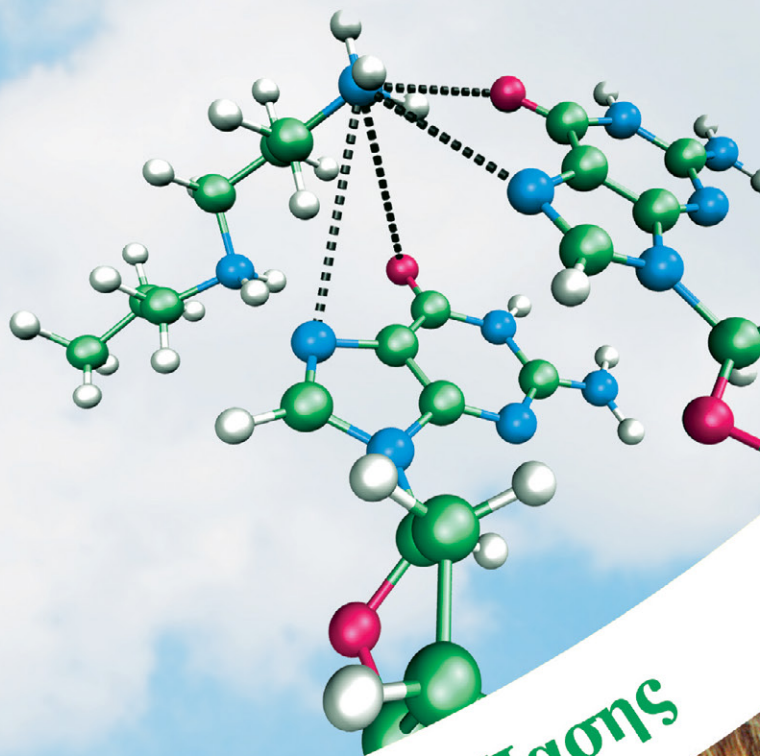
www.elpen.gr, farmakeia@elpen.gr



Φροντίδα για τον άνθρωπο



Galenica



Αδιάκοπη Αναζήτηση της Ύλης



 **Galenica α.ε.**

ΑΘΗΝΑ: Ελευθερίας 4, 145 64 Κηφισιά • Τηλ.: 210 5281700, Fax: 210 5245939 • ΘΕΣ/ΚΗ: Κουντουριώτου & Φασιανού 2 • Τηλ.: 2310 542685 • <http://www.galenica.gr>