



Silesian
University
of Technology

POLITECHNIKA ŚLĄSKA
WYDZIAŁ AUTOMATYKI, ELEKTRONIKI I INFORMATYKI

Rozprawa doktorska

Struktury sterowania i wrażliwość wybranych modeli układów
biomedycznych

Autor: mgr inż. Artur Wyciśłok

Promotor: prof. dr hab. inż. Jarosław Śmieja

Gliwice, wrzesień 2025

Serdecznie dziękuję mojemu promotorowi prof. Jarosławowi Śmiei, bez którego wsparcia i wskazówek niniejsza praca by nie powstała.

Dziękuję najbliższym, którzy dzielnie wysłuchiwali moich nieuporządkowanych myśli i pomagali złożyć je w sensowną całość.

Dziękuję wszystkim, których uwagi i propozycje pomogły mi w trudnych momentach.

*„Odkrywanie nowych nieznanych ziem było pasją człowieka od zarania dziejów”
Anonim*

Spis treści

Streszczenie	1
Summary	3
1 Wstęp	5
1.1 Tło pracy	5
1.2 Cel pracy i hipotezy badawcze	9
1.3 Struktura pracy	10
2 Poziom fizjologiczny	13
2.1 Wprowadzenie	13
2.1.1 Cukrzyca oraz metody jej leczenia	13
2.2 Model układu sterowania	15
2.2.1 Układ glukoza-insulina	16
2.2.2 Podstawowa struktura układu regulacji	20
2.2.3 Struktura sterowania oparta o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od zakłócenia	24
2.3 Metodyka prowadzonych badań	27
2.3.1 Parametry wybrane do analizy	27
2.3.2 Scenariusze testowe	27
2.3.3 Testy symulacyjne	31
2.3.4 Wskaźniki oceny jakości regulacji	32
2.4 Wyniki	33
2.4.1 Testy pojedyncze	34
2.4.2 Testy populacyjne podstawowej struktury sterowania	41

2.4.3	Testy populacyjne struktury sterowania ze sprzężeniem od wysiłku	54
2.5	Podsumowanie	61
2.5.1	Podstawowa struktura układu sterowania	63
2.5.2	Wykorzystanie zaawansowanej struktury sterowania	65
2.5.3	Ograniczenie wartości sterowania	66
2.5.4	Inne modyfikacje układu sterowania	67
3	Poziom populacji komórkowych	69
3.1	Wprowadzenie	69
3.2	Model rozwoju nowotworu	73
3.2.1	Porównanie modelu kompartmentalnego z modelem opartym o równania różniczkowe cząstkowe	74
3.2.2	Równania modelu docelowego	80
3.2.3	Uwzględnienie śmierci pacjenta	83
3.3	Metodyka prowadzonych badań	84
3.3.1	Dane kliniczne	84
3.3.2	Symulacje numeryczne	86
3.3.3	Analiza przeżycia	90
3.4	Wyniki	92
3.4.1	Podstawowe statystyki kohorty wirtualnej	93
3.4.2	Wpływ założeń i dostępnych informacji na zachowanie modelu	97
3.5	Podsumowanie i dyskusja	109
3.5.1	Podstawowa postać modelu	110
3.5.2	Modyfikacja modelu - prawdopodobieństwo przerzutu w oparciu o zmiany wewnątrzkomórkowe	111
4	Poziom wewnątrzkomórkowy	115
4.1	Wprowadzenie	115
4.2	Szlak sygnałowy EMT oraz struktura ze sprzężeniem w przód	118
4.2.1	Szlak sygnałowy EMT	118
4.2.2	Struktura sterowania oparta o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od sygnału wejściowego	121
4.3	Metodyka prowadzonych badań	122

4.3.1	Analiza grafu zależności	122
4.3.2	Weryfikacja kandydatów w oparciu o równania	123
4.3.3	Narzędzie do automatycznego poszukiwania struktur	125
4.3.4	Analiza wrażliwości	132
4.4	Wyniki	134
4.4.1	Weryfikacja poprawności działania algorytmu	134
4.4.2	Zastosowanie algorytmu poszukiwania	140
4.4.3	Analiza wrażliwości	143
4.4.4	Znalezione struktury w kontekście analizy wrażliwości	159
4.4.5	Dyskusja uzyskanych wyników	172
4.5	Podsumowanie	174
5	Podsumowanie	177
5.1	Sterowanie w układzie otwartym	179
5.2	Sterowanie w układzie zamkniętym	180
5.3	Sterowanie w układzie zamkniętym z dodatkowym sprzężeniem w przód	182
Bibliografia		V
Spis rysunków		XLV
Spis tabel		LIII

Streszczenie

Niniejsza rozprawa koncentruje się na analizie modeli matematycznych układów biologicznych i medycznych w kontekście występowania i wykorzystania struktur sterowania, stosowanych z powodzeniem w rozwiązaniach przemysłowych. Stanowi ona połączenie między doświadczeniem inżynierskim w dziedzinie sterowania a dążeniami do zrozumienia mechanizmów zachodzących w organizmach żywych. Nacisk położony został na modele układów związanych z medycyną - rozwojem chorób oraz ich leczeniem - w różnych skalach. Zróżnicowanie skali badanych zjawisk polegało na wyborze przykładów zachodzących w ramach całego organizmu (poziom fizjologiczny), populacji komórkowych (poziom populacyjny) oraz pojedynczej komórki (poziom wewnątrzkomórkowy).

Analiza wrażliwości przeprowadzana dla modeli ścieżek sygnałowych w różnych kontekstach, w tym w poszukiwaniu potencjalnych celów leków, jest bardzo czasochłonna z uwagi na znaczną liczbę parametrów modelu. W pracy zaproponowano rozwiązanie pozwalające na ograniczenie tej liczby przez wykorzystanie wiedzy inżynierskiej o własnościach układów sterowania ze sprzężeniem w przód, poprzez sprawdzenie, czy takie sprzężenia istnieją w modelu, a następnie skupienie się w pierwszej kolejności na parametrach związanych z procesami zaangażowanymi w te sprzężenia. W rozprawie przeanalizowano również inne struktury sterowania obecne w układach biologicznych. W przypadku wybranego modelu fizjologicznego badania dotyczyły układu regulacji poziomu glukozy we krwi, realizującego, w podstawowej wersji, klasyczne sterowanie ze sprzężeniem zwrotnym. W sposób szczególny uwzględniono redukcję wpływu wysiłku fizycznego poprzez zmiany struktury układu sterowania oraz wartości zadanej. Z kolei w przypadku modeli terapii nowotworowych można mówić o sterowaniu w torze otwartym. Jak wiadomo, tego typu struktura jest bardzo podatna m. in. na zakłócenia, które

mogą wpływać na układ oraz zmiany parametrów obiektu sterowania. Skupiono się w związku z tym na problemie generowania zestawów parametrów, które reprezentują pojedynczych pacjentów z heterogenicznej populacji tak, by wyniki eksperymentów numerycznych, w których szacowany jest czas przeżycia pacjentów lub czas do metastazy, pokrywały się z danymi klinicznymi.

W ramach pracy przedstawiono 3 tezy, o następującej treści:

1. W układzie sztucznej trzustki poprawa jakości regulacji może być osiągnięta nie tylko przez modyfikację algorytmu i struktury regulacji, lecz także poprzez odpowiednie zmiany wartości zadanej.
2. Uwzględnienie rozkładów parametrów klinicznych w subpopulacjach przy generowaniu kohorty wirtualnej ma istotny wpływ na zgodność jakościową wyników modelu z danymi rzeczywistymi w analizie przeżycia.
3. Wiedza o obecności struktur ze sprzężeniem w przód w modelach biologicznych pozwala ograniczyć liczbę parametrów rozpatrywanych w ramach analizy wrażliwości.

Zostały one zweryfikowane z wykorzystaniem przeprowadzonych analiz opisanych w kolejnych rozdziałach pracy.

Słowa kluczowe: modelowanie matematyczne, struktury sterowania, analiza symulacyjna, analiza numeryczna, sztuczna trzustka, cukrzyca typu I, nowotwór z przerzutami, analiza przeżycia, szlaki sygnałowe, sprzężenie zwrotne, sprzężenie w przód

Summary

This dissertation focuses on the analysis of mathematical models of biological and medical systems in the context of the occurrence and application of control structures, which have been successfully employed in industrial solutions. It represents a link between engineering experience in the field of control and the pursuit of understanding mechanisms occurring in living organisms. The emphasis has been placed on models of systems related to medicine—the development of diseases and their treatment—at different scales. The diversity of scales of the investigated phenomena consisted in selecting examples operating at the level of the whole organism (physiological level), cellular populations (population level), and a single cell (intracellular level).

Sensitivity analysis carried out for signaling pathway models in various contexts, including the search for potential drug targets, is highly time-consuming due to the large number of model parameters. This dissertation proposes a solution aimed at reducing this number by employing engineering knowledge of the properties of control systems with feed-forward structures, through verification of whether such structures exist in the model and subsequently focusing primarily on parameters associated with processes involved in these structures. The dissertation also examines other control structures present in biological systems. For a selected physiological model, the study concerned the regulation of blood glucose levels, which, in its basic form, implements classical feedback control. Particular attention was given to reducing the impact of physical exercise through modifications of the control system structure and the reference value. In the case of cancer therapy models, one can speak of open-loop control. As is well known, such a structure is highly sensitive, among others, to disturbances that may affect the system as well as to variations in plant parameters. The focus was therefore placed on the problem of generating sets of parameters representing individual patients from a hete-

ogeneous population, so that the results of numerical experiments—estimating patient survival time or time to metastasis—would be consistent with clinical data.

Three theses were formulated in this dissertation, namely:

1. In the artificial pancreas system, improvement of control quality may be achieved not only through modification of the control algorithm and structure, but also through appropriate changes of the reference value.
2. Incorporating clinical parameter distributions within subpopulations when generating a virtual cohort has a significant impact on the qualitative agreement of model results with real data in survival analysis.
3. Knowledge of the presence of feed-forward structures in biological models allows one to reduce the number of parameters considered in sensitivity analysis.

These theses were verified through the analyses carried out and described in the subsequent chapters of the dissertation.

Keywords: mathematical modeling, control structures, simulation analysis, numerical analysis, artificial pancreas, type 1 diabetes, cancer with metastasis, survival analysis, signaling pathways, feedback control, feedforward control

Rozdział 1

Wstęp

1.1 Tło pracy

Spośród wielu narzędzi i metod, które znalazły swoje zastosowanie w kontekście badań biomedycznych, istotną rolę odgrywa zagadnienie modelowania matematycznego [46, 70]. Niewątpliwie jednym z największych zysków, jakie można osiągnąć, wykorzystując modelowanie, jest możliwość przeprowadzania wstępnych testów bez konieczności eksperymentowania na żywych organizmach [34, 223]. Odpowiednio zbudowany model pozwala na redukcję kosztów i czasu testowania [146, 132]. Możliwość przeprowadzenia wstępnych badań w środowisku wirtualnym zwiększa szanse na odrzucenie nieskutecznych rozwiązań (np. terapii) przed etapem badań na żywych modelach [98, 265].

Jednakże zalety wykorzystania modelowania matematycznego nie ograniczają się jedynie do kwestii ekonomicznych czy etycznych. Budując model matematyczny w oparciu o podstawowe prawa rządzące danymi procesami, a następnie odnosząc jego przewidywania do rzeczywistych danych, możliwe jest wskazanie istnienia nowego, potencjalnego mechanizmu lub elementu procesu, który nie został jeszcze odkryty, lecz jest niezbędny, aby możliwe było uzyskanie wyników odpowiadających rzeczywistości [85, 192, 127]. Jest to jednak zagadnienie znacznie trudniejsze niż wykorzystanie modelu do np. porównania efektywności kilku substancji terapeutycznych.

Niezwykle istotny wpływ na medycynę, wynikający z bliskiego związku obu gałęzi wiedzy, ma również inżynieria biomedyczna. Objawia się on na wielu poziomach, na przykład:

- wykorzystania zdobyczy inżynierii materiałowej w tworzeniu m. in. narzędzi lub implantów [249, 201];
- korzystania z osiągnięć inżynierii chemicznej w kontekście m. in. syntezy substancji terapeutycznych, czy nośników leków [168, 147];
- współpracy ze specjalistami w dziedzinie mechaniki, elektroniki czy robotyki w celu budowy nowych urządzeń diagnostycznych i terapeutycznych [257, 83];
- wykorzystania wiedzy z zakresu informatyki i przetwarzania sygnałów w kierunku zwiększenia efektywności istniejących procedur diagnostycznych, poprzez wykorzystanie sztucznej inteligencji [57, 66].

W ramach wspomnianych wcześniej gałęzi wiedzy, w sposób szczególny uwaga w niniejszej pracy została zwrócona w kierunku teorii sterowania. Formalnie jest ona gałęzią matematyki, głęboko zakorzenioną w zagadnieniu modelowania matematycznego, która stara się traktować różnorodne obiekty jako układy dynamiczne ze sterowaniem [2, 17, 159]. Klasycznymi obszarami, którymi zajmowała się teoria sterowania, były różnorodne obiekty fizyczne (cieplne, mechaniczne, elektryczne itp.), jednakże te same metody można z powodzeniem stosować w naukach przyrodniczych, społecznych czy ekonomii [102, 111]. Praktyczne efekty zastosowania metod teorii sterowania są widoczne przede wszystkim w przemyśle. W różnego rodzaju liniach technologicznych stosuje się układy sterowania mające na celu osiągnięcie zadanego, pożądanego zachowania procesu [77, 251]. Najczęściej są to układy stabilizacji, utrzymujące parametry procesu na określonym poziomie. Występują jednak również systemy, w których celem sterowania jest podążanie za określoną wcześniej trajektorią, czy utrzymanie pracy układu w punkcie ekstremalnym jego charakterystyki [59, 43, 6].

Podstawowe struktury regulacji i regulatory

Postawione przed układem sterowania zadanie determinuje niejednokrotnie jego postać. Również charakter obiektu sterowania, traktowanego jako układ dynamiczny zgodnie z paradygmatem teorii sterowania, ma wpływ na strukturę układu regulacji, która będzie niezbędna do osiągnięcia pożądanego efektu. W praktyce przemysłowej ugruntowało się kilka typowych struktur sterowania, pozwalających na uzyskanie określonego zachowania. Podstawową jest struktura ze sprzężeniem zwrotnym - wykorzystanie informacji o bieżącym stanie obiektu w celu porównania z pożądanym, a następnie okre-

ślenie na tej podstawie postaci sterowania. Rozwiązanie to idealnie nadaje się do problemów stabilizacji i zapewnia skuteczne działanie bez konieczności precyzyjnego modelu obiektu [87, 8, 74]. Bazując na sprzężeniu zwrotnym, określa się dwie bardziej złożone struktury: układ ze sprzężeniem w przód oraz układ kaskadowy [178, 144, 12]. Pierwszy z nich ma na celu przyspieszenie odpowiedzi układu sterowania na zmianę sygnału zadanego lub zakłócenia, a także minimalizację wpływu mierzalnego zakłócenia, pozwalając na przekazywanie części sygnałów z pominięciem pętli sprzężenia zwrotnego (która musi być obecna) [270, 200]. Druga struktura opracowana została w celu minimalizacji wpływu zakłóceń na obiekty o bardziej złożonej dynamice. Składa się ona z hierarchicznego połączenia większej liczby pętli sprzężenia zwrotnego (najczęściej 2 pętli), w którym regulator wyższego poziomu generuje wartość referencyjną dla regulatora niższego poziomu. Jeżeli obiekt sterowania można podzielić na część szybkozmienną i wolnozmienną, struktura kaskadowa pozwala na szybszą reakcję całości układu sterowania poprzez bezpośrednie objęcie części szybkozmiennnej obiektu pętlą sprzężenia zwrotnego [128, 245, 11].

Poza strukturą układu regulacji, o jego działaniu decyduje również algorytm regulacji - układu dynamicznego określającego wartość sterowania. Najczęściej podstawową informacją, na podstawie której działają regulatory, jest wartość sygnału uchybu - różnica między obecnym a pożądanym stanem układu. Związane jest to bezpośrednio z powszechnością pętli sprzężenia zwrotnego. Jednakże możliwe jest również sterowanie bez sprzężenia zwrotnego - w tzw. układzie otwartym, gdzie nie jest określony uchyb. Wtedy regulator decyduje o wartości sterowania na podstawie modelu, pożądanego zachowania układu, czy dodatkowych pomiarów zakłóceń [103, 109, 53, 120]. Standardową rodziną regulatorów, wykorzystywanych powszechnie w zastosowaniach technicznych, jest rodzina PID (ang. *proportional-integral-derivative* - proporcjonalno-całkująco-różniczkujące). Jest to bardzo uniwersalna rodzina algorytmów sterowania, nie wymagająca dokładnego modelu obiektu przy projektowaniu do poprawnego działania [10, 269].

Inną grupą regulatorów są algorytmy wykorzystujące model matematyczny obiektu regulacji do określenia wartości sterowania. Regulatory takie mogą działać zarówno w układzie otwartym, jak i w pętli sprzężenia zwrotnego, lecz przy braku informacji o stanie układu wszelkie niedokładności modelu będą nawarstwiać się podczas pracy regulatora. Przykładami tego rodzaju rodzin regulatorów mogą być IMC (ang. *Internal Model*

Controller) [37, 89, 171, 185] czy MPC (ang. *Model Predictive Control*) [35, 165, 194, 264]. Do tej grupy zaliczyć można również rozwiązania z zakresu sterowania optymalnego, w przypadku których poprawne określenie modelu matematycznego obiektu sterowania jest niezbędne dla poprawnej syntezy regulatora [32, 126, 220, 262].

Temat pracy w przedstawionym kontekście

Jak wspomniano wcześniej, w niniejszej pracy nacisk położony został na wykorzystanie wiedzy i doświadczeń płynących z zastosowania teorii sterowania w dziedzinie badań biologicznych i medycznych. Jest to oczywiście bardzo obszerne i ogólne stwierdzenie. W związku z tym zdecydowano dokonać analizy modeli matematycznych układów biomedycznych, zwracając uwagę na struktury sterowania, które w nich występują lub mogą zostać zastosowane. W zagadnieniu tym zawiera się również kwestia algorytmu regulacji występującego w ramach danej struktury. Jest to więc próba przeniesienia wiedzy sprawdzonej w zastosowaniach przemysłowych na pole badań biomedycznych.

Mechanizmy i obiekty, których dotyczą analizowane modele, związane są z silnie heterogenicznymi populacjami. Zarówno pomiędzy poszczególnymi ludźmi, jak i komórkami, nawet tego samego typu, występować mogą istotne różnice w zachowaniu. Oznacza to konieczność weryfikacji badanych struktur dla różnych wartości parametrów modelu - zbadanie wrażliwości tych struktur w analizowanych modelach. Zachowanie określonych struktur regulacji oraz określonych regulatorów w przypadku konkretnych zastosowań przemysłowych jest znane. Praca ta ma na celu próbę wykorzystania tej wiedzy w analizie modeli biomedycznych.

Sama praca nie obejmuje kwestii tworzenia nowych modeli matematycznych układów biomedycznych. Wszystkie przykłady modeli poddanych analizie zaczerpnięte zostały z literatury. Ich wybór był arbitralny i zależał od dostępności szczegółowo opisanego modelu wraz z wartościami jego parametrów. Dodatkowo, zgodnie z tytułem pracy, skupiono się na układach biomedycznych, a więc kryterium wyboru było również istniejące lub potencjalne zastosowanie medyczne.

1.2 Cel pracy i hipotezy badawcze

Tytuł niniejszej pracy wskazuje na obszerną tematykę badań, która obejmuje sobą wiele możliwych kierunków analizy. W jego ramach zdecydowano skupić się na określonej grupie problemów. W związku z tym jako główny cel pracy przyjęto wskazanie analogii między strukturami technicznych układów regulacji a tymi występującymi w naturze bądź wykorzystywanymi w medycynie, a następnie wykorzystanie ich w analizie modeli układów biomedycznych.

Modele ścieżek sygnałowych, wykorzystywane do odkrywania nowych mechanizmów regulacji, są bardzo złożone. W związku z tym szczególne znaczenie ma tam analiza wrażliwości, która jest przeprowadzana w różnych kontekstach, w tym w poszukiwaniu potencjalnych celów oddziaływania leków. Przy bardzo dużej liczbie parametrów w modelach takie zadanie jest bardzo czasochłonne (zwłaszcza, jeśli wykorzystywane są metody takie, jak metoda Sobola [215, 266]). W związku z tym warto poszukiwać metod, ograniczających liczbę parametrów branych pod uwagę w analizie wrażliwości modelu. Proponowanym rozwiązaniem jest wykorzystanie wiedzy inżynierskiej o własnościach układów sterowania ze sprzężeniem w przód, poprzez:

1. sprawdzenie, czy takie sprzężenia istnieją w modelu;
2. skupienie się w pierwszej kolejności na parametrach związanych z procesami zaangażowanymi w te sprzężenia.

Co prawda mogłoby się wydawać, że zadanie 1 jest trywialne, ponieważ w trakcie budowy modelu ustala się najpierw jego strukturę, ale w bardzo dużych modelach, tworzonych często automatycznie na podstawie danych uzyskanych z bioinformatycznych baz danych, nie jest to takie oczywiste.

W rozprawie przeanalizowano również inne struktury sterowania obecne w układach biologicznych. W przypadku wybranego modelu fizjologicznego badania dotyczyły układu regulacji poziomu glukozy we krwi, realizującego, w podstawowej wersji, klasyczne sterowanie ze sprzężeniem zwrotnym. W sposób szczególny uwzględniono redukcję wpływu wysiłku fizycznego na działanie układu sterowania poprzez zmiany jego struktury oraz wartości zadanej. Z kolei w przypadku modeli terapii nowotworowych mamy do czynienia w zasadzie ze sterowaniem w torze otwartym. Jak wiadomo, tego typu struktura jest bardzo podatna m. in. na zakłócenia, które mogą wpływać na układ oraz zmiany parametrów obiektu sterowania. Skupiono się w związku z tym na proble-

mie generowania zestawów parametrów, które reprezentują pojedynczych pacjentów z heterogenicznej populacji tak, by wyniki eksperymentów numerycznych, w których szacowany jest czas przeżycia pacjentów lub czas do metastazy, pokrywały się z danymi klinicznymi.

Wyniki analiz, otrzymane w trakcie rozwiązywania problemów opisanych powyżej, pozwoliły na postawienie i wykazanie następujących tez pracy:

1. W układzie sztucznej trzustki poprawę jakości regulacji można osiągnąć nie tylko przez modyfikację algorytmu i struktury regulacji, lecz także poprzez odpowiednie zmiany wartości zadanej.
2. Uwzględnienie rozkładów parametrów klinicznych w subpopulacjach przy generowaniu kohorty wirtualnej ma istotny wpływ na zgodność jakościową wyników modelu z danymi rzeczywistymi w analizie przeżycia.
3. Wiedza o obecności struktur ze sprzężeniem w przód w modelach biologicznych pozwala ograniczyć liczbę parametrów rozpatrywanych w ramach analizy wrażliwości.

1.3 Struktura pracy

Praca została podzielona na 5 rozdziałów, z których każdy został dalej podzielony zgodnie z zawartością danego rozdziału. Pierwszy (1) oraz ostatni (5) rozdział mają charakter całościowy, dotyczą wszystkich elementów pracy. Zadaniem pierwszego rozdziału jest wprowadzenie kontekstu, w którym umieszczona jest treść pracy, a także rozważań, które doprowadziły do wyboru jej tematu. W jego ramach zawarto określenie celu oraz tez pracy. Ostatni rozdział pracy stanowi z kolei podsumowanie wyników uzyskanych na wszystkich poziomach analizy, identyfikację podobieństw i różnic w wykorzystaniu metod teorii sterowania oraz wniosków z nich płynących.

Kluczowe aspekty pracy zostały zebrane w rozdziałach 2, 3 i 4. Każdy z nich poświęcony jest analizie w ramach jednego tzw. poziomu, definiowanego przez skalę, w jakiej zachodzą badane zjawiska. Wraz z kolejnymi rozdziałami zainteresowanie przechodzi od całości organizmu, przez grupy komórek, po wnętrze pojedynczej komórki. Wyszczególniono w związku z tym następujące poziomy:

- poziom fizjologiczny,

- poziom populacji komórkowych,
- poziom wewnątrzkomórkowy.

Każdy z tych rozdziałów reprezentuje sobą pewną całość, co jest uwzględnione w ich podziale wewnętrznym. Każdorazowo wyróżnione zostały:

- wstęp, wprowadzający zagadnienie, które porusza dany rozdział;
- określenie modelu matematycznego, na którym prowadzona jest analiza;
- omówienie metodologii wykorzystanej w analizie, w tym schematu eksperymentów numerycznych;
- prezentacja uzyskanych wyników, w formie odpowiedniej do przykładu;
- podsumowanie rezultatów wraz z dyskusją.

Taka struktura pozwala na określenie metod i rozwiązań możliwych do zastosowania w ramach danego poziomu, nie zapobiegając możliwości wykorzystania tych samych narzędzi w ramach różnych analiz.

W ramach poziomu fizjologicznego (rozdział 2) rozważane mogą być zjawiska dotyczące całego organizmu lub jego znacznych części. Modele na tym poziomie nie uwzględniają zachowania pojedynczych komórek, czy ich interakcji, lecz traktują jako obiekt pewną funkcjonalną część organizmu. Przykładem rozważanym w pracy na tym poziomie jest układ regulacji poziomu glukozy we krwi. Stanowi on funkcjonalną całość działającą na poziomie całego organizmu. Rozważając ten przykład w kontekście celu niniejszej pracy, analizowany model skupia się na sytuacji istotnej z medycznego punktu widzenia, ale także interesującej z punktu widzenia zastosowania teorii sterowania, czyli chorobie – cukrzycy typu 1. W tym przypadku odpowiedzialność za regulację poziomu glukozy we krwi musi przejść zewnętrzny układ, którego częścią jest podawanie insuliny, co czyni z takiego układu typowy układ regulacji.

Poziom populacji komórkowych (rozdział 3) obejmuje zjawiska, dla których niezbędne jest uwzględnienie pojedynczych komórek i interakcji między nimi. Nacisk został jednak położony na sytuacje, w których istotny jest rozwój większej liczby (populacji) komórek, co dodatkowo uzasadnia wybraną nazwę tego poziomu. Uwzględniając wspomniane w 1.1 akcent położony na konsekwencje zdrowotne, na tym poziomie zdecydowano skupić się na rozwoju choroby nowotworowej z uwzględnieniem procesu powstawania przerzutów. Jest to przykład związany niewątpliwie z rozwijającą się populacją komórek, a w przypadku powstawania przerzutu również uwzględniający skalę pojedynczych komórek. Aspekt sterowania w tym przypadku realizowany jest poprzez

terapię, a jej specyfika stanowi wyzwanie dla potencjalnego układu regulacji.

Ostatni analizowany poziom - poziom wewnątrzkomórkowy (rozdział 4) - koncentruje się na zjawiskach biologicznych, zachodzących wewnątrz pojedynczych komórek. Obejmuje on zjawiska związane m. in. z powstawaniem białek, przetwarzaniem informacji genetycznej czy sygnalizacją wewnątrzkomórkową. Mając na celu analizę struktur sterowania, w pracy zdecydowano skupić się na wewnątrzkomórkowych szlakach sygnałowych, z uwagi na złożoną strukturę wzajemnych powiązań między elementami je budującymi. Daje ona możliwość odnalezienia analogii, strukturalnych i funkcjonalnych, do technicznych struktur regulacji. Kontynuując tematykę wybraną na poziomie populacji komórkowych, skupiono się na szlaku sygnałowym, który jest związany z procesem powstawania przerzutów, związanym z przejściem epitelialno-mezenchymalnym.

Rozdział 2

Poziom fizjologiczny

2.1 Wprowadzenie

Pierwszym analizowanym w pracy poziomem układów biomedycznych jest poziom fizjologiczny. Jak zaznaczono w 1.3, poziom ten obejmuje zjawiska dotyczące pewnych funkcji organizmu rozważanych w kontekście jego całości lub istotnej części. W ramach niniejszej pracy są one analizowane pod kątem występowania lub zastosowania struktur regulacji. Przykładem może być m. in. problematyka związana z kontrolą podawania tlenu w terapiach tlenowych przy chorobach układu oddechowego (jak w [92]). W niniejszym rozdziale skupiono się na innym przykładzie w ramach poziomu fizjologicznego - regulacji poziomu glukozy we krwi u osób z cukrzycą typu 1.

2.1.1 Cukrzyca oraz metody jej leczenia

Cukrzyca jest jedną z chorób niezakaźnych, którym Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) przyznała najwyższy priorytet w kwestii konieczności i pilności podjęcia decyzji przeciwdziałających. Według raportu WHO z 2016, pomiędzy rokiem 1980 a 2014 liczba chorych na cukrzycę dowolnego typu na świecie wzrosła niemal czterokrotnie, ze 108 milionów do 422 milionów [181]. Z kolei oszacowania statystyczne pokazują, że do roku 2022 liczba ta uległa dalszemu podwojeniu, osiągając poziom 828 milionów chorych [268]. Wzrost notowany jest również w liczbie zgonów spowodowanych cukrzycą. Między 2000 a 2019 rokiem śmiertelność wzrosła o 8% [184]. Tendencja wzrostowa śmiertelności utrzymuje się w szczególności w krajach biednych [267].

Cukrzyca to „przewlekła choroba charakteryzująca się podwyższonym poziomem glukozy we krwi spowodowanym niewystarczającą produkcją insuliny przez trzustkę lub niezdolnością organizmu do prawidłowego wykorzystania insuliny, którą produkuje” [184]. Zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia, wyróżnia się 2 główne rodzaje cukrzycy [181]:

- cukrzyca typu I - polega na braku produkcji własnej insuliny przez organizm; bezpośrednią przyczyną jest uszkodzenie komórek β trzustki, a jedyną metodą leczenia jest podawanie insuliny pacjentowi;
- cukrzyca typu II - polega na niewykorzystaniu przez organizm wytwarzanej w trzustce insuliny, odporności organizmu na jej działanie. Stanowi ona znaczną większość przypadków cukrzycy na świecie [180].

Poza wymienionymi powyżej głównymi typami cukrzycy, określa się również stany pośrednie, które cechuje wysokie prawdopodobieństwo przekształcenia się w cukrzycę typu II, a także występujące w przypadku kobiet w ciąży.

Jednym z podstawowych objawów cukrzycy jest podwyższony poziom glukozy we krwi - hiperglikemia - której występowanie, łatwe do wykrycia, można wykorzystać w diagnozie oraz kontroli stanu pacjenta. W przypadku długotrwałego jej utrzymywania, może ona doprowadzić do poważnego uszkodzenia wielu układów ludzkiego organizmu, m. in. nerwowego i krwionośnego. Przy braku prawidłowego leczenia, długotrwała choroba może prowadzić do znacznej liczby poważnych komplikacji. Wśród nich można wymienić między innymi: utratę wzroku, przewlekłą chorobę nerek, choroby układu sercowo-naczyniowego oraz amputacje kończyn dolnych [181, 183]. W ostateczności nieleczona cukrzyca może prowadzić do śmierci chorego.

Wytyczne ustanowione przez Światową Organizację Zdrowia dotyczące metod leczenia cukrzycy, podkreślają kluczową rolę wczesnej i szybkiej diagnostyki, a także wyszczególniają, jakie procedury medyczne powinny być dostępne dla pacjenta po pozytywnej diagnozie. Leczenie polega na utrzymywaniu u pacjenta odpowiedniego poziomu glukozy we krwi w ciągu całej doby. Tak jak w przypadku zróżnicowania objawów między typami cukrzycy, również możliwości leczenia są od niego uzależnione. W przypadku cukrzycy typu I jedyną metodą jest podawanie z zewnątrz pacjentowi insuliny, przy typie II, z kolei, możliwe jest wykorzystanie również innych, podawanych doustnie leków [181]. Niezależnie od metody leczenia, wymagana jest regularna kontrola poziomu glukozy we krwi przez pacjenta, co wraz z koniecznością wstrzykiwania insuliny

powoduje, szczególnie u pacjentów z cukrzycą typu pierwszego, konieczność wykonywania znaczącej liczby wkluc, co wprost przekłada się na spadek komfortu życia.

Zewnętrzne podawanie pacjentowi insuliny niesie za sobą ryzyko zbytniego obniżenia poziomu glukozy we krwi (doprowadzenia do hipoglikemii) w przypadku źle określonych dawek lub na skutek podejmowania przez pacjenta nieodpowiednio zaplanowanego wysiłku [182]. Obecny celem w terapii cukrzycy typu 1. jest więc stworzenie tzw. sztucznej trzustki - urządzenia lub zestawu urządzeń, które mają na celu naśladować funkcję regulacji glukozy w zdrowej trzustce. Przy użyciu algorytmów regulacji, czujników pomiarowych oraz urządzeń do automatycznego dozowania (pomp insulinowych) utrzymywanie akceptowalnego poziomu glukozy we krwi ma stać się bezpieczniejsze, bardziej komfortowe i mniej wymagające dla pacjenta.

Poziomy glukozy we krwi, które można uznać za akceptowalne, jak i nominalna jego wartość przy braku zewnętrznych czynników (posiłku, wysiłku) są zależne od indywidualnych cech organizmu pacjenta. Normy WHO określają zawartość glukozy we krwi, która w określonych sytuacjach oznacza, że u badanego pacjenta powinna zostać zdiagnozowana cukrzyca. Jest to powyżej $126 \frac{mg}{dl}$ bez posiłku lub powyżej $200 \frac{mg}{dl}$ na 2 godziny po doustnie podanej dawce 75g glukozy [181]. Poziomy te można wykorzystać do określenia granic poziomu glukozy we krwi, uważanego za normalny i bezpieczny dla organizmu. Niektóre opracowania sugerują inne poziomy, zależne od charakterystyki pacjenta i rodzaju testu [9].

W przypadku hipoglikemii (obniżonego poziomu glukozy we krwi) nie zostały określone ogólnie przyjęte wytyczne. Przyjmuje się wartości progowe z zakresu od $50 \frac{mg}{dl}$ ($2.8 \frac{mmol}{l}$) do $72 \frac{mg}{dl}$ ($4 \frac{mmol}{l}$) [182].

Biorąc pod uwagę charakterystykę prowadzonych w dalszej części rozdziału badań, a także rozważania dotyczące hipoglikemii zawarte w [115], przyjęto próg oznaczający hipoglikemię na $60 \frac{mg}{dl}$, a dla hiperglikemii $140 \frac{mg}{dl}$.

2.2 Model układu sterowania

Jak wspomniano, celem rozwoju metod leczenia cukrzycy typu 1 jest stworzenie sztucznej trzustki. Stanowi ona przykład typowego układu sterowania, zawierającego regulator, układ pomiarowy i urządzenie wykonawcze. Obiektem sterowania jest układ

interakcji między glukozą a insuliną w organizmie - tzw. układ glukoza-insulina.

2.2.1 Układ glukoza-insulina

Całość układu glukoza-insulina jest obiektem skomplikowanym. Użyteczny model musi zminimalizować złożoność opisu matematycznego bez utraty wymaganej dokładności. Jednym z modeli, wykorzystywanym w pracach poświęconych projektowaniu sztucznej trzustki, a zarazem zaakceptowanym przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration* - FDA) jest model zwany UVA/Padova (University of Virginia/Padova) [156]. Model ten posiada ogromne możliwości i jest stale aktualizowany [45].

Jednakże, dla celów niniejszej pracy postanowiono oprzeć się na innym, prostszym modelu - zaproponowanym przez Bergmana, opisanym w [23], a wykorzystywanym w wielu pracach, m. in. [38, 67, 65] - tzw. modelu minimalnym. Decyzja ta podyktowana była względami praktycznymi i łatwością wprowadzania własnych modyfikacji i rozwiązań w prostszym, budowanym samodzielnie modelu symulacyjnym.

Model minimalny Bergmana

Przedstawione podejście cechuje się opisem przy użyciu układu dwóch równań różniczkowych. Opisują one dynamikę zmian poziomu glukozy we krwi $G(t)$ oraz pomocniczą zmienną $X(t)$ określającą wpływ insuliny na pobór glukozy przez komórki. Zostały one przedstawione w Równaniach 2.1 i 2.2, w postaci podanej w [272].

$$\frac{dG(t)}{dt} = -(p_1 + X(t))G(t) + p_1G_b + p_2G_{in}(t) \quad (2.1)$$

$$\frac{dX(t)}{dt} = -p_2X(t) + p_3I(t) \quad (2.2)$$

W równaniach tych p_1 oznacza tzw. efektywność glukozy, p_2, p_3 są natomiast parametrami decydującymi o dynamice oddziaływania między insuliną a glukozą. $I(t)$ określa poziom insuliny we krwi, G_b to bazowy poziom glukozy - po pomnożeniu przez parametr p_1 określa jej bazową produkcję, a $G_{in}(t)$ oznacza tempo przenikania glukozy z posiłków do krwi.

Farmakokinetkę insuliny podawanej pacjentowi z zewnątrz można opisać za [272]

przy użyciu dodatkowego równania różniczkowego pierwszego rzędu, jak przedstawia to Równanie 2.3.

$$\frac{dI(t)}{dt} = k_1 I_{in}(t) + k_2 I(t) \quad (2.3)$$

Podobnie jak poprzednio $I(t)$ oznacza stężenie insuliny we krwi. Dodatkowo $I_{in}(t)$ określa zewnętrźnie podawaną, dodatkową insulinę, a k_1, k_2 są stałymi parametrami określającymi tempo przyswajania i eliminacji insuliny. Równanie to może opisywać wpływ zarówno insuliny podawanej z zewnątrz, jak i produkowanej przez organizm. Jednakże w kontekście badania układu regulacji poziomu glukozy we krwi u pacjentów z cukrzycą typu 1 jedynym źródłem insuliny jest jej podawanie spoza organizmu, dlatego też $I_{in}(t)$ w całości oznaczać będzie ilość insuliny podawanej przez pompę insulinową (lub inny element wykonawczy układu sztucznej trzustki).

Przenikanie glukozy z posiłku

Poprawne obliczenie poziomu glukozy z wykorzystaniem modelu Bergmana (Równania 2.1 i 2.2) wymaga określenia zarówno poziomu insuliny, co przedstawiono w Równaniu 2.3, jak i tempa przenikania glukozy z posiłków do krwi (G_{in}). Wykorzystany model wyznaczania G_{in} , zwany modelem Lehmana-Deutscha, szczegółowo opisany w [140], a wykorzystywany w wielu pracach (m. in. [38, 155, 125]), opiera się natomiast o jedno równanie różniczkowe (Równanie 2.4), którego parametry zostały wyznaczone wraz z formułą modelu.

$$\frac{G_{gut}}{dt} = -k_{gabs} G_{gut}(t) + G_{empt}(t) \quad (2.4)$$

W równaniu tym k_{gabs} określa tempo wchłaniania glukozy z jelita, a $G_{empt}(t)$ tzw. tempo opróżniania żołądka (ang. *gastric emptying rate*). Pierwszy człon równania (2.4) jest poszukiwanym wyrażeniem na G_{in} modelu Bergmana (Równania 2.1 i 2.2). Można więc zapisać, jak w Równaniu 2.5, wyrażenie na $G_{in}(t)$:

$$G_{in}(t) = k_{gabs} G_{gut}(t) \quad (2.5)$$

Określenie tempa opóźniania żołądka - G_{empt}

Określenie zależności pomiędzy glukozą dostarczaną do organizmu w posiłku, a glukozą pojawiającą się we krwi, wymaga wyznaczenia jeszcze jednej wielkości - tempa opróżniania żołądka. Powinna ona uwzględniać charakterystykę posiłku, w ramach którego glukoza jest dostarczana.

W [140] opisano, że przebiegi szukanej funkcji powinny podążać po krzywej trójkątnej lub trapezoidalnej. Choć jest to oczywiście uproszczenie rzeczywistego charakteru, to, jak stwierdzono w [259], w połączeniu z modelem minimalnym pozwala na uzyskanie wyników zgodnych z danymi rzeczywistymi.

Dokładny kształt tych przebiegów dla określonej dawki glukozy w posiłku zależy od trzech parametrów:

- tempa narastania - α ,
- wartości maksymalnej, oznaczanej jako V_{max}
- tempa opadania. - β

Czas pozostawiania na wartości V_{max} można wyznaczyć na podstawie powyższych parametrów oraz dawki glukozy, przy założeniu, że pole pod wykresem tej krzywej musi być równe dawce glukozy dostarczonej w posiłku (lub jej określonej części).

Wartość maksymalną tempa przenikania glukozy z posiłku, a więc V_{max} , można wyznaczyć eksperymentalnie, natomiast tempo narastania zależy od indeksu glikemicznego posiłku, który dostarcza daną dawkę glukozy. Ponieważ wygodniej przy dalszej analizie operować pojęciami czasu narastania i czasu opadania, można przekształcić α oraz β , wykorzystując przypadek osiągnięcia wartości V_{max} . Dlatego też w dalszych rozważaniach wykorzystywane będą parametry V_{max} oraz maksymalne czasy narastania i opadania T_{up_max} i T_{down_max} .

W oryginalnym wyprowadzeniu tego modelu i wyznaczeniu wartości jego parametrów [140] przyjęte zostało uproszczenie, w którym czasy opadania i narastania są sobie równe. Uproszczenie to zostało utrzymane w badanym modelu symulacyjnym.

Ostatecznie postać wyrażenia określającego $G_{empt}(t)$, związana z podaną przez Lehmana i Deutscha [140], lecz zmodyfikowana, jak zaproponowano w [271], przedstawia

Równanie 2.6.

$$G_{empt}(t) = \begin{cases} \frac{V_{max}}{T_{upmax}} t & , t < T_{asc}, \\ \frac{V_{max}}{T_{upmax}} T_{asc} - \frac{V_{max}}{T_{downmax}} (t - T_{asc}) & , T_{asc} \leq t < T_{asc} + T_{desc} \end{cases} \quad (2.6)$$

Występują w nim wielkości T_{asc} i T_{desc} , związane z czasem narastania i opadania krzywej opróżniania żołądka w sytuacji, kiedy dawka glukozy w posiłku jest zbyt mała, żeby osiągnąć poziom nasycenia - V_{max} . Czasy te są związane z maksymalnymi czasami narastania i opadania krzywej (T_{up_max} i T_{down_max}) jak pokazano to w Równaniu 2.7. Zachowane jest przy tym założenie o równości czasu narastania i opadania.

$$T_{asc} = T_{desc} = \sqrt{\frac{D \times T_{upmax}}{V_{max}}} \quad (2.7)$$

W równaniu tym, jako D , występuje podana dawka glukozy.

Uwzględnienie wpływu wysiłku na zachowanie modelu

Kolejnym z elementów składowych możliwie pełnego opisu działania układu glukoza-insulina jest wprowadzenie możliwości uwzględnienia wysiłku w symulacjach. Wysiłek objawia się zwiększonym zużyciem glukozy przez komórki organizmu, przez co powoduje spadek poziomu glukozy we krwi. Może to prowadzić do sytuacji zagrażającej życiu hipoglikemii, w szczególności u osób z cukrzycą typu 1.

Wykorzystywana w niniejszej pracy, a opisana w [154] metoda uwzględnienia wysiłku w modelu układu glukoza-insulina polega na niewielkiej modyfikacji pierwszego z równań modelu minimalnego (Równania 2.1), w sposób przedstawiony w Równaniu 2.8.

$$\frac{dG(t)}{dt} = -(p_1 + P^*(t)X(t))G(t) + p_1G_b + p_2G_{in}(t) \quad (2.8)$$

Różnica polega na wprowadzeniu dodatkowej zmiennej $P^*(t)$, która modyfikuje działanie określane przez $X(t)$. W przypadku braku wysiłku P^* przyjmuje domyślnie wartość 1, co sprowadza Równanie 2.8 do Równania 2.1. Wzrost wartości P^* oznacza wystąpienie wysiłku, a jego intensywność określa różnica między wartością $P^*(t)$ a 1. Można

więc dokonać rozbicia zmiennej P^* na dwa składniki, jak pokazuje Równanie 2.9.

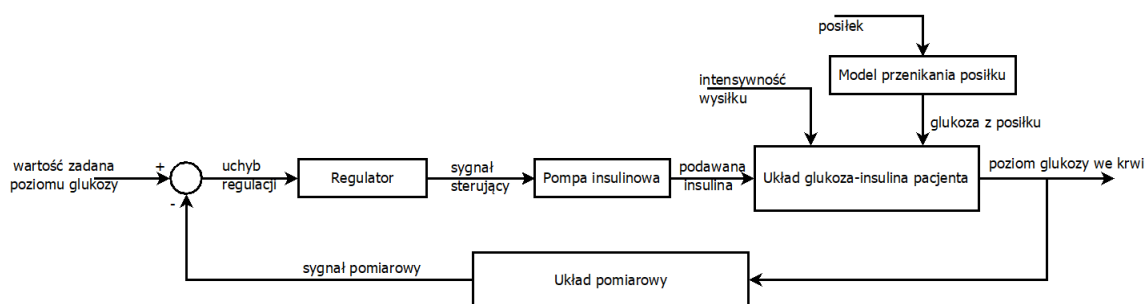
$$P^* = P_{bazowe}^* + P_{wysilek}^* \quad (2.9)$$

W takim przedstawieniu $P_{wysilek}^*$ może przyjmować wartości nieujemne w zależności od intensywności symulowanego wysiłku. P_{bazowe}^* przyjmuje domyślnie wartość 1, lecz w toku dalszych analiz rozważana jest sytuacja, gdy będzie przyjmować inne wartości nieujemne.

2.2.2 Podstawowa struktura układu regulacji

Celem leczenia cukrzycy typu 1. jest utrzymanie poziomu glukozy we krwi na odpowiednim poziomie. W tym celu wykorzystuje się urządzenia, spełniające kryteria układu pomiarowego oraz urządzenia wykonawczego. Podskórne mierniki poziomu glukozy (CGM ang. *continuous (blood) glucose monitor*) pozwalają prowadzić pomiar poziomu glukozy we krwi w czasie, zapewniając na bieżąco dostęp do danych (przykładowe rozwiązania i ich analizę można znaleźć w [1, 76, 41]), co w kontekście układu sterowania pozwala na uzyskiwanie wartości uchybu regulacji. Z kolei pompy insulinowe zapewniają możliwość dawkowania insuliny zgodnie ze wskazaniami regulatora. W [179] oraz [199] przedstawiono szczegółowy opis dostępnych na rynku rozwiązań, uwzględniających również różny stopień integracji z CGM, od prostych alarmów aż po rozwiązania obejmujące pełną pętlę sprzężenia zwrotnego.

Schemat blokowy układu regulacji poziomu glukozy we krwi, z wykorzystaniem sprzężenia zwrotnego do określenia dawki insuliny, przedstawia Rysunek 2.1.



Rysunek 2.1: Schemat pętli regulacji

Jest to podstawowa struktura układu regulacji, w ramach której funkcjonuje większość

proponowanych rozwiązań. Głównym elementem różnicującym jest postać regulatora, a w mniejszym stopniu również specyfikacja techniczna pompy insulinowej i układu pomiarowego [44, 234].

Wykorzystane algorytmy sterowania

W badaniach dotyczących algorytmów sterowania na potrzeby układów regulacji poziomu glukozy największym zainteresowaniem cieszą się dwa rozwiązania powszechnie stosowane i sprawdzone w zastosowaniach przemysłowych - PID oraz MPC [24, 4, 18, 47], a także podejście oparte o logikę rozmytą, aby wykorzystać wiedzę ekspercką.

Regulator PID pojawia się w pracach dotyczących sztucznej trzustki od początku XXI wieku, w pracach Steila i współautorów [217, 216], Magniego i współautorów [153], Marchettiego i współautorów [158] czy też Pavii [186]. Późniejsze prace koncentrowały się jednak bardziej na rozbudowie algorytmu PID, poprzez m. in. dodanie komponentu logicznego, przełączającego strukturę regulatora [272], strojenie regulatora z wykorzystaniem algorytmów genetycznych [16], czy uwzględnienie innej metody podawania insuliny [52]. W zastosowaniach komercyjnych, układ sterowania oparty na algorytmie PID jest wykorzystywany w serii Medtronic Minimed 670G [169].

Zastosowanie algorytmów MPC jest koncepcją występującą równolegle do wykorzystania regulatora PID. Jednymi z pierwszych prac na ten temat są: praca Parkera i współautorów z 1999 [187], pokazująca przewagę podejścia predykcyjnego nad zwykłym sterowaniem w oparciu o model, czy praca Lyncha i współautorów z 2001 [151]. Dużą rolę w rozwoju wykorzystania algorytmu MPC mają prace grupy Hovorki ([104, 105, 106]), natomiast sama koncepcja jest wykorzystywana również przez innych badaczy, jak np. Zavitsanou w 2015 [263]. Współwystępowanie badań obejmujących zastosowanie algorytmów PID i MPC wyraża się również w pracach dotyczących ich porównania, jak np. [22]. Systemy sterowania oparte o MPC znalazły zastosowanie w kilku rozwiązaniach komercyjnych opisanych w [234].

Logika rozmyta wykorzystuje wiedzę ekspercką w celu opracowania reguł obejmujących sobą cechy charakterystyczne regulacji poziomu glukozy we krwi pacjentów z cukrzycą typu 1 [164, 177]. W przeciwieństwie do klasycznej logiki binarnej definiuje się tzw. funkcje przynależności, określające stopień przyporządkowania (w zakresie od 0 do 1) danej wartości zmiennej do "rozmytego" określenia [261]. Implementacja logiki

rozmytej w systemach sterowania poziomem glukozy we krwi pozwala na uwzględnienie wciąż skutecznej insuliny we krwi po poprzednich jej dawkach, aktualnego stężenia glukozy, jego przewidywanej zmiany w wyniku kolejnego podania insuliny, a także wpływu czynników takich jak np. aktywność fizyczna [176]. Wadą tego rozwiązania jest konieczność dopasowania reguł indywidualnie do każdego pacjenta, co znacznie utrudnia tworzenie takiego systemu [234]. Z uwagi na wymaganą wiedzę ekspercką w przypadku projektowania regulatora wykorzystującego logikę rozmytą, w szczególności w kontekście badania wpływu wysiłku fizycznego, do dalszej analizy wybrano jedynie algorytmy PID oraz MPC.

Postać regulatora PID stosowana w pracy

Regulator PID pozwala na określenie wartości sterowania niezbędnego do osiągnięcia wartości zadanej na podstawie dotychczasowych wartości uchybu regulacji. Składa się on z 3 części:

- proporcjonalnej (ang. *proportional* - P) - wartość sterowania określana jest proporcjonalnie do bieżącej wartości uchybu;
- całkującej (ang. *integral* - I) - wartość sterowania określana na podstawie dotychczasowej historii uchybu;
- różniczkującej (ang. *derivative* - D) - wartość sterowania określana na podstawie bieżącej pochodnej sygnału uchybu.

Sterowanie generowane przez ten regulator na podstawie sygnału uchybu $e(t)$ określone jest (w przypadku idealnego regulatora PID), poprzez sumę odpowiedzi poszczególnych członów, jak pokazuje Równanie 2.10.

$$u(t) = k \left(e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(\tau) d\tau + T_d \frac{de(t)}{dt} \right) \quad (2.10)$$

W równaniu tym (za [195]) k określane jest mianem wzmocnienia regulatora, T_i jest tzw. czasem zdwojenia, zwanym również czasem całkowania, T_d zaś to tzw. czas wyprzedzenia.

W badaniach symulacyjnych wykorzystano formę algorytmu PID, uwzględniającą dyskretny charakter pomiaru poziomu glukozy. Co więcej, aby zapobiec gwałtownej reakcji na szybkie zmiany uchybu (które mogą wystąpić np. przy wysiłku), zastosowano

filtrowanie części różniczkującej regulatora poprzez inercję pierwszego rzędu.

Jak zostało dokładniej opisane w 2.3.2, badano zachowanie regulatora przy ograniczeniu na maksymalną ilość podawanej insuliny. Ze względu na wykorzystywanie całkowania w prawie sterowania, przy ograniczeniu wyjścia regulatora algorytm musi odpowiednio uwzględnić ten fakt w aktualizacji części całkującej, aby zapobiec sytuacji znanej pod nazwą *windup*. Jest to sytuacja, w której człon całkujący ciągle sumuje niezerowy uchyb regulacji, natomiast nie wywołuje to żadnej zmiany w sterowaniu obiektem z uwagi na ograniczenie. Aby zapobiec temu zjawisku, stosuje się mechanizmy tzw. *anti-windup*, które w przypadku osiągnięcia przez sygnał sterujący nasycenia, modyfikują działanie algorytmu, np. poprzez wyłączenie części całkującej lub tzw. wsteczne obliczanie wartości części całkującej (ang. *back-calculation*) [10, 134].

Postać regulatora MPC stosowana w pracy

Drugim z wykorzystywanych algorytmów regulacji jest MPC (*model predictive control*). Jest to algorytm dyskretny, wykorzystujący model sterowanego obiektu w celu określenia wpływu wyznaczonego sterowania, a następnie jego minimalizacji zgodnie z ustalonym wskaźnikiem jakości.

W każdym okresie próbkowania rozwiązywane jest zadanie poszukiwania optymalnej sekwencji sterowania na zadanym horyzoncie dla liniowego modelu procesu, a następnie aplikowany jest pierwszy krok znalezionej sekwencji. W następnym okresie próbkowania procedura jest powtarzana dla tak samo odległego horyzontu, co prowadzi do optymalizacji sterowania w ruchomym horyzoncie [19].

Model interakcji między glukozą a insuliną jest modelem nieliniowym. Istnieją implementacje regulatora MPC wykorzystujące nieliniowy model obiektu, jednakże wymagają one znacznie większej mocy obliczeniowej [193]. Z uwagi na specyfikę docelowego zastosowania (w niewielkim, noszonym na ciele urządzeniu) zdecydowano wykorzystać liniową wersję algorytmu MPC, uzyskując model liniowy poprzez linearyzację modelu układu glukoza-insulina pacjenta.

Wykorzystano implementację regulatora MPC dostępną w ramach *Model Predictive Control Toolbox* w środowisku Matlab/Simulink. W jej przypadku funkcja celu ma postać,

jak przedstawiono w Równaniu 2.11.

$$J(z_k) = \sum_{i=z_k}^{z_k+h} J_s(i) \quad (2.11)$$

$$J_s(i) = J_y(i) + J_u(i) + J_{\Delta u}(i) + J_e(i)$$

W nim z_k oznacza numer okresu próbkowania, w którym wyznaczane jest sterowanie, a h oznacza horyzont predykcji, na którym dokonywana jest optymalizacja. Poszczególne składniki sumy określają wpływ na wskaźnik jakości kolejno: różnicy między wyjściem układu a wartością zadaną, wyznaczonych wartości wielkości wyjściowych, zmian wartości sterowania między kolejnymi krokami oraz przekroczenia zadanych ograniczeń. Występowanie w funkcji celu członu związanego z ograniczeniami pozwala na uwzględnienie maksymalnej możliwej wartości sterowania bez dodatkowych modyfikacji (w przeciwieństwie do PID). Każdy ze składników wyrażony jest zależnością kwadratową, a dla każdej zmiennej wewnątrz poszczególnych składników jest przyporządkowany współczynnik wagowy. Strojenie takiego regulatora polega na dobraniu wartości parametrów funkcji celu oraz określeniu długości horyzontów.

2.2.3 Struktura sterowania oparta o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od zakłócenia

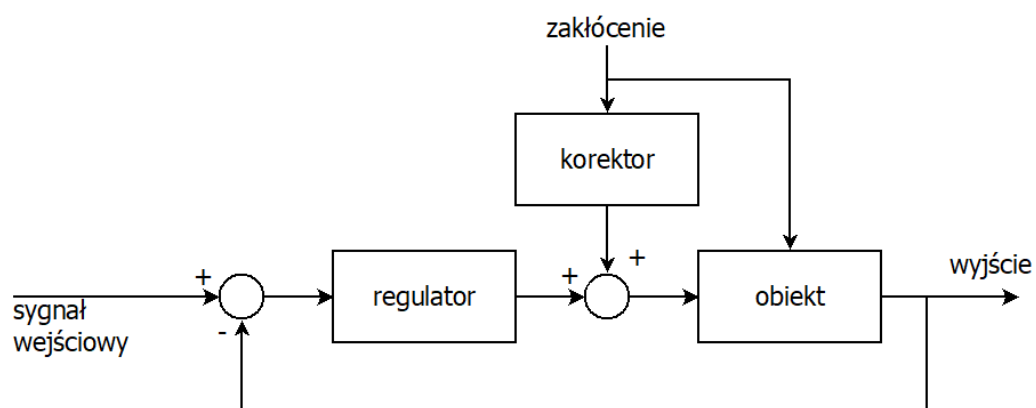
Wystąpienie wysiłku podczas dnia w sposób gwałtowny obniża poziom glukozy we krwi. W tradycyjnej pętli sprzężenia zwrotnego regulator będzie miał możliwość reakcji na takie zdarzenie, poprzez zmniejszenie podawanej insuliny, dopiero gdy zaimanifestuje się ona w wartości wyjściowej. Jednakże w przypadku wysiłku może to doprowadzić do wystąpienia hipoglikemii, która będzie dodatkowo wzmacniana poprzez działanie regulatora.

W większości przypadków wysiłek o intensywności, która może spowodować wystąpienie opisanej powyżej sytuacji, jest planowany (m. in. różnorakie ćwiczenia lub zajęcia sportowe). Daje to możliwość dostarczenia informacji do regulatora o planowanym wysiłku z wyprzedzeniem, tak aby mógł on podjąć odpowiednią reakcję, zanim wysiłek zaimanifestuje się w wartości mierzonego poziomu glukozy.

We wstępie do niniejszej pracy (1.1) przedstawiono najpopularniejsze struktury ste-

rowania stosowane w zastosowaniach przemysłowych, zbudowane w oparciu o sprzężenie zwrotne. Jedną z takich modyfikacji jest połączenie sterowania w pętli zamkniętej ze sterowaniem w pętli otwartej.

W strukturze takiej podstawowym elementem jest nadal sprzężenie zwrotne (ang. *feedback*), zapewniające reakcję regulatora na zachowanie wyjścia oraz stabilizację odpowiedzi. Dodatkowy sygnał przekazywany jest do obiektu niezależnie od działania pętli sprzężenia zwrotnego. To dodatkowe połączenie nazywane jest sprzężeniem w przód (ang. *feedforward*). Wykorzystując angielskie nazwy odpowiednich sprzężeń, strukturę taką nazywa się również strukturą typu feedback-feedforward. Dodatkowy sygnał doprowadzany do obiektu najczęściej jest zewnętrznym zakłóceniem [145], na które chcemy dodatkowo uodpornić układ regulacji. Znając wpływ zakłócenia na obiekt regulacji, możliwe jest zbudowanie układu dynamicznego, zwanego korektorem. Jego celem jest taka modyfikacja sygnału sterującego, aby zminimalizować wpływ zmian wartości zakłócenia na wyjście układu sterowania. Schemat blokowy takiej struktury regulacji przedstawiono na Rysunku 2.2.

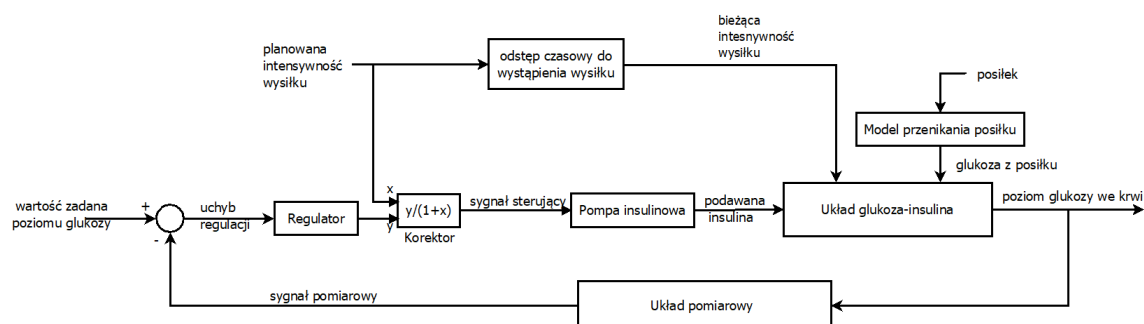


Rysunek 2.2: Schemat blokowy ogólnej struktury sterowania opartej o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od zakłócenia.

Wysiłek fizyczny, w formie w jakiej jest on uwzględniony w równaniach modelu (Równanie 2.8), może zostać potraktowany jako mierzalne zakłócenie na potrzeby zastosowania omawianej struktury sterowania. Istotną różnicą, względem ogólnej postaci struktury, jest występowanie wyprzedzenia czasowego między dostępnym pomiarem (planem wysiłku) a oddziaływaniem zakłócenia na obiekt sterowania (podjęciem wysiłku). Ważnym aspektem jest w związku z tym kwestia określenia czasu, z jakim należy

podać do regulatora informację o planowanym wysiłku. Uwzględnić należy przy tym farmakokinetykę insuliny, gdyż raz podana insulina utrzymuje swój efekt w organizmie przez pewien czas.

Pełny schemat blokowy przedstawiający układ sterowania wykorzystujący sprzężenie w przód od planowanej intensywności wysiłku dla zadania regulacji poziomu glukozy we krwi został przedstawiony na Rysunku 2.3.



Rysunek 2.3: Układ sterowania wykorzystujący sprzężenie w przód od wysiłku.

Jak można zaobserwować, schemat blokowy proponowanego rozwiązania nie jest w pełni zgodny z ogólną postacią struktury typu feedback-feedforward przedstawioną na Rysunku 2.2. Przede wszystkim wpływ korektora na sygnał sterujący nie jest liniowy. Wynika to z charakteru obiektu sterowania, gdyż poziom podawanej insuliny należy obniżyć gwałtownie, a zarazem jego wartość musi pozostać nieujemna. Równocześnie nie jest to złamanie idei wykorzystania sprzężenia w przód od zakłócenia, gdyż nadal pozwala ono na szybką reakcję układu sterowania. Uwzględnia jednak również cel jego zastosowania - ograniczenie występowania epizodów hipoglikemii związanych z wysiłkiem.

Drugim odstępstwem od ogólnej struktury jest występowanie wspomnianego wcześniej przesunięcia czasowego między dostępnością informacji dla korektora, a oddziaływaniem zakłócenia na obiekt. W układach technicznych taka sytuacja nie występuje, gdyż korektor korzysta z danych pomiarowych zbieranych na wejściu zakłócenia do obiektu. Jednakże wystąpienie takiego przesunięcia czasowego nie jest sprzeczne z ideą struktury typu feedback-feedforward. Może ono stanowić jednak dodatkowe źródło niepewności w układzie, jeżeli rzeczywisty wysiłek nie będzie zgodny z wprowadzonym wcześniej planem. W takiej sytuacji pętla sprzężenia zwrotnego będzie musiała dodat-

kowo skompensować błędy w sprzężeniu w przód, co pogorszy jakość regulacji.

2.3 Metodyka prowadzonych badań

Analiza badanego modelu oraz układów sterowania oparta została na wielokrotnych testach symulacyjnych, w wyniku których uzyskiwano przebiegi czasowe wyjścia układu - poziomu glukozy we krwi oraz sygnału sterującego - podawanej insuliny. Zwrócono uwagę na wyniki dla pojedynczego wirtualnego pacjenta, jak również dla całej kohorty. Obserwowano zachowanie w przypadku zmian parametrów reprezentujących cechy fizjologiczne pacjenta - bezpośrednio dla testów pojedynczych oraz w formie zmian parametrów rozkładu w przypadku testów populacyjnych. Poza przebiegami czasowymi określono wskaźniki jakości, pozwalające na ilościowe porównanie uzyskanych rezultatów.

2.3.1 Parametry wybrane do analizy

Do przeprowadzenia analiz zachowania układów regulacji dla różnych pacjentów i różnych posiłków wybrano 4 parametry modelu układu glukoza-insulina, reprezentujące różne jego aspekty. Są to parametry związane bezpośrednio z wpływem insuliny na poziom glukozy, łączące się z wysiłkiem fizycznym, wchłanianiem glukozy z posiłku oraz rodzajem (indeksem glikemicznym) przyjętego posiłku. W Tabeli 2.1 zebrano wybrane parametry z oznaczeniami wprowadzonymi w 2.2, jednostką, interpretacją oraz krótkim uzasadnieniem wyboru.

2.3.2 Scenariusze testowe

Wszystkie prowadzone w ramach prac eksperymenty odbywały się w ramach jednego ze scenariuszy testowych. Wszystkie obejmowały jeden pełny dzień (1440 minut symulacji), zawierający w sobie więcej niż jeden posiłek, a także możliwy wysiłek fizyczny. W ramach scenariusza należało określić dla posiłków:

- ich liczbę w ciągu dnia,
- pory ich przyjmowania,
- ilość glukozy przyjmowanej w każdym z nich.

Tabela 2.1: Wartości zmienianych parametrów używane w testach pojedynczych

Nazwa parametru	Jednostka	Interpretacja i uzasadnienie
p_2	$\frac{1}{min}$	Odwrotność stałej czasowej określającej tempo reakcji komórek na zmiany poziomu insuliny we krwi. Parametr fizjologiczny pozwalający na uwzględnienie różnic w działaniu układu glukoza-insulina między pacjentami.
P_{bazowe}^*	bezwymiarowy	Bazowa wartość zmiennej określającej wpływ wysiłku fizycznego, która modyfikuje wpływ insuliny na zmiany poziomu glukozy. Drugi z parametrów pozwalających uwzględnić różnice w układzie glukoza-insulina między pacjentami.
V_{max}	$\frac{mg}{min}$	Maksymalne tempo opróżniania żołądka, definiujące charakterystykę wchłaniania glukozy z pokarmu. Parametr modelu posiłku pozwalający na różnicowanie pacjentów.
T_{up_max}	min	Czas narastania krzywej tempa opróżniania żołądka. Wartość parametru zależna jest od indeksu glikemicznego posiłku, pozwala więc na różnicowanie jego rodzaju.

Liczbę posiłków przyjmowanych w ciągu dnia uzależniono od celu prowadzonego eksperymentu. Jeżeli wyniki miały być analizowane na podstawie całości przebiegów czasowych, zdecydowano o uwzględnieniu dwóch posiłków, tak aby zwiększyć czytelność uzyskiwanych rezultatów. W przeciwnym wypadku scenariusz zawierał przyjmowanie 3 posiłków w ciągu dnia.

Wariant uwzględniający 3 posiłki dziennie posłużył jako podstawowy w celu określenia pory występowania posiłków, a także ilości przyjmowanej w ramach każdego z nich glukozy. Założono zależności odpowiadające w przybliżeniu zwykłemu schematowi posiłków w ciągu dnia, a więc:

- śniadanie w godzinach porannych - 20g glukozy,
- lunch we wczesnych godzinach popołudniowych - 40g glukozy,
- obiad w godzinach wieczornych - 60g glukozy.

Jeżeli wykorzystywany scenariusz obejmować miał jedynie 2 posiłki, usuwany był środkowy z nich (lunch).

W przypadku wysiłków określić należało podobnie jak dla posiłków:

- ich liczbę w ciągu dnia,
- pory ich występowania,
- długość trwania,
- intensywność.

Podstawowe rozróżnienie dotyczy oczywiście liczby wysiłków w ciągu dnia, gdyż ono determinuje pozostałe aspekty. Zdecydowano o wybraniu 2 wariantów liczby wysiłków, niezależnie od sytuacji dotyczącej posiłków.

Pierwszym wariantem jest brak wysiłku fizycznego. Scenariusze takie są niezbędne, aby zweryfikować działanie układu regulacji na podstawowym poziomie, bez dodatkowych zakłóceń. W drugim wariantcie uwzględniono 2 wysiłki w ciągu dnia, dla których niezbędne jest określenie intensywności i parametrów czasowych, których zróżnicowanie pozwala na określenie dwóch odrębnych scenariuszy. Każdy z nich zawierał 2 wysiłki następujące po posiłku porannym oraz wieczornym. Zdecydowano o przyjęciu tych samych czasów trwania wysiłku w obu uwzględniających go wariantach - pierwszy wysiłek 1.5 godziny, drugi 2.5 godziny. W pierwszym z wariantów intensywności wysiłków były związane z obfitością posiłków tak, że wysiłek o większej intensywności następował po posiłku zawierającym większą dawkę glukozy. Same wysiłki następowały 2 godziny po odpowiednich posiłkach, co zapewniało, że glukoza z posiłku zostanie w

znacznym stopniu przyswojona (lecz nie całkowicie). W drugim wariancie, w porównaniu do poprzedniego, zmianie uległy przede wszystkim intensywności wysiłków. Dla obu przyjęto dla niej taką samą wartość, większą niż dla bardziej intensywnego z wysiłków w poprzednim wariancie. Równocześnie przyspieszono o pół godziny porę rozpoczęcia każdego z wysiłków, co odpowiada sytuacji, kiedy pacjent planując zwiększony wysiłek fizyczny spożywa posiłek bliżej planowanej pory wysiłku.

Uwzględnienie ograniczenia wartości sygnału sterującego

Układy regulacji powinny być projektowane z uwzględnieniem charakterystyki obiektu, w którym zostaną zastosowane, co może nieść za sobą konieczność wprowadzenia pewnych ograniczeń. Mówiąc o ograniczeniach w kontekście układów biologicznych, należy wziąć pod uwagę maksymalne dopuszczalne dawki podawanych preparatów, które nie będą powodowały negatywnych skutków dla organizmu. Choć w przypadku podawania insuliny poprzez urządzenia wykonawcze układu sztucznej trzustki istnieje również kwestia maksymalnej wydajności oraz dokładności pomp dozujących dane substancje, w niniejszym rozdziale postanowiono skupić się jedynie na ograniczeniach wynikających z potencjalnych niepożądanych skutków natury medycznej zbyt dużych dawek substancji.

Występujące w literaturze limity podawanej insuliny można podzielić na dwie kategorie:

- maksymalna dawka jednorazowa - maksymalna ilość insuliny, jaką można podać jednorazowo,
- maksymalna dawka dzienna - sumaryczna ilość insuliny podanej ciągu doby.

Obie wymienione kategorie należy uwzględnić przy określaniu ograniczeń dla regulatora. Jednakże, ograniczenie górne dla regulatorów powinno być niższe od pierwszej z wymienionych wartości, gdyż wielokrotne podawanie w ciągu dnia dawki w okolicach krytycznej nie byłoby rozsądne. Dlatego też należy uwzględnić drugą kategorię, a więc maksymalną dzienną dawkę insuliny.

Wartość tę postanowiono oszacować na podstawie dostępnych w literaturze badań dotyczących typowego dobowego zapotrzebowania na insulinę u pacjentów z cukrzycą typu 1. W [99] określono je na ok. 0.5-1 [U] na kilogram masy ciała. Jednakże należy uwzględnić fakt, że dane te zawierają zarówno tzw. długo działającą insulinę (ang. *long-*

acting insulin), która ma za zadanie utrzymywać odpowiedni bazowy poziom insuliny we krwi, jak i tzw. bolus, czyli insulinę podawaną w celu reakcji na dodatkową glukozę z posiłku. W [162] określono, że bolus powinien stanowić między 50%, a 70% całkowitej dobowej dawki insuliny. Jest to istotne, ponieważ w niniejszej pracy zakłada się, że układ regulacji sztucznej trzustki odpowiedzialny jest jedynie za tę część podawanej insuliny.

W ramach każdego ze scenariuszy testowych przeprowadzono symulacje dwukrotnie, raz bez wprowadzania ograniczenia na maksymalną wartość sygnału sterującego, a drugi raz przy wprowadzonym takim ograniczeniu. Działanie to ma na celu sprawdzenie, czy ograniczenia te są aktywne oraz jak bardzo wprowadzenie medycznych ograniczeń na ilość podawanej substancji wpływa na działanie układu regulacji. Podział ten został dodatkowo wprowadzony w celu pokazania różnic między projektowaniem układów sterowania bez wnikania w ich zastosowanie, a takim, które bierze pod uwagę specyfikę zastosowania.

2.3.3 Testy symulacyjne

Model układu glukoza-insulina osoby chorej na cukrzycę typu 1, którego równania przedstawiono w 2.2.1, posłużył do symulacji działania proponowanych układów sterowania sztuczną trzustką. Z wykorzystaniem oprogramowania Matlab wykonano szereg symulacji, mających na celu określenie zachowania badanych układów regulacji. Przeprowadzane eksperymenty numeryczne można w najszerszy sposób podzielić na 2 kategorie:

- pojedyncze - gdzie dla pojedynczego pacjenta porównywano przebiegi sygnału wyjściowego oraz sterowania, dla wybranych kilku wartości parametrów (przedstawionych w Tabeli 2.2), równocześnie w ramach jednej symulacji zmianie względem wartości nominalnej ulegał tylko jeden parametr;
- populacyjne - gdzie przeprowadzano symulacje dla kohorty tysiąca wirtualnych pacjentów, charakteryzujących się losowymi, lecz mieszczącymi się w ustalonych granicach (wartości skrajne z Tabeli 2.2) wartościami parametrów. Badano wtedy nie całości przebiegów a jedynie wybrane wskaźniki jakości określające ich charakter.

Taki podział pozwala na analizę, zarówno jakościową (wizualną) poprzez wykres przebiegu sygnału, jak i ilościową poprzez wskaźniki. Pierwsza grupa testów miała na celu

Tabela 2.2: Wartości zmienianych parametrów używane w testach pojedynczych

Parametr	Wartość nominalna (par_{nom})	Wartości minimalna i maksymalna
p_2	0.021 [38]	[0.015, 0.030]
P_{bazowe}^*	1 [23]	[0.5, 3]
V_{max}	360 [140]	$[0.5 \times par_{nom}, 1.5 \times par_{nom}]$
T_{up_max}	30 [140]	$[0.5 \times par_{nom}, 3 \times par_{nom}]$

określenie wpływu poszczególnych parametrów na odpowiedzi badanego układu. Rozdzielenie zmian poszczególnych parametrów na różne symulacje pozwala jednoznacznie określić charakter zmian odpowiedzi układu wynikający z modyfikacji określonego parametru. Wyniki drugiej grupy testów mogą reprezentować rezultaty otrzymane dla wirtualnej populacji pacjentów, którzy korzystają z układu z identycznymi nastawami regulatora, ale także spożywają innego rodzaju posiłki, co objawia się różnymi wartościami parametrów związanych z przenikaniem glukozy z żołądka. Pozwala to na określenie uniwersalności danego układu regulacji.

W kontekście opisanych w 2.3.2 scenariuszy testowych należy zaznaczyć, że testy pojedyncze przeprowadzono dla 2 posiłków (gdyż ocena odbywa się na podstawie całości przebiegów) oraz braku wysiłku fizycznego. Nieuwzględnienie wysiłku na tym etapie związane jest z faktem, że żaden parametr nie zależy od dodatkowego wysiłku fizycznego (w szczególności P_{bazowe}^* jest komponentem P^* niezależnym od wysiłku), a jego wprowadzenie zaburzałoby efekty zmiany samego parametru. Testy populacyjne natomiast odbywały się dla wszystkich określonych scenariuszy, dla których liczba posiłków wynosiła 3.

2.3.4 Wskaźniki oceny jakości regulacji

W przypadku testów populacyjnych wyniki wielu symulacji trzeba móc porównać w sposób szybki i obiektywny. W tym celu niezbędne są wielkości liczbowe, pozwalające określić najistotniejsze cechy uzyskanych przebiegów czasowych. W kontekście interpretacji biologicznej przebiegu czasowego poziomu glukozy we krwi należy zwrócić uwagę na przekraczanie wartości oznaczających stany niepożądane - hipoglikemię i hiperglikemię. Z nimi związana jest pierwsza grupa wskaźników - liczba oraz sumaryczny czas trwania epizodów hipoglikemii, a także sumaryczny czas trwania stanu hipergli-

chemii. Ostatnia z tych cech została dodatkowo rozbita, aby uwzględnić występowanie epizodów poważnej hiperglikemii. Poza wskaźnikami związanymi z poziomem glukozy we krwi wprowadzono również, standardowy w analizie układów regulacji, wskaźnik w postaci całki sygnału sterującego. Wszystkie wykorzystywane wskaźniki, wraz z opisem i uzasadnieniem ich użycia, zebrano w Tabeli 2.3.

Tabela 2.3: Wskaźniki jakości wykorzystane do oceny algorytmów regulacji.

Nazwa	Opis	Uzasadnienie
Liczba wystąpień hipoglikemii	Suma liczby wystąpień stanów hipoglikemii ($G(t) < 60 \frac{mg}{dl}$) w zestawie symulacji.	Każde wystąpienie stanu hipoglikemii jest zagrożeniem dla zdrowia i życia pacjenta, dlatego należy zliczać, jak często dochodzi do takiej sytuacji.
Czas występowania hipoglikemii	Rozkład czasu w zestawie symulacji, w którym pacjent znajdował się w stanie hipoglikemii ($G(t) < 60 \frac{mg}{dl}$)	Im dłużej utrzymuje się zbyt niski stan glukozy we krwi, tym poważniejsze mogą być skutki dla organizmu, dlatego informacja o czasie jest równie ważna jak o liczbie wystąpień tego stanu.
Czas występowania hiperglikemii	Rozkład czasu w zestawie symulacji, w którym pacjent znajdował się w stanie hiperglikemii ($G(t) > 140 \frac{mg}{dl}$)	Długotrwałe utrzymywanie się wysokiego poziomu glukozy we krwi może prowadzić do wielu niebezpiecznych dla zdrowia i życia skutków ubocznych, dlatego należy zbadać również ten aspekt.
Dobowa użycia insulina	Dana jako $\int_0^t I_{in}(\tau) d\tau$, gdzie $I_{in}(\tau)$ jest podawaną insuliną w czasie.	Standardowy wskaźnik w postaci całki sygnału sterującego liczony w celu porównania różnych regulatorów. Dodatkowo służy do sprawdzenia czy nie przekroczono maksymalnej dobowej dawki insuliny.

2.4 Wyniki

Omówione w 2.2 struktury sterowania zostały przetestowane w środowisku symulacyjnym, w ramach scenariuszy opisanych w 2.3. W pierwszej kolejności przeprowadzono testy pojedyncze, pozwalające na określenie zachowania układu regulacji w zależności od wykorzystanego regulatora oraz przyjętego ograniczenia na wartość maksymalną sterowania. Wykonano je dla wartości zadanej poziomu glukozy we krwi równej

$80 \frac{mg}{dl}$, scenariusza bez wysiłku (zgodnie z 2.3.2) oraz podstawowej struktury układu regulacji (2.2.2). Wyniki przedstawiono w formie przebiegów czasowych. Zostały one również opublikowane w [256].

W drugiej kolejności przedstawione zostaną wyniki testów populacyjnych, w kontekście wskaźników opisanych w Tabeli 2.3. W ich ramach sprawdzone zostały obie struktury układu regulacji, dla obu regulatorów i 2 scenariuszy testowych. Symulacje zostały powtórzone dla dwóch różnych wartości zadanych poziomu glukozy: bardziej agresywną - $80 \frac{mg}{dl}$ oraz łagodniejszą - $100 \frac{mg}{dl}$. Wyniki przedstawione zostały w formie histogramów rozkładów ich wartości dla kohorty wirtualnych pacjentów. Rezultaty dla agresywnej wartości zadanej również zostały częściowo opublikowane w [256]. Zgodnie z rozważaniami zawartymi w 2.3.2 wykorzystano 3 scenariusze testowe, różniące się intensywnością i czasem występującego wysiłku, którym nadano numery:

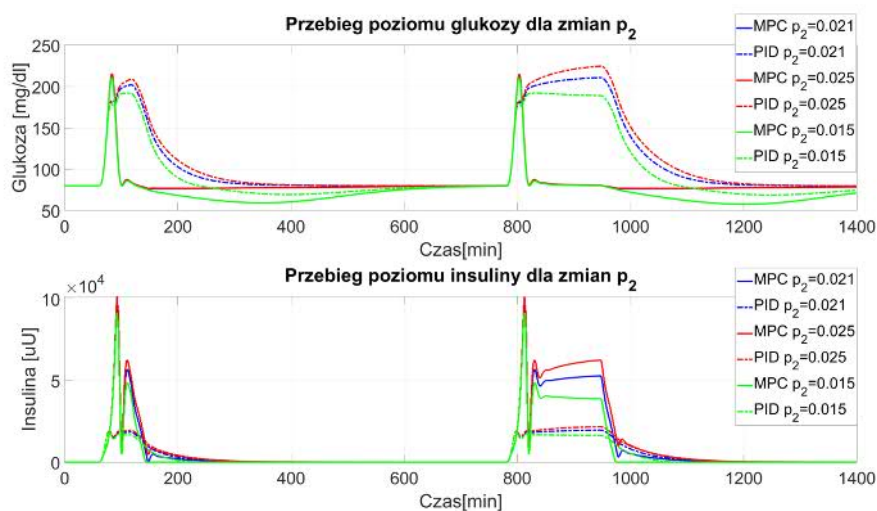
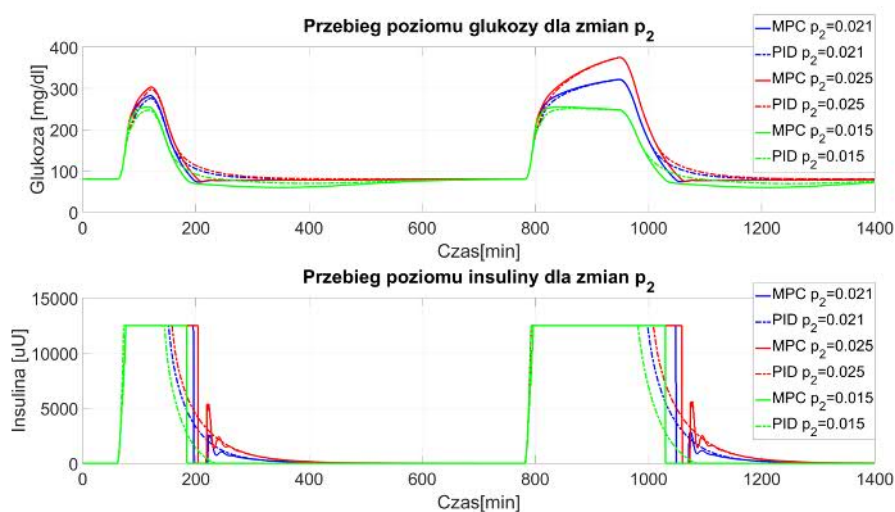
- scenariusz 1. - brak wysiłku fizycznego w ciągu dnia;
- scenariusz 2. - wysiłki o różnej intensywności występujące 2 godziny po pierwszym i trzecim posiłku w ciągu dnia;
- scenariusz 3. - wysiłki o jednakowej intensywności (wyższej niż w scenariuszu 2.) występujące 1.5 godziny po pierwszym i trzecim posiłku w ciągu dnia.

2.4.1 Testy pojedyncze

Głównym celem symulacji pojedynczych było ukazanie wpływu, jaki zmiany wartości każdego z parametrów, wyszczególnionych w Tabeli 2.1, mogą wywierać na działanie układu regulacji. Niezależnie od tego można jednak sprawdzić inny, równie istotny aspekt. Porównując odpowiedzi układu dla regulatorów, w których sygnał wyjściowy nie został ograniczony od góry, oraz tych z ograniczeniami opisanymi w 2.3.2, można przeanalizować wpływ i znaczenie ich wprowadzenia.

Wpływ odchyleń parametru p_2

Pierwszym ocenianym parametrem był p_2 , którego zmiany odpowiadają różnicom w czasie potrzebnym, aby podana insulina zaczęła wywierać wpływ na układ. Parametr ten jest istotny, ponieważ jest bezpośrednio związany ze stałą czasową obiektu sterowania, co może prowadzić do problemów dla algorytmów regulacji.

(a) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru p_2 przy nieograniczonym sygnale sterującym(b) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru p_2 przy ograniczonym sygnale sterującymRysunek 2.4: Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru p_2 : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.

Zgodnie z oczekiwaniami, jeśli pacjent charakteryzuje się mniejszą wartością tego parametru niż przyjęta do strojenia regulatora, może to prowadzić do długotrwałych epizodów hipoglikemii w przypadku obu algorytmów (Rys. 2.4), w szczególności dla przypadku bez ograniczenia na maksymalną wartość sterowania. Jednakże dla MPC incydenty te są bardziej dotkliwe niż w przypadku PID. W pewnym sensie jest to wynik niedoszacowania (pośrednio) przez algorytm regulacji czasu potrzebnego, aby insulina wpłynęła na poziom glukozy we krwi.

Wpływ odchylenia parametru P_{bazowe}^*

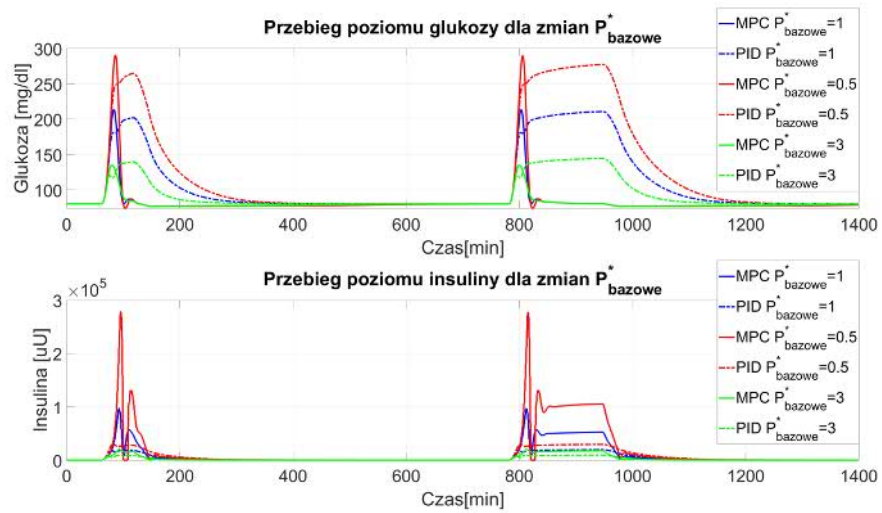
Jedną z indywidualnych cech fizjologicznych, które mogą się znacząco różnić w populacji, jest wrażliwość pacjentów na insulinę, rozumiana jako tempo wychwytu glukozy przez komórki w obecności insuliny. W rozważanym modelu jest ona reprezentowana przez P_{bazowe}^* .

Rysunki 2.5a oraz 2.5b jednoznacznie wskazują, że główną widoczną konsekwencją różnych wartości P_{bazowe}^* jest maksymalna wartość poziomu glukozy we krwi po posiłku. Aspekt ten jest bardzo podobny w obu algorytmach regulacji, zarówno w przypadku sygnału wyjściowego nieograniczonego, jak i ograniczonego. Zmianę charakteru przebiegu widać jedynie w przypadku zwiększenia P_{bazowe}^* i regulatora PID z ograniczeniem. W tym przypadku podawane ilości insuliny są mniejsze niż dopuszczalne maksimum w trakcie całej symulacji.

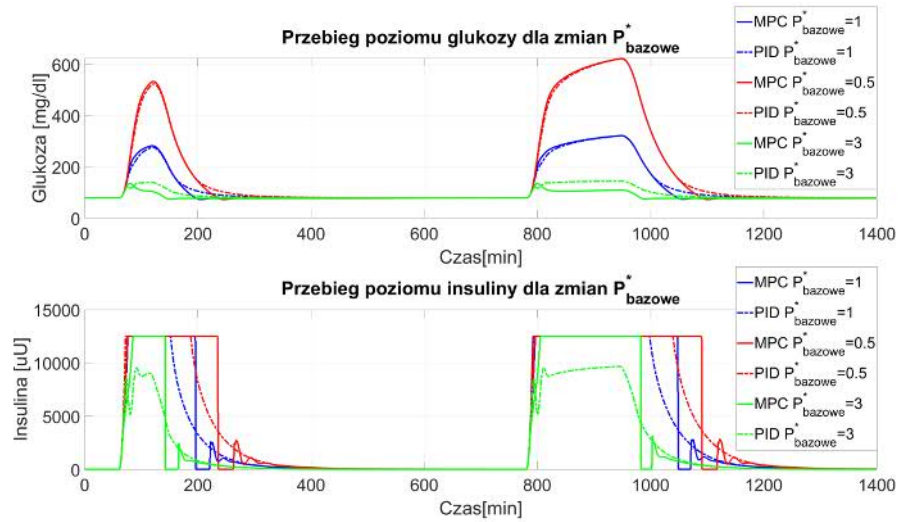
Wpływ odchylenia parametru V_{max}

Jak zauważono wcześniej, różnice w wartościach parametru V_{max} odpowiadają różnicom w efektywności układu pokarmowego. Wyższe wartości powinny oznaczać szybsze wchłonięcie całej dawki glukozy, a więc wartości poziomu glukozy we krwi osiągające wyższe poziomy, lecz również krócej trwający okres, w którym glukoza z posiłku przenika do krwiobiegu.

Dla tego parametru Rysunki 2.6a oraz 2.6b pokazują istotne różnice w odpowiedziach układu z parametrami nominalnymi i zmienionymi. W układach regulacji zachowana jest spodziewana charakterystyka dotycząca wartości maksymalnej i szybkości powrotu do wartości zadanej. Wyjątkiem jest tutaj regulator MPC bez ograniczenia, w którego przypadku jedynie osiągnięte maksimum po posiłku zależy od wartości parametru V_{max} .

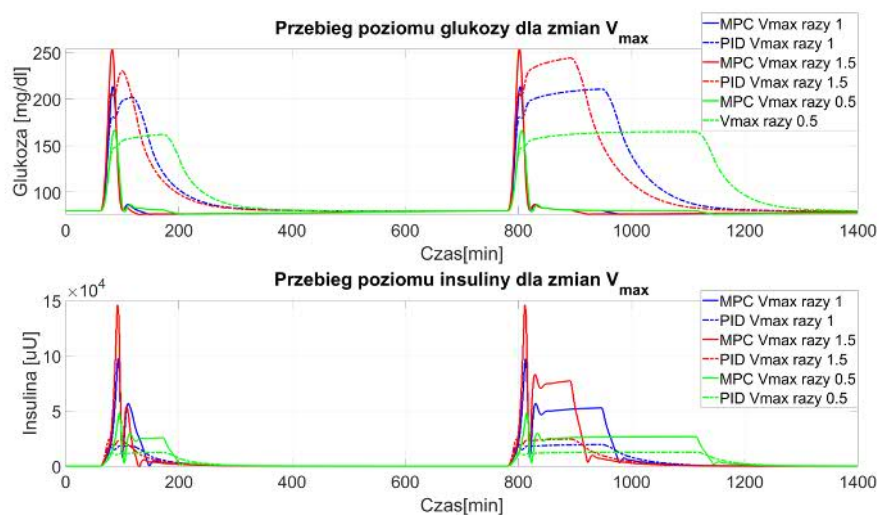


(a) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyleń parametru P_{bazowe}^* przy nieograniczonym sygnale sterującym

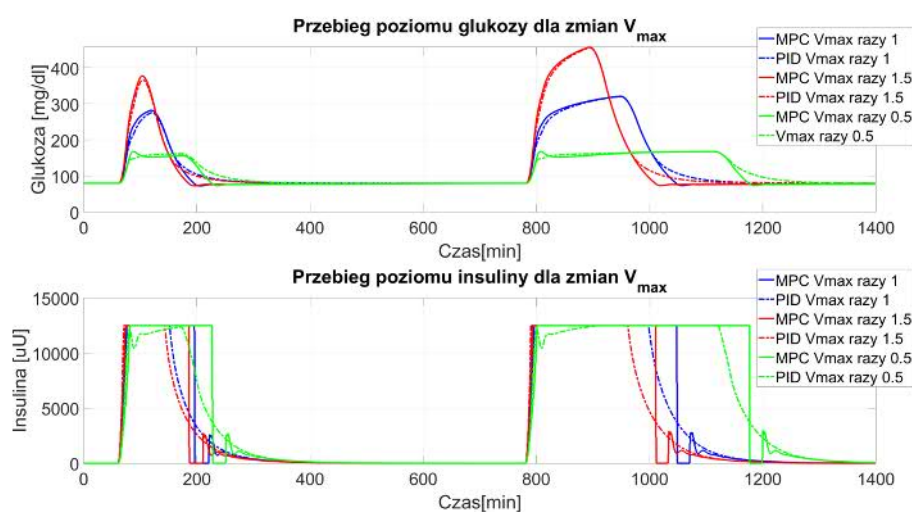


(b) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyleń parametru P_{bazowe}^* przy ograniczonym sygnale sterującym

Rysunek 2.5: Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyleń parametru P_{bazowe}^* : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.



(a) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru V_{max} przy nieograniczonym sygnale sterującym



(b) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru V_{max} przy ograniczonym sygnale sterującym

Rysunek 2.6: Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru V_{max} : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.

Warto zwrócić uwagę na przebieg sterowania, na którym widoczne jest, że nawet jeżeli nie jest to widoczne w przebiegu poziomu glukozy we krwi, niższe V_{max} oznacza konieczność podawania insuliny przez dłuższy czas po posiłku.

Wpływ odchyłen parametru T_{up_max}

Ostatnim, lecz nie mniej istotnym parametrem jest T_{up_max} , którego wartość odpowiada indeksowi glikemicznemu spożywanego posiłku. Sprawdzenie wpływu jego zmienności ma kluczowe znaczenie na drodze do uniwersalności stosowania algorytmów, ze względu na ogromną różnorodność produktów żywnościowych, z których każdy posiada własną wartość indeksu glikemicznego.

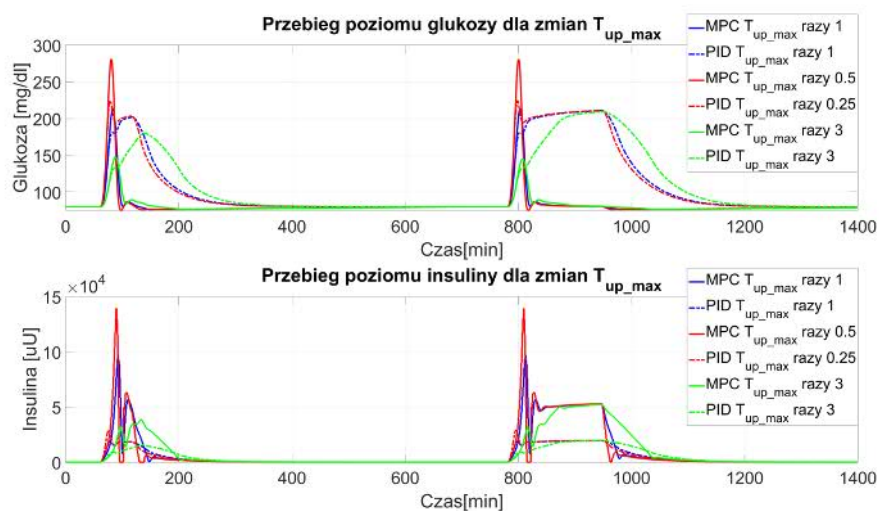
Rysunki 2.7a i 2.7b jednoznacznie pokazują, jak duży wpływ na zachowanie układów regulacji ma indeks glikemiczny posiłku. Zmienia się nie tylko maksymalna wartość stężenia glukozy we krwi, ale także kształt odpowiedzi, który wydaje się zależeć od rzeczywistej wartości T_{up_max} (najbardziej widoczne w wynikach dla mnożnika T_{up_max} równego 3). Podobnie jak dla V_{max} , nie jest to widoczne w przebiegu poziomu glukozy we krwi dla algorytmu MPC bez ograniczenia, lecz widoczna jest różnica w przebiegach sterowania.

Ogólne obserwacje z symulacji pojedynczych

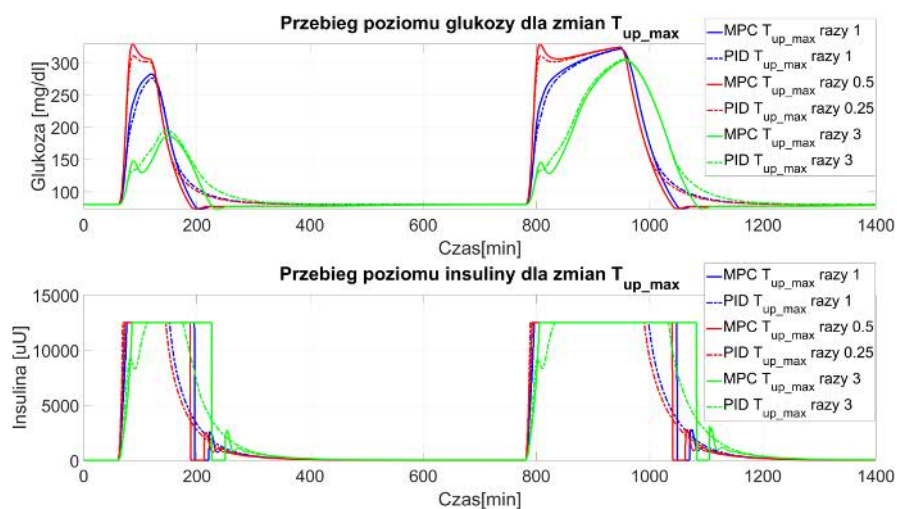
Patrząc na wszystkie odpowiedzi przedstawione na rysunkach 2.4 – 2.7, można wyciągnąć kilka ogólnych wniosków dotyczących działania układów regulacji.

Po pierwsze, wprowadzenie górnego ograniczenia sygnału sterującego ma znaczący wpływ na odpowiedzi układu we wszystkich przypadkach. Dotyczy to obu algorytmów, jednak w przypadku MPC zmiany w zachowaniu są znacznie większe. Agresywna reakcja regulatora MPC na pojawienie się glukozy z posiłku jest zasadniczo hamowana przez ograniczenie, co sprawia, że odpowiedzi MPC i PID stają się bardziej zbliżone. Ponieważ ograniczenie sygnału sterującego wydaje się niezbędne w omawianym zastosowaniu, oba regulatory pozwalają na podobnie skuteczne działanie układu regulacji.

Po drugie, ta sama agresywność, która pozwala regulatorowi MPC szybko obniżyć poziom glukozy we krwi, prowadzi do przeregulowania, które może wywołać stan hipoglikemii, jak pokazano m. in. na Rys. 2.4. Jako że hipoglikemia jest stanem znacznie bardziej niebezpiecznym, redukcja tego zagrożenia poprzez wprowadzenie ograniczenia



(a) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru T_{up_max} przy nieograniczonym sygnale sterującym



(b) Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru T_{up_max} przy ograniczonym sygnale sterującym

Rysunek 2.7: Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru T_{up_max} : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.

rekompensuje utratę jakości związaną z wolniejszym działaniem.

2.4.2 Testy populacyjne podstawowej struktury sterowania

Choć istotne jest poznanie wpływu zmian wartości parametrów na przejściowe odpowiedzi układu, to jednak ocena bezpieczeństwa i jakości powinna opierać się na określeniu liczby incydentów hipoglikemii i hiperglikemii w heterogenicznej populacji - kohorcie wirtualnych pacjentów. W tym celu, na podstawie przeprowadzonych symulacji populacyjnych, wyznaczono wartości wskaźników z Tabeli 2.3. Czasy występowania hipoglikemii i hiperglikemii, a także dobową użytą insulinę przedstawiono w formie histogramów. Dla uzyskania bardziej przejrzystego obrazu histogramy sporządzono jedynie dla niezerowych wartości wskaźników jakości.

Jeśli chodzi o liczbę wystąpień hipoglikemii, opisuje ona łączną liczbę sytuacji, gdy poziom glukozy we krwi spadł poniżej poziomu $60 \frac{mg}{dl}$, niezależnie od tego, jak długo sytuacja ta trwała. Łącznie z czasem trwania hipoglikemii dostarcza informacji na temat bezpieczeństwa stosowanego układu regulacji.

Aby ułatwić dyskusję na temat ograniczania sygnału sterującego regulatorów, symulacje populacyjne przeprowadzono zarówno dla wersji bez ograniczeń, jak i z ograniczeniami.

Scenariusz 1.

W scenariuszu 1. nie występował dodatkowy wysilek. Oznacza to, że wszelkie epizody hipoglikemii będą spowodowane jedynie działaniem układu regulacji, tak jak przykładowo było to widoczne na Rysunku 2.4. W Tabeli 2.4 przedstawiono liczbę epizodów hipoglikemii, które miały miejsce podczas symulacji dla całej kohorty wirtualnej, w obu badanych wariantach ograniczenia sterowania i wartości zadanej.

Tabela 2.4: Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.

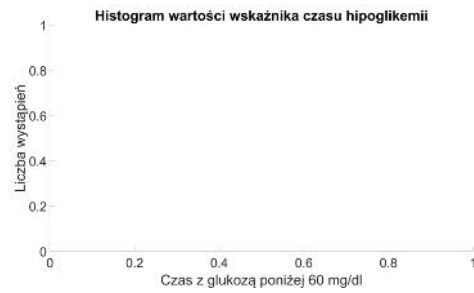
Wyjście	Wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$		Wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	
	PID	MPC	PID	MPC
nieograniczone	21	31	0	0
ograniczone	21	41	0	0

Przede wszystkim widoczne jest, że przyjęcie agresywnej wartości zadanej ($80 \frac{mg}{dl}$)

powoduje wystąpienie hipoglikemii indukowanej przez działanie regulatora. Zjawisko to występuje dla każdego algorytmu i obu wariantów ograniczenia, jednak jest ono częstsze dla regulatora MPC. Interesujące jest występowanie większej liczby epizodów hipoglikemicznych przy ograniczonej wartości sterowania w regulatorze MPC.



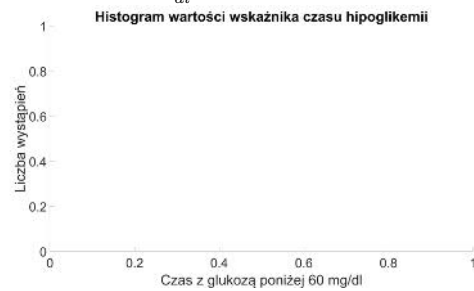
(a) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$

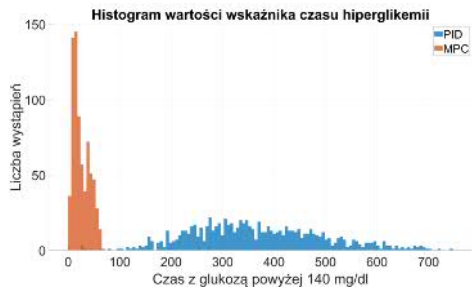


(d) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.8: Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

Potwierdzenie wyników zebranych w Tabeli 2.4 widoczne jest na histogramach (Rysunek 2.8). Histogramy dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$ (Rysunki 2.8a i 2.8c) pokazują, że dla regulatora MPC czasy trwania hipoglikemii były dłuższe niż dla PID, a także że występowały w większej liczbie symulacji. Dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ (Rysunki 2.8b i 2.8d) nie wystąpiły epizody hipoglikemii w żadnej symulacji, w związku z tym brak jest histogramu, jednak aby zachować schemat prezentacji wyników, pozostawiono puste wykresy w odpowiednich miejscach.

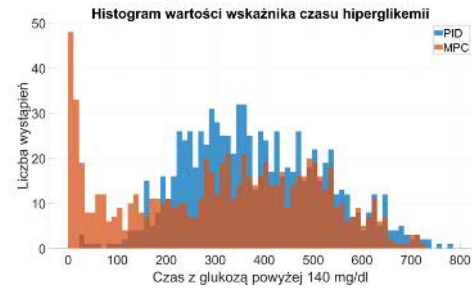
Hiperglikemia występująca w symulacjach jest wynikiem opóźnienia między pojawieniem się glukozy z posiłku we krwi, a zadziałaniem insuliny podanej przez regulator.



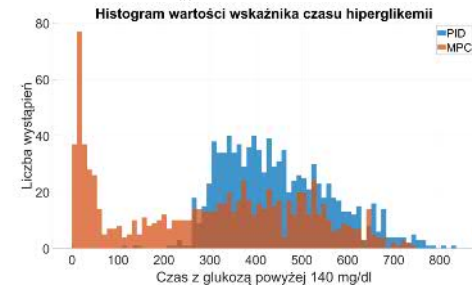
(a) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.9: Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

Im krótszy czas pozostawania w tym stanie, tym lepsza jakość działania układu regulacji.

Na Rysunku 2.9 widać wyraźnie efekt, jaki ograniczenie wyjścia regulatora ma na czasy hiperglikemii, szczególnie dla regulatora MPC. Dla wariantu bez ograniczenia rozkłady dla regulatorów PID i MPC są niemalże całkowicie rozłączne. Wszystkie symulacje dla MPC osiągnęły czasy hiperglikemii poniżej 100 minut, podczas gdy dla PID jest to między 100 a 700 minut ze średnią ok. 350 minut. Wprowadzenie ograniczenia silnie zbliża do siebie rozkłady dla obu regulatorów. Maksymalne czasy osiągane przez MPC zbliżają się do tych dla PID, jednak nadal pozostaje istotna liczba symulacji z bardzo krótkimi (poniżej 50 minut) czasami hiperglikemii.

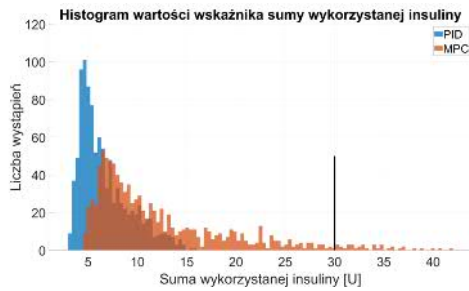
Przyjęta wartość zadana miała wpływ na umiejscowienie rozkładu. Widoczne jest, że w przypadku wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ (Rysunki 2.9b i 2.9d) rozkłady są przesunięte w kierunku wyższych wartości. W przypadku PID obserwuje się również zniekształcenie rozkładu na skutek niemal całkowitej nieobecności symulacji z czasami poniżej 250 minut. Dla regulatora MPC, poza przesunięciem wartości maksymalnych, zauważalne jest podobne przesunięcie wartości najczęstszej rozkładu.

Wprowadzenie ograniczenia związane było z maksymalną dawką, jaką można bezpiecznie podać pacjentowi. Na Rysunku 2.10 przedstawiono histogramy ilości insuliny użytej podczas symulacji. Zaznaczono również dawkę, która zgodnie z literaturą stanowi największą bezpieczną jej ilość. Widać na nich wyraźnie, że przy braku ograniczenia występują symulacje, w których dawka maksymalna została przekroczona. Jest ich więcej w przypadku wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$. Dodatkowo występują symulacje, w których bardzo zbliżono się do dawki maksymalnej. Jako że scenariusz testowy opisuje zwykły dzień z 3 posiłkami, oznaczałoby to podawanie pacjentowi insuliny w okolicach dawki krytycznej codziennie. Sytuacja ta dotyczy jednak jedynie regulatora MPC.

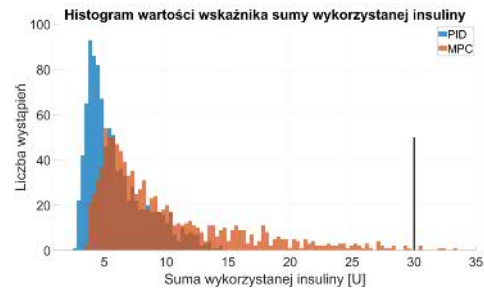
Histogramy dla regulatorów z ograniczeniem (Rysunki 2.10b i 2.10d) pokazują, że wprowadzone ograniczenie utrzymuje ilość podawanej insuliny znacznie poniżej dawki maksymalnej. Brak jest zauważalnych różnic między wariantami z różną wartością zadaną.

Scenariusz 2.

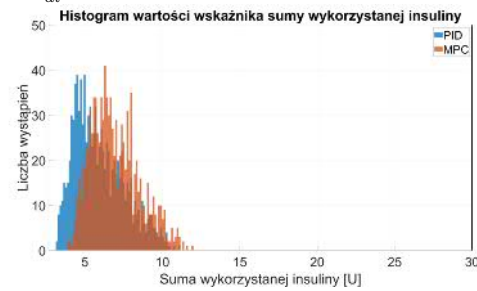
Scenariusz 2. zawiera dodatkowe wysiłki, następujące po porannym i wieczornym posiłku. Z uwagi na obniżenie poziomu glukozy we krwi na skutek wysiłku, spodzie-



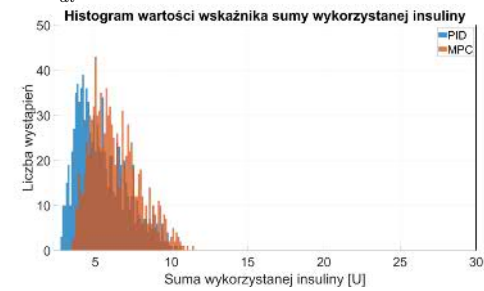
(a) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.10: Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.

wany jest wzrost liczby oraz czasu trwania epizodów hipoglikemii względem scenariusza 1.

Tabela 2.5: Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.

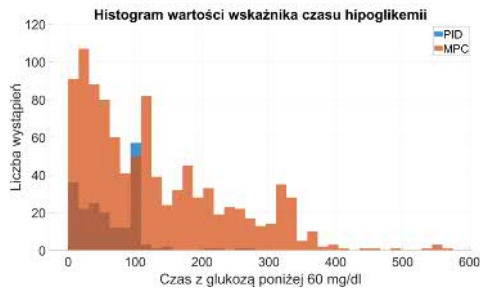
Wyjście	Wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$		Wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	
	PID	MPC	PID	MPC
nieograniczone	206	2607	42	1001
ograniczone	171	1541	29	274

Zebrane w Tabeli 2.5 liczby epizodów hipoglikemii w różnych wariantach układu sterowania potwierdzają spodziewany wynik. W przypadku każdego wariantu i każdego regulatora obserwowany jest wzrost liczby wystąpień hipoglikemii. W szczególności, znaczący wzrost można zaobserwować dla regulatora MPC, dla którego obserwuje się kilkudziesięciokrotnie większą liczbę epizodów. Zachowane natomiast są 2 zależności, które były obserwowane już w scenariuszu 1. - regulator PID generuje zdecydowanie mniej zdarzeń hipoglikemii niż MPC, a przyjęcie wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ powoduje znaczące obniżenie liczby epizodów hipoglikemii. Zmiana wartości zadanej powodowała większe zmiany niż wprowadzenie ograniczenia.

W przeciwieństwie jednak do wyników symulacji w scenariuszu 1., po wprowadzeniu wysiłku widoczne jest obniżenie częstości występowania hipoglikemii po nałożeniu ograniczenia na wartość sterowania. Związane jest to z wyższym poziomem glukozy we krwi w momencie wystąpienia wysiłku.

Histogramy czasu hipoglikemii (Rysunek 2.11) potwierdzają obserwacje dokonane na podstawie samej liczby epizodów. Wyraźnie widoczne jest, że regulator MPC w każdej sytuacji powodował częstsze i dłuższe stany hipoglikemii niż PID, a także że dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ nawet bez ograniczenia obserwowane było mniej zdarzeń hipoglikemii. Interesujące jest częste występowanie czasów hipoglikemii w okolicach 100 minut dla obu regulatorów po wprowadzeniu ograniczenia.

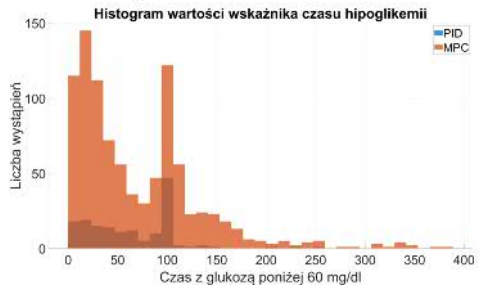
Analiza czasów trwania hiperglikemii (Rysunek 2.12) wskazuje, że obecność wysiłku fizycznego zmniejszyła częstość i długotrwałość hiperglikemii w każdym przypadku poza regulatorem MPC bez ograniczenia. Jest to związane z bardzo szybką reakcją tego regulatora, co było widoczne w testach pojedynczych (2.4.1). W pozostałych przypadkach widać delikatne przesunięcie rozkładów w kierunku mniejszych wartości, przy jednoczesnym zachowaniu charakteru i różnic zaobserwowanych w scenariuszu



(a) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$

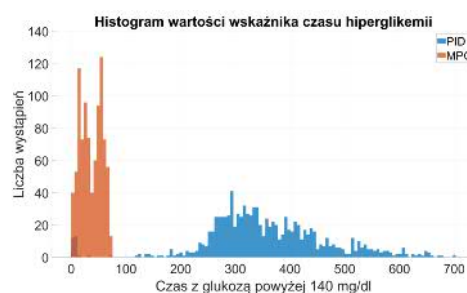


(d) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.11: Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$



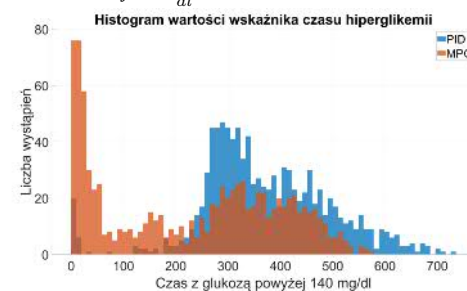
(a) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



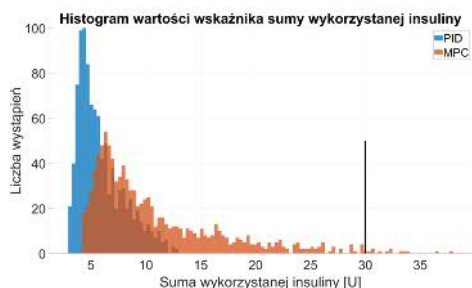
(c) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



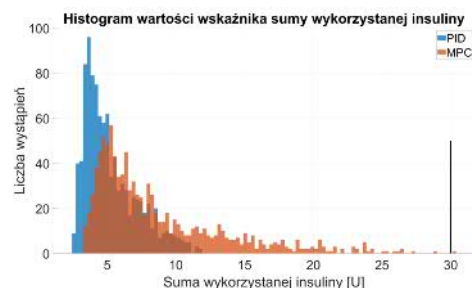
(d) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.12: Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

1. Istotną różnicą względem poprzednich wyników jest pojawienie się wyraźnie większej liczby symulacji z czasem hiperglikemii o okolicach 0, dla wszystkich wariantów regulatora PID, oraz dla MPC z ograniczeniem, przy obu wartościach zadanych.



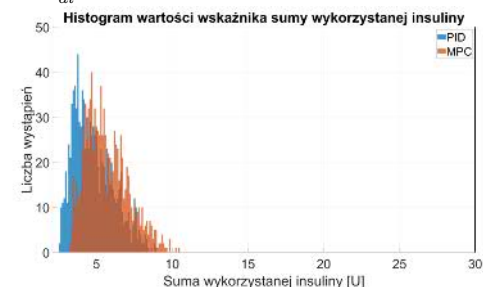
(a) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.13: Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.

Histogramy zużycia insuliny (Rysunek 2.13) są związane z poprzednio analizowanymi wskaźnikami. Zmniejszony czas hiperglikemii i zwiększony czas hipoglikemii oznacza mniejsze zapotrzebowanie na insulinę, co jest widoczne dla wszystkich wariantów. Warto zauważyć, że dzięki wysiłkowi fizycznemu i związanym z nim spadkami poziomu glukozy, jedynie w pojedynczych symulacjach dla nieograniczonego regulatora MPC przekroczono dawkę maksymalną.

Scenariusz 3.

Scenariusz 3. zawierał wysiłki o intensywności zwiększonej względem scenariusza 2. W związku z tym spodziewanym zachowaniem układu regulacji będzie dalsze pogorszenie jakości w kontekście występowania hipoglikemii. Równocześnie na skalę tego pogorszenia wpłynie również przesunięcie rozpoczęcia wysiłków bliżej posiłków.

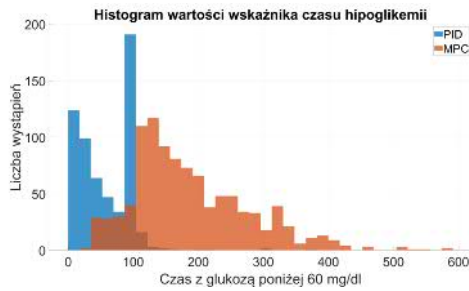
Tabela 2.6: Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.

	Wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$		Wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	
	PID	MPC	PID	MPC
nieograniczone	682	3350	408	2027
ograniczone	508	2329	286	1080

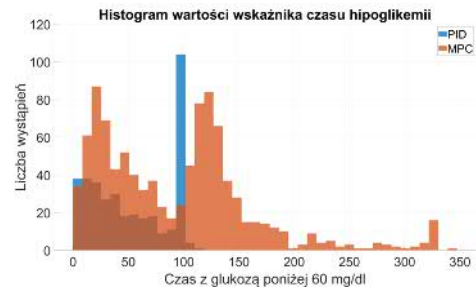
Przedstawione w Tabeli 2.6 wyniki w postaci liczby epizodów hipoglikemii w scenariuszu 3. potwierdzają spodziewane zachowanie. Dla każdego regulatora i wartości zadanej obserwuje się kilkukrotny wzrost liczby epizodów. Najbardziej zauważalny jest on w przypadku algorytmu PID dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$, gdzie widać niemal 10-krotny wzrost. Warto zwrócić uwagę na liczby epizodów dla regulatora MPC, w szczególności przy wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$. Oznaczają one, że średnio w każdej symulacji hipoglikemia wystąpiła ponad 2 razy dla regulatora z ograniczeniem i ponad 3 razy przy braku ograniczenia (mimo jedynie 2 wysiłków na dzień).

Porównując histogramy czasu hipoglikemii w scenariuszu 3. (Rysunek 2.14) do analizowanych wcześniej, w kontekście liczby epizodów, w pierwszej kolejności spojrzeć należy na regulator PID. Mimo że w jego przypadku nastąpił wielokrotny wzrost liczby epizodów, nie wpłynął on na kształt rozkładu. Nadal widać, że jedynie pojedyncze symulacje wykazały czas hipoglikemii powyżej 100 minut, natomiast najczęściej występował czas hipoglikemii ok. 100 minut.

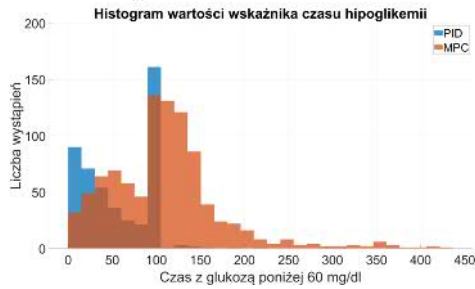
W przypadku regulatora MPC widoczne jest znaczne przesunięcie całości rozkładu w kierunku wyższych wartości. Dla żadnego wariantu nie zachowała się wartość najczęstsza w okolicach 0. Przy braku ograniczenia, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$ średnia rozkładu jest wyższa niż maksimum dla regulatora PID, w pozostałych przypadkach widać podobieństwo rozkładów dla obu regulatorów, przy czym za każdym razem rozkład dla MPC jest przesunięty w kierunku większych wartości oraz obejmuje znacznie wyższe liczby wystąpień.



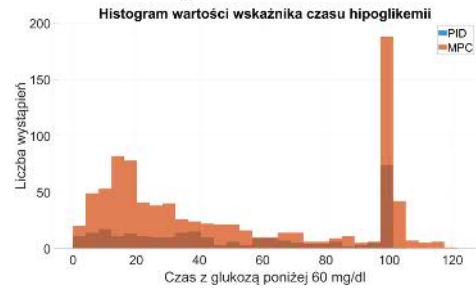
(a) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

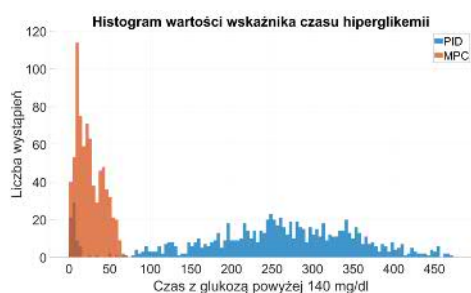


(c) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$

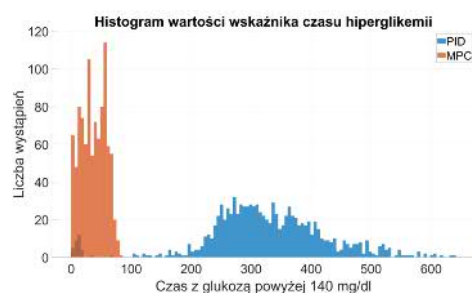


(d) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

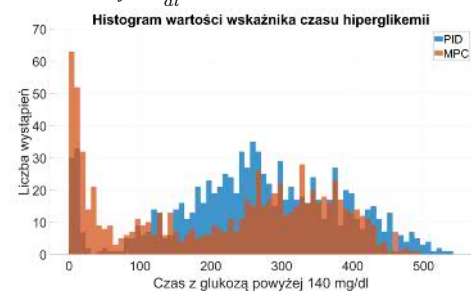
Rysunek 2.14: Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$



(a) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



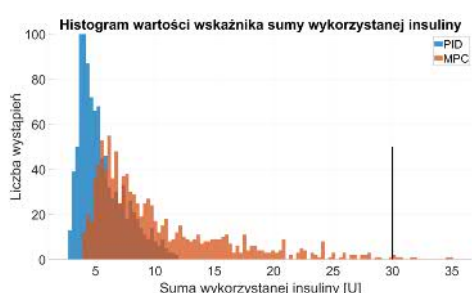
(c) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.15: Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

Histogramy czasu trwania hiperglikemii (Rysunek 2.15) pokazują, że zmiana intensywności i czasu wysiłku nie wpłynęła na kształt rozkładów tego wskaźnika. W przypadku regulatora MPC bez ograniczenia sytuacja wygląda podobnie jak w scenariuszu 2. - brak jest widocznych zmian, co wynika z szybkości reakcji układu sterowania. Dla wszystkich pozostałych regulatorów widoczne jest jeszcze silniejsze przesunięcie rozkładów w kierunku niższych wartości, szczególnie wyraźne dla regulatora PID bez ograniczenia.



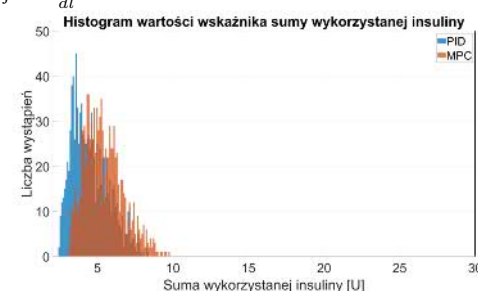
(a) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.16: Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.

Podobnie jak było to w przypadku scenariusza 2., w histogramach ilości użytej insuliny w scenariuszu 3. (Rysunek 2.16) widać te same zachowania, które zaobserwowano dla czasu hiperglikemii. Warto jedynie zaznaczyć, że dla tego scenariusza jedynym wariantem układu sterowania, dla którego przekroczona została dawka maksymalna w jakiegokolwiek symulacji, był algorytm MPC bez ograniczenia przy wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$.

2.4.3 Testy populacyjne struktury sterowania ze sprzężeniem od wysiłku

Wyniki uzyskane w scenariuszach z wysiłkiem dla układu sterowania opartego strukturalnie o zwykłe sprzężenie zwrotne pokazały, że nie jest on w stanie poradzić sobie z wystąpieniem spadku poziomu glukozy we krwi na skutek wysiłku. Doprowadzenie do regulatora informacji o planowanym wysiłku powinno pozwolić na wypracowanie odpowiedniego bufora tak, aby zapobiec epizodom hipoglikemii.

Z uwagi na różnicę w działaniu względem standardowego sprzężenia zwrotnego jedynie w przypadku wystąpienia jakiegokolwiek wysiłku, przeprowadzono testy jedynie dla scenariuszy 2. i 3.

Scenariusz 2.

W pierwszej kolejności sprawdzono działanie sprzężenia w przód od wysiłku dla scenariusza 2., w którym liczba epizodów hipoglikemicznych była wyraźnie mniejsza dla podstawowej struktury. Liczba i czas trwania epizodów hipoglikemii powinny być niższe, potencjalnie kosztem wydłużenia stanu hiperglikemii.

Tabela 2.7: Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. układu ze sprzężeniem w przód.

Wyjście	Wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$		Wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	
	PID	MPC	PID	MPC
nieograniczone	103	2551	17	958
ograniczone	70	1284	7	122

Liczby epizodów hipoglikemii dla poszczególnych wersji regulatora przedstawia Tabela 2.7. Największą poprawę widać dla regulatora PID, dla którego osiągnięto co najmniej dwukrotny spadek liczby zdarzeń hipoglikemii w każdym przypadku. Inaczej sytuacja wygląda dla algorytmu MPC, dla którego znaczący (dwukrotny) spadek zaobserwowano jedynie przy ograniczeniu sterowania i wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$. Jeżeli wyjście regulatora nie było ograniczone, zastosowanie sprzężenia w przód od wysiłku przyniosło minimalną poprawę - wynika to ze zdolności regulatora do skompensowania działania korektora. Oddzielnie należy spojrzeć też na przypadek MPC z ograniczeniem i wartością zadaną $80 \frac{mg}{dl}$. Choć liczba epizodów nadal jest znaczna (średnio ponad 1 epizod

na symulację), a względna poprawa wynosi zaledwie ok. 17%, w tym przypadku zaobserwowano największy (w liczbach bezwzględnych) ich spadek - ponad 200 epizodów mniej.



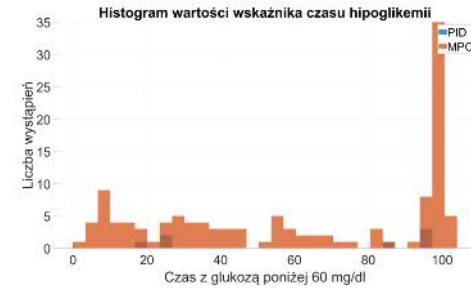
(a) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



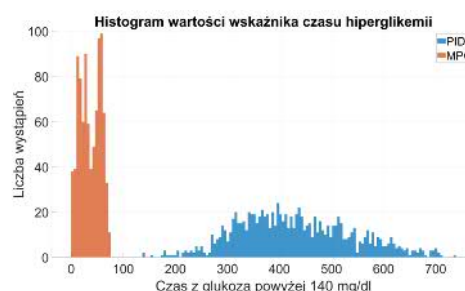
(d) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.17: Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

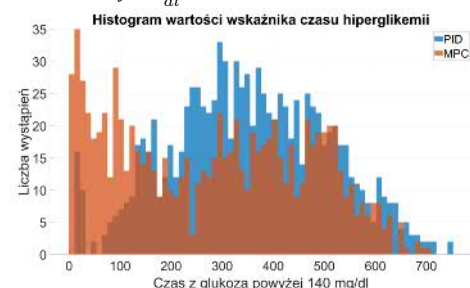
Ponownie różnice zaobserwowane przy analizie liczby epizodów hipoglikemii są widoczne w histogramach czasu jej trwania (Rysunek 2.17). Dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$ kształt wszystkich rozkładów pozostał taki sam, a zmianie uległy jedynie liczby wystąpień. W przypadku regulatora PID dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ w obu przypadkach rozkład jest niezauważalny ze względu na niewielką liczbę epizodów, widać jednak, że zakres wartości czasu hipoglikemii pozostaje podobny. Dla regulatora MPC przy braku ograniczenia sterowania nie obserwuje się niemal żadnej zmiany kształtu rozkładu względem struktury bez sprzężenia (Rysunek 2.11b). Po wprowadzeniu ograniczenia może wydawać się, że sytuacja uległa znacznej zmianie, jednak jest to efekt istotnego ograniczenia liczby epizodów, w szczególności tych krótkotrwałych.



(a) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.18: Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

Histogramy czasu trwania hiperglikemii (Rysunek 2.18) pokazują, że zmniejszenie wartości podawanej dawki insuliny przed planowanym wysiłkiem prowadzi do wydłużenia stanu hiperglikemii, lecz efekt ten nie jest bardzo silny. Największą różnicę widać w przypadku regulatora PID bez ograniczenia, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$. Otrzymany rozkład uległ znacznemu przesunięciu w kierunku wyższych czasów, a także ścięśnieniu. Przestały również występować symulacje z niewielkimi czasami hiperglikemii. Podobną skalę przesunięcia wartości maksymalnych widać w przypadku wprowadzenia ograniczenia. Co ciekawe, w tym przypadku rozkład uległ poszerzeniu, powodując znacznie mniejsze przesunięcie wartości średniej. Mniej widoczne przesunięcie można zaobserwować dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$, przy równoczesnym braku zmiany kształtu rozkładu. Wyraźną różnicą względem struktury bez sprzężenia (Rysunek 2.18b i 2.18d) jest brak symulacji z wartościami czasu z przedziału $(0, 100)$.

Zachowanie regulatora MPC ponownie można rozdzielić między przypadek bez ograniczenia, gdzie nie zaszły żadne wyraźne zmiany poza spadkiem liczby epizodów; oraz przypadek z ograniczeniem, gdzie można zaobserwować kilka zmian. Po pierwsze, rozkłady uległy poszerzeniu oraz przesunięciu wartości maksymalnych. Po drugie, uległy wyrównaniu na skutek zwiększonej liczby symulacji, w których czas hipoglikemii był ok. 100 i 200 minut.

Spodziewanym efektem zastosowania sprzężenia w przód w proponowanej formie jest ograniczenie ilości zużywanej insuliny względem braku sprzężenia. Jak widać na histogramach (Rysunek 2.19) we wszystkich przypadkach widoczne jest zwiększenie częstości występowania małych (ok. 5[U]) sumarycznych dawek. W szczególności dla regulatorów z ograniczeniem żadna z symulacji nie wskazała zużycia większego niż 10[U].

Scenariusz 3.

Ostatnim etapem weryfikacji było sprawdzenie działania struktury ze sprzężeniem w przód w scenariuszu 3., dla którego podstawowa struktura układu regulacji osiągnęła najgorsze wyniki.

Porównując liczby epizodów hipoglikemii uzyskane dla zmodyfikowanej struktury (Tabela 2.8) z tymi osiągniętymi dla podstawowego sprzężenia zwrotnego (Tabela 2.6) widać zależności bardzo podobne jak dla scenariusza 2. Regulator PID zdecydowanie lepiej współpracuje z testowanym sprzężeniem od wysiłku, prowadząc do kilku, a nawet



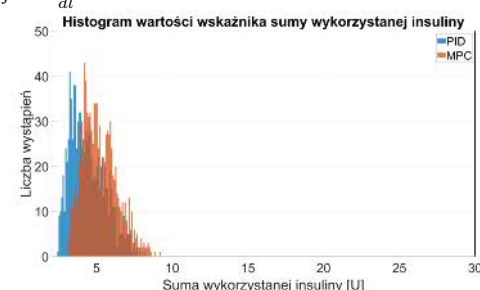
(a) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



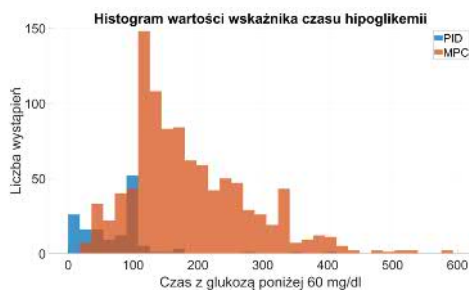
(d) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.19: Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.

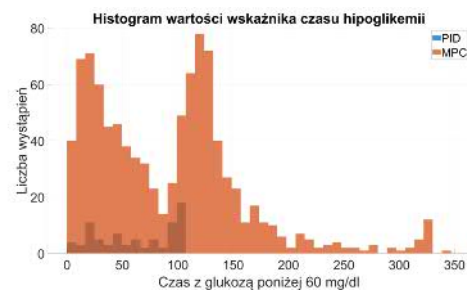
Tabela 2.8: Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. układu ze sprzężeniem w przód.

	Wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$		Wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	
Wyjście	PID	MPC	PID	MPC
nieograniczone	160	3359	79	1918
ograniczone	67	1546	15	134

kilkunastokrotnego zmniejszenia liczby epizodów hipoglikemii, zarówno przy ograniczeniu nałożonym na sterowanie, jak i jego braku. W przypadku regulatora MPC bez ograniczenia poprawa jest niewielka (dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$), lub jej brak (dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$). Dla wariantu z maksymalną wartością sterowania widać wyraźną poprawę, dla obu wartości zadanych rzędu 800-900 epizodów mniej. Jednakże patrząc na wartości względne, oznacza to nieco ponad 1.5-krotną poprawę dla agresywnej wartości zadanej, oraz prawie dziesięciokrotną dla wartości zadanej $\frac{mg}{dl}$.



(a) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



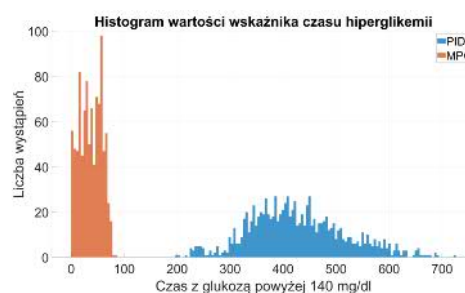
(d) Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.20: Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

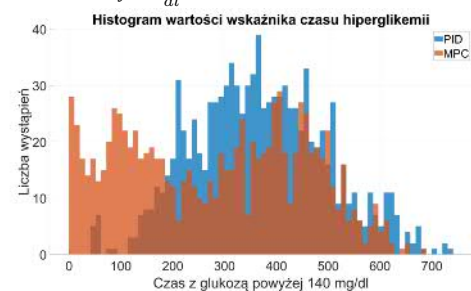
Podobnie jak było to w przypadku scenariusza 2. histogramy czasu trwania stanu hipoglikemii (Rysunek 2.20) pokazują, że zmiany w liczbie epizodów w żadnym przypadku nie powodują zmian w kształcie i charakterze rozkładów. Zakresy występujących czasów nie ulegają większym zmianom. Jedynie różnice między regulatorem PID i MPC zarysowują się jeszcze wyraźniej z uwagi na większą poprawę obserwowaną dla PID.



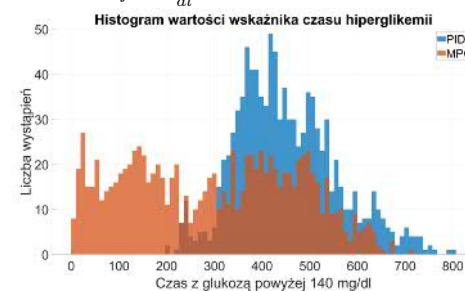
(a) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.21: Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$

Sytuacja wygląda inaczej w przypadku histogramów czasu hiperglikemii (Rysunek 2.21). O ile w scenariuszu 2. jedynie w przypadku PID bez ograniczenia i agresywnej wartości zadanej mieliśmy wystąpiło przesunięcie całości rozkładu, nie tylko wartości maksymalnych, o tyle w scenariuszu 3. sytuację taką do pewnego stopnia obserwujemy we wszystkich przypadkach.

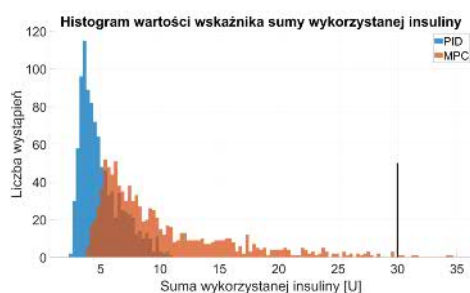
Dla regulatora PID oraz wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$, niezależnie od występowania ograniczenia sterowania, obserwujemy przesunięcie rozkładu o prawie 200 minut w kierunku dłuższych czasów. Równocześnie brak jest symulacji, w których czas hiperglikemii był w zakresie $(0, 50)$. Przy wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$ obserwowane przesunięcie wartości maksymalnych nie jest tak znaczne (ok. 100 minut), jednak brak jest symulacji z czasami hiperglikemii w zakresie $(0, 200)$.

Zachowanie regulatora MPC jest bardziej podobne do tego obserwowanego w scenariuszu 2. Jeżeli nie zostało wprowadzone ograniczenie, brak jest widocznych zmian w rozkładzie. W przeciwnym razie widoczne jest przesunięcie wartości maksymalnych czasu hiperglikemii, a także wyrównanie histogramu z kształtu dwumianowego do kształtu bliższego rozkładowi równomiernemu. Zjawiska te występują niezależnie od przyjętej wartości zadanej.

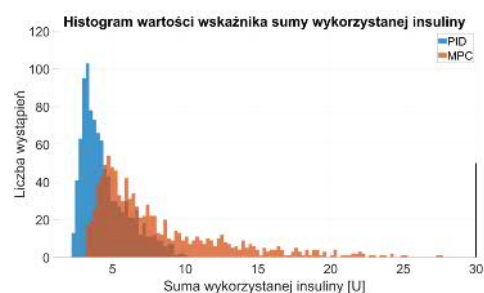
Dobowe użycie insuliny (Rysunek 2.22) uległo podobnym zmianom jak w scenariuszu 2. Zwiększyła się liczba wystąpień symulacji, w których wykorzystano ok. 5 jednostek, a po wprowadzeniu ograniczenia we wszystkich symulacjach wykorzystano wyraźnie mniej niż 10 jednostek.

2.5 Podsumowanie

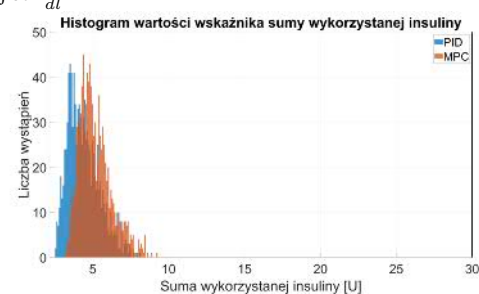
W ramach rozdziału wykorzystałem dostępny w literaturze model układu glukoza-insulina, a następnie zaprojektowałem układ sterowania poziomem glukozy, wykorzystujący algorytmy regulacji PIC oraz MPC. Przeprowadziłem analizy symulacyjne zaproponowanych układów dla dwóch wartości zadanych, w scenariuszach bez oraz z wysiłkiem fizycznym. Następnie zaproponowałem modyfikację struktury sterowania poprzez wprowadzenie sprzężenia w przód od planowanego wysiłku fizycznego, w celu zmniejszenia negatywnych skutków wysiłku widocznych w symulacjach. Dla tak stworzonego układu sterowania powtórzyłem eksperymenty symulacyjne. Oceny działania obu struk-



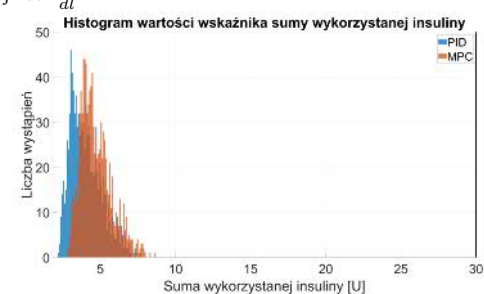
(a) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(b) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy nieograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$



(c) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $80 \frac{mg}{dl}$



(d) Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. przy ograniczonym sygnale sterującym, dla wartości zadanej $100 \frac{mg}{dl}$

Rysunek 2.22: Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.

tur oraz obu algorytmów, a także wpływu zmiany wartości zadanej dokonałem, analizując rozkłady wartości parametrów klinicznych w 1000 symulacji.

2.5.1 Podstawowa struktura układu sterowania

Zmienność między pacjentami, jak również zmiany parametrów fizjologicznych u pojedynczego pacjenta, stanowią istotną przeszkodę we wprowadzaniu systemów ciągłej, opartej o pętlę sprzężenia zwrotnego regulacji poziomu glukozy we krwi na szeroką skalę. Badania symulacyjne umożliwiają sprawdzenie odporności takich systemów na heterogeniczność odpowiedzi na podanie insuliny w populacji pacjentów. Standardowa metoda prowadzenia takich badań polega na stworzeniu kohorty wirtualnych pacjentów, których parametry próbkowane są z określonego rozkładu. Następnie, do porównania alternatywnych podejść do problemu oraz oceny ich jakości stosuje się wskaźniki specyficzne dla danej aplikacji. W rozdziale zaproponowano cztery takie wskaźniki.

Ustalenie wartości zadanej, do której powinien dążyć układ regulacji, ma istotny wpływ na jego działanie. Ustalenie niższego pożądanego poziomu glukozy powinno skuteczniej redukować stany hiperglikemii, może jednak spowodować wystąpienie hipoglikemii w sytuacji, gdy nastawy regulatora nie są dobrze dobrane lub wystąpi nieprzewidziane, dodatkowe zapotrzebowanie na glukozę. W ramach prowadzonych testów porównano dwie wartości zadane regulatorów.

Badania kliniczne, których wyniki opublikowano w ostatnich latach w wielu pracach, opierały się na wykorzystaniu algorytmów MPC lub PID, dostosowanych do specyficznego zastosowania, jakim jest regulacja poziomu glukozy we krwi u pacjentów z cukrzycą. W większości przypadków badania te koncentrowały się jednak na jednym wybranym regulatorze, w celu wykazania jego użyteczności i bezpieczeństwa. Często regulatory były dostrajane indywidualnie dla każdego pacjenta, w warunkach kontrolowanych. Dlatego też otwartym pozostawało pytanie, czy możliwe jest zastosowanie uogólnionego systemu sterowania w środowisku niekontrolowanym. W niniejszym rozdziale została podjęta próba odpowiedzi na to pytanie.

Ogólnie rzecz biorąc, wykazano, że oba typy regulatorów mogą być stosowane bez konieczności bardzo precyzyjnego dostrajania indywidualnego. Żaden z nich nie jest jednak całkowicie bezpieczny w sensie eliminacji incydentów hipoglikemii. Wniosek ten pozostaje aktualny również w przypadku regulatora dostrojonego indywidualnie,

gdyż parametry pacjenta mogą ulegać zmianom w czasie.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, nie można jednoznacznie stwierdzić wyższości któregoś z algorytmów. Obie struktury regulacji mają swoje zalety i wady. W przypadku regulatora MPC poważnym problemem jest hipoglikemia indukowana działaniem regulatora, jednak z drugiej strony umożliwia on szybsze obniżenie poziomu glukozy we krwi, prowadząc do skrócenia czasu trwania stanów hiperglikemii. Jeśli chodzi o układ regulacji oparty na PID, jego zachowanie w odniesieniu do hipoglikemii można określić jako bardziej niezawodne, jednak wiąże się to z gorszą skutecznością w redukcji stanów hiperglikemicznych.

Istotny wpływ na oba regulatory miała przyjęta wartość zadana. Podniesienie jej do poziomu $100 \frac{mg}{dl}$ pozwoliło wyeliminować wszystkie epizody hipoglikemii w scenariuszu niezawierającym dodatkowego wysiłku fizycznego. Oznacza to, że manipulując wartością zadaną, można znacząco zredukować epizody hipoglikemii indukowane bezpośrednio działaniem regulatora. Równocześnie podniesienie wartości zadanej miało negatywny wpływ na długość pozostawania w stanie hiperglikemii. Zależnie od sytuacji i pożądanego zachowania regulatora, poprzez zmiany wartości zadanej można dostosować działanie układu regulacji bez konieczności ingerencji w nastawy samego regulatora.

Wspólnym wnioskiem dla obu algorytmów sterowania jest to, że bez dodatkowego elementu w strukturze układu regulacji radzenie sobie z wysiłkiem fizycznym jest bardzo trudne, jeśli nie niemożliwe. Choć możliwe jest takie dostosowanie układu regulacji, aby zminimalizować ten efekt, dostrojenie regulatorów w taki sposób, aby minimalizować hipoglikemię wywołaną wysiłkiem, odbywałoby się kosztem znacznego pogorszenia skuteczności w radzeniu sobie ze stanami hiperglikemii.

Jak pokazały wyniki uzyskane dla dwóch scenariuszy obejmujących wysiłek fizyczny, obserwuje się znaczący wzrost liczby i czasu trwania epizodów hipoglikemii, nawet przy podniesionej wartości zadanej. Stanowi to uzasadnienie potrzeby wprowadzenia dodatkowego elementu w strukturze regulatora. Różnice w wynikach uzyskane dla obu scenariuszy z wysiłkiem, będące wynikiem różnic w samych parametrach wysiłków, wskazały również na potencjał modyfikacji dających regulatorowi informacje o niektórych aspektach wysiłku. Nie tylko intensywność wysiłku wpływa bowiem na nasilenie incydentów hipoglikemii, ale również to, czy istnieje związek pomiędzy intensywnością wysiłku a posiłkiem go poprzedzającym. Dostarczając regulatorowi takiej dodatkowej informacji,

można by istotnie poprawić jego działanie.

2.5.2 Wykorzystanie zaawansowanej struktury sterowania

Wyniki zebrane dla standardowego sprzężenia zwrotnego wskazały na konieczność wprowadzenia modyfikacji w celu uniknięcia hipoglikemii w momencie wstąpienia wysiłku. Zakładając, że intensywny wysiłek fizyczny jest czynnością planowaną, możliwym jest podanie z wyprzedzeniem informacji o planowanym czasie i szacunkowej intensywności wysiłku. Dane te mogą zostać wykorzystane do zbudowania układu typu feedback-feedforward, modyfikującego wartość sterowania wyznaczaną przez regulator na podstawie informacji o planowanym wysiłku. Tak zbudowany układ regulacji (przedstawiony dokładnie w 2.2.3) został porównany ze standardowym sprzężeniem zwrotnym w tych samych scenariuszach testowych.

Jak należało się spodziewać, zmniejszenie ilości podawanej insuliny przed wysiłkiem spowodowało wydłużenie czasów hiperglikemii oraz zmniejszenie sumarycznej dawki podawanej insuliny. Równocześnie znacznej redukcji uległa liczba epizodów hipoglikemii. Choć w żadnym przypadku nie udało się ich całkowicie wyeliminować, to dla regulatora PID udało się osiągnąć częstość występowania epizodów mniejszą niż 1 na 10 symulacji dla obu scenariuszy (przy ograniczonym wyjściu). Układ ze sprzężeniem w przód wykorzystujący algorytm MPC nie osiągnął tak dobrego wyniku, głównie z uwagi na bardzo dużą liczbę epizodów występujących w podstawowej strukturze. Niemniej i w tym przypadku wprowadzona modyfikacja zmniejszyła liczbę epizodów o kilkadziesiąt w całym zestawie symulacji.

Co ciekawe, zmniejszenie liczby epizodów nie pociągnęło zmian w charakterze rozkładu czasu hipoglikemii. Na histogramach obserwuje się jedynie zmniejszenie wartości liczby wystąpień, lecz nie widać przesunięcia w kierunku krótszych czasów.

W przypadku regulatora MPC bez ograniczenia proponowana postać korektora nie przyniosła efektu, gdyż regulator potrafił skompensować ograniczające działanie sprzężenia w przód. Niemniej jednak, regulator MPC bez ograniczenia, z uwagi na liczby epizodów hipoglikemii, stanowi i tak najgorsze rozwiązanie spośród analizowanych.

Kluczowym ograniczeniem proponowanej postaci sprzężenia w przód jest konieczność ręcznego wprowadzenia przez pacjenta planów co do wysiłku fizycznego, gdyż bez właściwych danych proponowany korektor nie zadziała odpowiednio. Nie zmienia to

natomiast przydatności samej struktury sterowania, niezależnie od postaci korektora, czy sygnału sprzężenia. Modyfikacja działania regulatora bazująca na dodatkowym sygnale, nie przechodzącym przez główne sprzężenie zwrotne, pozwala na odpowiednio szybkość, a zarazem celowaną odpowiedź układu sterowania na konkretne zakłócenie.

2.5.3 Ograniczenie wartości sterowania

Analizując przypadek ograniczania maksymalnej wartości sygnału wyjściowego regulatora w świetle wyników przedstawionych w 2.4.2 i 2.4.3, wydaje się, że jest to cecha wymagana przynajmniej w algorytmie MPC. Choć bez tego ograniczenia skuteczność algorytmu w radzeniu sobie z hiperglikemią jest istotnie lepsza (co widać m. in. na Rysunku 2.18), należy wskazać dwa istotne mankamenty.

Po pierwsze, jest to ryzyko związane z podawaniem tak dużych dawek insuliny. Choć w żadnym z przeprowadzonych testów nie doszło do sytuacji, w której większość symulacji wskazywałaby na przekroczenie maksymalnej dziennej dawki, pamiętać należy o tym, że terapia z wykorzystaniem pompy insulinowej (czy też sztucznej trzustki) jest terapią długotrwałą. Oznacza to, że wartości sumarycznej dziennej dawki osiągane w symulacjach byłyby podawane codziennie przez wiele lat. Poza ryzykiem medycznym takiej sytuacji, oznaczałoby to również dodatkowe koszty dla pacjenta, które wcale nie gwarantują lepszego działania układu regulacji, na co wskazały wyniki dla scenariuszy z wysiłkiem.

Po drugie, jest to – wyraźnie widoczne w wynikach dla scenariuszy z wysiłkiem w 2.4.2 i 2.4.3 – pogorszenie działania w kontekście stanów hipoglikemii przy braku ograniczenia wartości sygnału sterującego. W przypadku MPC widoczne są bardzo duże spadki w liczbie i czasie trwania epizodów hipoglikemii po wprowadzeniu ograniczenia (nawet kilkunastokrotne, jak widać w Tabeli 2.8).

Należy w tym miejscu wspomnieć o jeszcze jednej kwestii: wyniki symulacji sugerują, że przyjęta wartość ograniczenia mogła być zbyt konserwatywna. W szczególności dla struktury ze sprzężeniem w przód dobowe wartości użytej insuliny są znacznie poniżej dawki maksymalnej (np. Rysunek 2.13, czy Rysunek 2.22). Nie zmieni to jednak w sposób jakościowy wyników oraz wyciągniętych na ich podstawie wniosków.

2.5.4 Inne modyfikacje układu sterowania

Poza analizowanym w niniejszym rozdziale wprowadzeniem sprzężenia w przód, które stanowi modyfikację struktury układu sterowania, możliwe są ingerencje na poziomie samego regulatora. Te same informacje, które można dostarczyć do korektora sprzężenia w przód, mogą zostać dostarczone do algorytmu regulacji bezpośrednio. Aby jednak takie podejście różniło się od omawianego w rozdziale, algorytm regulacji musiałby zostać indywidualnie przygotowany, podczas gdy proponowane rozwiązanie pozwala skorzystać z istniejących i sprawdzonych algorytmów oraz metod.

Metodą radzenia sobie z hipoglikemią powodowaną wysiłkiem fizycznym może być również wprowadzenie dodatkowej substancji (jak np. glukagon) pozwalającej podnieść poziom glukozy we krwi [97, 250, 106]. W przeciwieństwie do układów wykorzystujących jedynie insulinę, są one w stanie zapobiec hipoglikemii lub skrócić czas jej trwania w sposób aktywny. Jednakże wprowadzenie drugiego sygnału sterującego o przeciwnym działaniu powoduje ryzyko wywołania oscylacji w sterowanym obiekcie. Odpowiednie nastrojenie algorytmu regulacji staje się w efekcie trudniejsze. Problem ten jest obecnie rozważany zarówno w warunkach symulacyjnych [229], jak i w zastosowaniach klinicznych [230, 27].

W przypadku MPC nie jest niezbędna ingerencja w strukturę algorytmu, jedynie odpowiednie zbudowanie funkcji celu. Dla algorytmu PID sprawa nie jest taka oczywista. Istnieją oczywiście wielowymiarowe wersje regulatora PID, wraz z zaawansowanymi metodami strojenia [163, 243, 246], jednakże ich zastosowanie nie jest w żadnym razie tak powszechne jak algorytmu jednowymiarowego. Można też rozważyć wykorzystanie metody sterowania z podziałem zakresu (ang. *split-range control*), jednak wtedy problemem jest dobranie odpowiednich nastaw dla poszczególnych zakresów, a także zadbanie o odpowiednie zachowanie w okolicy wartości zadanej (minimalizacja oscylacji). Przykładowa implementacja wraz z wynikami numerycznymi dla układu symulacyjnego jak w niniejszym rozdziale została opublikowana przez autora w [273].

Istnieje także wiele dodatkowych czynników, które mogą w istotny sposób wpływać na działanie układu regulacji, lecz nie zostały uwzględnione w niniejszym opracowaniu. Spośród nich szczególnie ważnym jest obecność różnego rodzaju zakłóceń i szumów w urządzeniach pomiarowych, które będą miały bezpośredni wpływ na działanie regulatora. Jednym z nich są standardowe źródła szumu w urządzeniach pomiarowych. Analiza

w układzie symulacyjnym podobnym do opisanego, dla takiego źródła szumu została opublikowana w [254]. Poza tym, ważna wydaje się kwestia tworzenia się zakrzepów wokół czujnika pomiarowego, które będą zakłócać pomiar poziomu glukozy we krwi. Zjawisko to opisano m. in. w [130], pokazując, że wpływ zakrzepów rośnie w czasie, prowadząc, w przypadku braku przeciwdziałania, do całkowitej utraty funkcjonalności przez czujnik. W [129] opisano możliwe mechanizmy prowadzące do powstawania zakrzepów uniemożliwiających pracę sensora glukozy w badaniach *in vivo*, pokazując możliwość farmakologicznego przeciwdziałania temu zjawisku, co potwierdza również [241].

Rozdział 3

Poziom populacji komórkowych

3.1 Wprowadzenie

Poziom populacji komórkowych odnosi się do skali opisu, w której przedmiotem analizy jest zbiorowość komórek traktowana jako układ dynamiczny, a nie pojedyncze komórki czy ich wewnętrzne mechanizmy. Ujęcie to pozwala na badanie zjawisk wynikających z działania całej populacji – takich jak wzrost, różnicowanie, migracja, współpraca lub konkurencja między subpopulacjami – oraz ich zależności od warunków środowiskowych czy innych oddziaływań zewnętrznych (jak np. terapia). Dopiero na tym tle można rozważać konkretne przypadki biologiczne; jednym z nich jest rozwój nowotworów, a w szczególności wzrost guzów litych, który stanowi typowy przykład procesu zachodzącego w tej skali. W niniejszym rozdziale przeprowadziłem analizę dla tego właśnie przykładu. Warto podkreślić, że określenie „populacyjny” odnosić się może nie tylko do komórek w obrębie pojedynczego organizmu, ale również – w szerszym sensie – do populacji pacjentów, w której porównywanie przebiegów choroby i odpowiedzi na leczenie umożliwia identyfikację uogólnionych wzorców dynamiki nowotworów.

Diagnostyka i leczenie nowotworów

Rozpocząć należy od zdefiniowania zagadnienia, jakim jest choroba nowotworowa. Nowotwory (łac. *neoplasmata*) to grupa chorób charakteryzujących się niekontrolowaną proliferacją komórek, prowadzącą do zaburzenia homeostazy tkankowej oraz potencjalnie do naciekania i destrukcji sąsiednich struktur [90]. Stanowią one drugą najczęstszą

przyczynę zgonów na świecie [152, 221], a jako problem zdrowia publicznego charakteryzują się wykrywalnością w zaawansowanym stadium, gdy możliwości leczenia są ograniczone, a rokowanie niepomyślne [49].

Diagnostyka nowotworów standardowo opiera się na kilku grupach metod. Są to w pierwszej kolejności podstawowe badania krwi (morfologia krwi, poziom kreatyniny, poziom elektrolitów, próby wątrobowe), uzupełnione o markery nowotworowe [86, 253]. Następnie wykorzystywane są metody obrazowe, takie jak zdjęcie rentgenowskie, tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, PET czy ultrasonografia, pozwalające na określenie miejsca występowania guza oraz najlepszej lokalizacji do przeprowadzenia biopsji. Powinny być one dobierane pod kątem jak najmniejszego obciążenia dla pacjenta (np. w postaci dawki promieniowania), a decyzja o bardziej agresywnych badaniach powinna opierać się na wynikach poprzedzających badań [26]. Trzecim badaniem, wykorzystywanym do ostatecznego potwierdzenia nowotworu oraz określenia jego specyfiki, jest biopsja [152]. Jest to badanie inwazyjne, które dodatkowo charakteryzuje się pewnymi ograniczeniami. Przede wszystkim, jako że próbka pobierana jest z jednego miejsca guza, nie jest możliwe uwzględnienie heterogeniczności nowotworu [86]. Dodatkowo, pobranie próbki może być utrudnione, a sama procedura jest zbyt obciążająca, aby mogła zostać wykorzystana do bieżącego monitorowania rozwoju nowotworu [240]. Rozwijaną intensywnie alternatywą jest tzw. płynna biopsja, opierająca się na kompleksowej analizie płynów pochodzących z ciała pacjenta, takich jak: krew, mocz, ślina, płyn mózgowo-rdzeniowy i szpik kostny [7]. Procedura ta, w porównaniu do tradycyjnej biopsji, cechuje się m. in. zmniejszoną inwazyjnością czy łatwiejszym dostępem do próbek, pozwalając na częstsze jej wykonywanie, a w efekcie skuteczniejsze monitorowanie rozwoju nowotworu [58, 148].

Klasyczne podejścia terapeutyczne obejmują chirurgię, radioterapię oraz chemioterapię, a także ich kombinacje [142]. Również immunoterapia staje się standardową opcją terapeutyczną w coraz większej grupie nowotworów [62]. Choć są one nakierowane na wyeliminowanie nowotworu, a dobór jest uzależniony od pacjenta, nie stanowią one spersonalizowanego podejścia do leczenia [235].

Nowotwory mogą, lecz nie muszą, tworzyć guzy lite (mięsaki, raki czy chłoniaki), czyli zgodnie z definicją National Cancer Institute, nieprawidłową masę tkanki, która zazwyczaj nie zawiera torbieli ani obszarów płynnych [172]. Występowanie guzów litych warunkuje możliwość zastosowania części procedur terapeutycznych, jak np. interwen-

cji chirurgicznej [202].

Modelowanie wzrostu nowotworów

Modelowanie matematyczne wzrostu nowotworów jest przedmiotem intensywnych badań od wielu lat, a jego celem jest wspieranie badań klinicznych [224, 204]. Jednym z głównych wyzwań w tym obszarze – a zarazem jednym z istotnych czynników złego rokowania w wielu typach nowotworów – jest proces tworzenia ognisk przerzutowych [190]. Uwzględnienie działań terapeutycznych w modelach rozwoju przerzutów powinno umożliwiać przewidywanie skuteczności różnych strategii leczenia [213]. Dodatkowymi korzyściami, jakie niesie za sobą rozwój takich modeli, są m.in. identyfikacja grup docelowych do badań przesiewowych, ustalanie ich optymalnej częstości oraz ocena ryzyka w populacji [231, 232, 260].

Modele matematyczne wzrostu nowotworów można podzielić ze względu na podejście zastosowane przy formułowaniu równań opisujących dynamikę choroby. Do głównych klas należą: modele oparte na zwyczajnych równaniach różniczkowych – opisujące zmiany masy guza lub liczby komórek nowotworowych w czasie; modele wykorzystujące cząstkowe równania różniczkowe – uwzględniające nie tylko zależności czasowe, lecz również przestrzenne aspekty wzrostu nowotworu (lub rozkład parametrów w przestrzeni); oraz modele agentowe (ang. *agent-based modeling*), w których zachowanie całego systemu wynika z interakcji pojedynczych jednostek (agentów).

Wraz z rosnącą liczbą dostępnych opcji terapeutycznych, wybór odpowiedniej metody leczenia oraz jej parametrów staje się coraz bardziej złożonym zagadnieniem. Decyzja terapeutyczna powinna być oparta na ogólnym stanie pacjenta, zaawansowaniu choroby oraz obecności biomarkerów prognostycznych, które – w założeniu – umożliwią przewidzenie skuteczności konkretnego schematu leczenia. Ponieważ zdecydowana większość zgonów związanych z guzami litymi wynika z obecności przerzutów [56], oszacowanie ryzyka ich wystąpienia powinno stanowić jeden z kluczowych czynników uwzględnianych przy planowaniu terapii. W związku z tym duży nacisk kładzie się na poszukiwanie biomarkerów specyficznych dla procesu przerzutowania w zależności od typu guza pierwotnego (np. dla raka płuca [36, 252]).

Równolegle rozwijane są nowe modele matematyczne oraz narzędzia obliczeniowe, których celem jest wyjaśnienie obserwowanych zjawisk biologicznych [79, 78] lub umoż-

liwienie porównań alternatywnych strategii leczenia w warunkach *in silico*. Choć przez długi czas podejście modelowe budziło sceptycyzm w środowisku klinicznym, rosnąca liczba udanych zastosowań praktycznych przyczynia się do zmiany tego nastawienia. Przykładowo, w pracy [13] zaproponowano niestandardowy schemat dawkowania chemioterapii w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca (ang. *non-small-cell lung cancer* - NSCLC), który w kolejnych badaniach klinicznych wykazał wyższą skuteczność niż klasyczne protokoły [15]. Inne badania potwierdzały, że powszechnie stosowane schematy dawkowania prowadzą do stabilizacji guza [51], wyjaśniały zjawiska oporności na leki [50] czy powstawania przerzutów [196]. Modelowanie było także wykorzystywane do oszacowania maksymalnie tolerowanej dawki oraz wyznaczenia okna terapeutycznego, w którym objętość guza utrzymywana jest poniżej przyjętego progu przy jednoczesnej minimalizacji skutków ubocznych dla zdrowych tkanek [161].

Modelowanie matematyczne wzrostu nowotworów i odpowiedzi na leczenie stanowi obecnie użyteczne narzędzie do prowadzenia symulowanych prób klinicznych *in silico* [114]. Z jednej strony, umożliwia ono bezpieczne porównywanie skuteczności różnych strategii leczenia w heterogenicznej populacji pacjentów [48]. Tego typu podejście ukierunkowane jest na opracowanie standardowego protokołu postępowania w sytuacjach, gdy personalizacja leczenia nie jest możliwa. Z drugiej strony, gdy parametry modelu oszacowane zostaną dla konkretnego pacjenta, symulacje *in silico* mogą służyć jako podstawa dla opracowania indywidualnie dostosowanej terapii [236]. W niniejszej pracy przyjęto podejście populacyjne, w którym krzywe przeżycia służą jako główny wskaźnik efektywności analizowanych modeli.

W przeciwieństwie do modelu probabilistycznego bez dynamiki, zaprezentowanego w [228], w niniejszym rozdziale zastosowano opis wzrostu nowotworu oparty na równaniach różniczkowych zwyczajnych. Spośród wielu uznanych modeli wzrostu guza (por. [224, 101]) wybrano model Gompertza, który jest powszechnie akceptowany w zastosowaniach klinicznych. Prostsze modele wzrostu wykładniczego, czasami wykorzystywane w opisie guzów pierwotnych i przerzutowych [174, 239], nie zostały wdrożone ze względu na ich nierealistyczne przewidywania w przypadku dużych objętości nowotworu. Podobnie jak w [239], populację wirtualnych pacjentów podzielono na grupy w zależności od rozmiaru guza w momencie rozpoznania. Analiza przeżycia została przeprowadzona przy pomocy krzywych Kaplana-Meiera, które obrazują czas wolny od przerzutów oraz całkowite przeżycie.

Planowanie terapii jako problem sterowania w pętli otwartej

Leczenie nowotworu, rozumiane jako redukcja liczby komórek nowotworowych do pożądanego poziomu, może być traktowane jako zadanie sterowania. Wiele prac poświęconych zostało określeniu optymalnej postaci sterowania dla różnych terapii ([3, 64, 54, 222]), różnych modeli rozwoju choroby ([63, 225, 248]), czy różnych założeń dotyczących samego sterowania ([137, 139, 138]).

Celem terapii jest utrzymanie liczby komórek nowotworowych poniżej pewnego poziomu. Możliwość określenia wartości zmiennej, do której powinien dążyć układ, w teorii pozwalałaby na określenie różnicy między aktualną a pożądaną wartością - uchybu regulacji. Na bazie uchybu regulacji można wyznaczyć wartość sterowania i zrealizować klasyczne sterowanie w pętli zamkniętej. Jednakże w kontekście nowotworu oraz standardowych metod leczenia pojawiają się przeszkody uniemożliwiające realizację takiego schematu sterowania.

Najistotniejszą kwestią, wynikającą wprost z aktualnych możliwości diagnostycznych, jest problem częstotliwości próbkowania takiego teoretycznego układu sterowania. Monitorowanie liczby komórek nowotworowych w sposób ciągły jest niemożliwe. Obecnie rozmiar guza najczęściej określa się na podstawie badań obrazowych (np. PET), które z samej swojej natury są pomiarem dyskretnym, tym bardziej jeżeli uwzględnić konieczność przeprowadzania badania w specjalnym pomieszczeniu, różnym od normalnej sali szpitalnej. Co więcej, w większości przypadków wymagają one poddania pacjenta działaniu promieniowania, co ogranicza istotnie maksymalną częstotliwość, z jaką można dane badanie przeprowadzać. Aby zapewnić poprawne działanie układu sterowania w pętli zamkniętej, niezbędne jest, aby częstotliwość, z jaką dostępne są nowe wartości uchybu, nie była zbyt mała. W przeciwnym przypadku działanie układu sterowania może być niepożądane, a nawet dojść może do jego destabilizacji.

3.2 Model rozwoju nowotworu

Analizę populacji komórek nowotworowych postanowiono przeprowadzić w oparciu o model rozwoju nowotworu litego, z uwzględnieniem pojedynczego miejsca przerzutowania. W modelu uwzględniono również standardowe metody leczenia - chemioterapię i radioterapię. Jest to model kompartmentalny, oparty o równania różniczkowe

zwyczajne. Kompartiment przerzutowy reprezentuje sobą w sposób uproszczony sumę wszystkich możliwych miejsc przerzutowania. Choć jest to daleko idące uproszczenie, znacząco redukuje ono stopień złożoności modelu. Minimalizuje również problemy wynikające z konieczności określenia, które miejsce jest zasiedlane oraz wyznaczenia parametrów dla każdego z możliwych miejsc przerzutowania. Jest ono jednak uzasadnione, gdyż jak pokazano w 3.2.1 (i zarazem w [255]) model z jednym kompartimentem jest w stanie na zadanym horyzoncie uzyskać wyniki zbliżone do modelu o nieskończenie wielu miejscach przerzutowania, opartego o równania różniczkowe cząstkowe.

3.2.1 Porównanie modelu kompartmentalnego z modelem opartym o równania różniczkowe cząstkowe

Zmniejszenie złożoności modelu oraz ograniczenie liczby nieznanymi parametrów, których wartości należy estymować, niewątpliwie są argumentami przemawiającymi na korzyść wykorzystania modeli opartych na równaniach różniczkowych zwyczajnych (ODE - ang. *ordinary differential equations*) w miejsce modeli opartych na równaniach różniczkowych cząstkowych (PDE - ang. *partial differential equations*). Jednakże nadrzędnym celem modelowania jest odwzorowanie rzeczywistości, nie można więc poświęcić tego aspektu na rzecz wygody modelowania i analizy.

Aby uzasadnić, że możliwym jest wykorzystanie prostego modelu kompartmentalnego bez znaczącego obniżenia jakości modelu, przeprowadzono analizę oraz serię porównań modelu PDE zaproponowanego przez Iwatę i współautorów [113] z prostym modelem ODE.

Wybór typu wzrostu guza w modelu ODE został podyktowany założeniami modelu Iwaty. Zdecydowano się na zachowanie wzrostu gompertzowskiego dla obu modeli w celu umożliwienia porównania. Ponadto, model kolonizacji w obu przypadkach przyjęto zgodnie z modelem Iwaty, tak aby jedynie różnice w strukturze modeli wpływały na wyniki porównania.

Model oparty o PDE

Model zaproponowany w pracy [113] został opracowany w celu przewidywania liczby guzów przerzutowych, z uwzględnieniem faktu, że komórki nowotworowe mogą kolo-

nizować wiele miejsc w organizmie [25]. Główne założenia modelu są następujące: zarówno guz pierwotny, jak i guzy przerzutowe rosną zgodnie z tą samą funkcją wzrostu $g(x)$ oraz emitują pojedyncze komórki nowotworowe z częstością $\beta(x)$. Emitowane komórki mogą następnie kolonizować nowe miejsca.

Model operuje zmienną określaną jako rozkład wielkości kolonii – $\rho(x, t)$. Zmiany tej funkcji w czasie opisuje następujące równanie różniczkowe cząstkowe:

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} + \frac{\partial g(x)\rho(x, t)}{\partial x} = 0 \quad (3.1)$$

Funkcja wzrostu $g(x)$ przyjmuje postać wzrostu Gompertza:

$$g(x) = ax \ln \left(\frac{b}{x} \right) \quad (3.2)$$

gdzie x oznacza liczbę komórek, a jest parametrem tempa wzrostu, natomiast b oznacza pojemność środowiska.

Warunki początkowe i brzegowe dla Równania 3.1 zdefiniowano następująco:

$$\rho(0, x) = 0 \quad (3.3)$$

$$g(1)\rho(1, t) = \int_1^\infty \beta(x)\rho(x, t)dx + \beta(x_p(t)) \quad (3.4)$$

Równanie 3.4 wskazuje, że nowa lokalizacja przerzutowa zostaje utworzona, gdy pojedyncza komórka, wyemitowana przez istniejący guz, skutecznie skolonizuje odległe miejsce.

Jednym z głównych założeń modelu jest to, że każda kolonizacja prowadzi do powstania nowego ogniska przerzutowego oraz że emisja komórek zachodzi zarówno z guza pierwotnego, jak i z guzów wtórnych. Częstość emisji $\beta(x)$, powiązana z unaczynieniem guza, ma postać:

$$\beta(x) = mx^\alpha \quad (3.5)$$

Wzrost guza pierwotnego $x_p(t)$ opisany jest prostym równaniem różniczkowym pierwszego rzędu:

$$\frac{dx_p}{dt} = g(x_p(t)), \quad x_p(0) = x_0 \quad (3.6)$$

Równanie (3.6) definiowane jest dla dowolnej początkowej wielkości guza pierwotnego, jak np. w [14, 21].

Prosty model kompartmentalny

Model oparty na równaniach różniczkowych zwyczajnych wykorzystuje uproszczoną wersję równania zaproponowanego w [213] do opisu wzrostu guza przerzutowego:

$$\frac{dx_m}{dt} = g(x_m(t)) + \beta(x_p(t)), \quad x_m(0) = 0 \quad (3.7)$$

Liczba komórek przerzutowych oznaczona jest jako x_m . Zarówno funkcja β , jak i $x_p(t)$ są zdefiniowane tak samo jak w Równaniach 3.5 i 3.6. Można zauważyć, że pierwsza część prawej strony Równania 3.7 odpowiada funkcji $g(x)$ z Równania 3.2.

Całkowita liczba komórek przerzutowych – podejście analityczne

Aby było możliwe porównanie obu przedstawionych modeli, należy określić liczbę komórek nowotworowych lub objętość guza w każdym przypadku. Oba modele mogą być analizowane zarówno pod kątem liczby komórek, jak i objętości, przy założeniu stałej gęstości komórek nowotworowych. Ponieważ model Iwaty opisany jest oryginalnie w odniesieniu do liczby komórek, takie podejście przyjęto również dla drugiego modelu.

Pomimo że oba modele są ciągłe, a ich rozwiązania przyjmują wartości rzeczywiste, użycie pojęcia liczby komórek stanowi uzasadnione przybliżenie, zważywszy, że analiza dotyczy liczności rzędu co najmniej dziesiątek tysięcy komórek. W odniesieniu do rozwiązań dla małych wartości czasu wykorzystanie wartości rzeczywistych stanowi przydatne narzędzie modelowe, choć wymaga dodatkowej ostrożności w interpretacji. Jednakże w niniejszej analizie rozważane są wyłącznie dłuższe horyzonty czasowe, dlatego zagadnienie to nie ma istotnego wpływu.

Wyrażenie $\rho(x, t)dx$ oznacza w modelu PDE liczbę guzów przerzutowych o rozmiarach z przedziału od x do $x + dx$. Ponieważ x oznacza liczbę komórek, całkowitą liczbę komórek w guzach przerzutowych można obliczyć, wykonując całkowanie:

$$x_m(t) = \int_1^\infty x\rho(x, t)dx \quad (3.8)$$

Uwzględniając fakt, że wzrost guzów przerzutowych opisany jest krzywą Gomperta,

całkowanie można ograniczyć do skończonego przedziału, wyznaczonego przez parametr pojemności środowiska b :

$$x_m(t) = \int_1^b x \rho(x, t) dx \quad (3.9)$$

Dalsza analiza Równania 3.9 w tej postaci wymaga wyznaczenia funkcji $\rho(x, t)$. Takie rozwiązanie dla szczególnego warunku początkowego zostało zaproponowane w pierwotnej pracy razem z modelem. Dodatkowe informacje można jednak uzyskać, analizując nie samą wartość całkowitą liczby komórek przerzutowych, lecz jej zmiany w czasie. Obliczając pochodną czasową Równania 3.9 otrzymujemy:

$$\frac{dx_m}{dt} = \frac{d}{dt} \int_1^b x \rho(x, t) dx \quad (3.10)$$

Ponieważ jedynym członem zależnym od czasu jest rozkład wielkości kolonii, można zapisać równanie w postaci:

$$\frac{dx_m}{dt} = \int_1^b x \frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} dx \quad (3.11)$$

W dalszej kolejności można skorzystać z równania definiującego model (Równanie 3.1), podstawiając pochodną cząstkową względem czasu pochodną względem liczby komórek:

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = - \frac{\partial g(x) \rho(x, t)}{\partial x} \quad (3.12)$$

$$\frac{dx_m}{dt} = - \int_1^b x \frac{\partial g(x) \rho(x, t)}{\partial x} dx \quad (3.13)$$

Warto zauważyć, że każdy dodatkowy czynnik – np. związany z działaniem chemioterapii lub radioterapii – pojawiłby się w równaniu jako dodatkowy składnik dodany do wyrażenia $\frac{\partial g(x) \rho(x, t)}{\partial x}$.

Wykonując całkowanie przez części, otrzymujemy:

$$\frac{dx_m}{dt} = -xg(x)\rho(x, t) \Big|_1^b + \int_1^b 1^b g(x) \rho(x, t) dx \quad (3.14)$$

$$\frac{dx_m}{dt} = -bg(b)\rho(b, t) + g(1)\rho(1, t) + \int_1^b g(x) \rho(x, t) dx \quad (3.15)$$

Funkcja wzrostu została zdefiniowana jako krzywa Gompertza, zatem wyrażenie $g(b)$, przy b będącym pojemnością środowiska, wynosi 0. Dodatkowo wyrażenie $g(1)\rho(1, t)$ stanowi warunek brzegowy zagadnienia, dlatego można w jego miejsce podstawić postać z Równania 3.4:

$$\frac{dx_m}{dt} = \int_1^b g(x)\rho(x, t)dx + \int_1^b \beta(x)\rho(x, t)dx + \beta(x_p) \quad (3.16)$$

Wyrażenie jawne dla zmiennej x_p , jako rozwiązania Równania 3.6, można łatwo wyznaczyć. Dla warunku początkowego x_0 przyjmuje ono postać:

$$x_p(t) = x_0 \left(\frac{b}{x_0} \right)^{(1-e^{-at})} \quad (3.17)$$

Uwzględniając funkcję kolonizacji zdefiniowaną w Równaniu 3.5, ostateczna postać równania opisującego wzrost całkowitej liczby komórek przerzutowych w analizowanym modelu jest następująca:

$$\frac{dx_m}{dt} = \int_1^b (\beta(x) + g(x))\rho(x, t)dx + mx_0^\alpha \left(\frac{b}{x_0} \right)^{\alpha(1-e^{-at})} \quad (3.18)$$

Zarówno model dany Równaniem 3.18, jak i Równanie 3.7, zawierają składniki o podobnej interpretacji. Po pierwsze, jest to wyrażenie wiążące wzrost przerzutów z wielkością guza pierwotnego. Przy założeniu identycznego współczynnika kolonizacji w obu modelach, ten składnik będzie taki sam. Po drugie, analizując całkowitą część prawej strony Równania 3.18, można zauważyć, że $g(x)\rho(x, t)$ opisuje wzrost istniejących guzów przerzutowych. Uwzględniając fakt, że model Iwaty opisuje wiele ognisk przerzutowych, a model kompartmentalny – pojedynczy przerzut, oba te opisy są zasadniczo porównywalne. Najistotniejszą różnicą między wyrażeniem w Równaniu 3.18 a wyrażeniem w Równaniu 3.7 jest obecność migracji komórek z guzów przerzutowych w modelu Iwaty, której nie uwzględnia model kompartmentalny.

Całkowita liczba komórek przerzutowych – symulacje

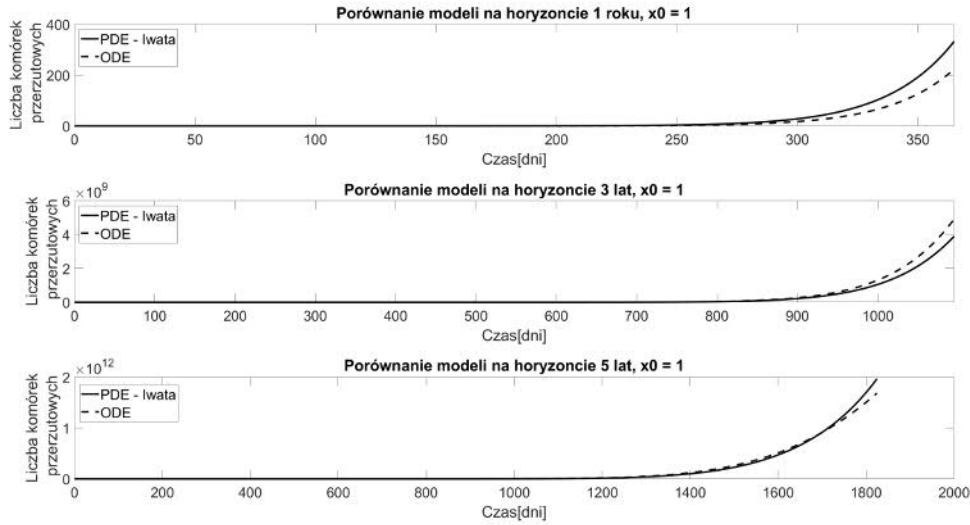
Zaobserwowane podobieństwo w wyrażeniach na przyrost liczby komórek guza wtórnego między oboma modelami sugeruje, że uzyskanie porównywalnych wyników na za-

danym horyzoncie jest możliwe. Model Iwaty zakłada, że chociaż wzrost pojedynczego guza przerzutowego jest ograniczony przez pojemność środowiska, to jednak łączna liczba możliwych ognisk przerzutowych nie podlega ograniczeniom. Uwzględniając to założenie w odniesieniu do modelu kompartmentalnego, pojemność środowiska dla kompartmentu przerzutowego może zostać dostosowana w taki sposób, aby umożliwić wzrost pojedynczego guza przerzutowego ponad maksymalny rozmiar zdefiniowany w modelu Iwaty. Co więcej, w tym modelu poszczególne lokalizacje przerzutowe rosną niezależnie. Może to sugerować, że również tempo wzrostu w modelu kompartmentalnym można odpowiednio dostosować, aby jego dynamika lepiej odzwierciedlała zachowanie modelu Iwaty. Aby to zweryfikować, przeprowadzono testy symulacyjne, w których modyfikując wartości obu wspomnianych parametrów sprawdzono zachowanie obu modeli w horyzoncie czasowym 1 roku, 3 lat i 5 lat. Sama symulacja dla modelu opartego o PDE została przeprowadzona zgodnie z procedurą zaproponowaną w [14].

Wpływ na zachowanie modeli ma oczywiście warunek początkowy. Oryginalny model Iwaty zakładał wzrost nowotworu od jednej komórki i taki też warunek początkowy został wybrany do próby znalezienia parametrów modelu ODE dających wyniki zbliżone do modelu PDE. Wyniki jednej z prób, uzyskanej dzięki zwiększeniu pojemności środowiska 500-krotnie i zmniejszeniu tempa wzrostu 0.51 raza w modelu ODE względem modelu Iwaty, przedstawia Rysunek 3.1.

Widać na nim, że osiągnięto założony cel. Liczby komórek przerzutowych w obu modelach są zbliżone dla całego badanego horyzontu. Można zaobserwować, że dla 5-letniego czasu symulacji wyniki modeli zaczynają się rozbiegać. Biorąc jednak pod uwagę liczbę komórek, przy której do tego dochodzi, należy stwierdzić, że nie stanowi to problemu w rozważanej sytuacji, gdyż są to rozmiary guza przekraczające próg oznaczający śmierć pacjenta (omówiony dokładniej w 3.2.3).

Wykazano więc, że model prostszy, oparty o ODE, jest w stanie osiągnąć wyniki porównywalne z modelem PDE dzięki odpowiedniej modyfikacji wartości parametrów. Jest to możliwe dzięki ograniczeniu na maksymalny, interesujący nas rozmiar guza, związanemu ze śmiercią pacjenta. Pozwala to w dalszej części rozdziału rozważać model zbudowany właśnie w oparciu o ODE i korzystać z płynących z tego zalet.



Rysunek 3.1: Porównanie liczby komórek przerzutowych po 1 roku, 3 latach i 5 latach w badanych modelach.

3.2.2 Równania modelu docelowego

Głównym elementem modelu są równania określające liczbę komórek nowotworowych w każdym z kompartmentów, reprezentujących sobą guz pierwotny oraz przerzut. Dodatkowym elementem modelu jest uwzględnienie sekwencji zdarzeń prowadzących do powstania odległej kolonii komórek nowotworowych, jako przełącznika zależnego od rozmiaru guza pierwotnego oraz opóźnienia [213].

Przed wystąpieniem metastazy model guza składa się z jednego równania (Równanie 3.19), opisującego dynamikę guza pierwotnego poddanego działaniu chemioterapii i/lub radioterapii.

$$\frac{dN_0(t)}{dt} = -\rho_0 N_0(t) \log\left(\frac{N_0(t)}{K_0}\right) - \gamma_0 \nu(t) N_0(t) - (\alpha d(t) + \beta d(t)^2) N_0(t) \quad (3.19)$$

Równanie jest prawdziwe jedynie dla $N_0(t) > 0$, lecz założenie to jest zawsze spełnione, gdyż warunek początkowy jest w każdym przypadku ściśle dodatni. Wzrost guza oparty jest o model Gompertza, gdzie ρ_0 oznacza tempo wzrostu, a K_0 pojemność środowiska. Terapia jest modelowana przy użyciu modelu liniowo-kwadratowego dla radioterapii

[69] (dawka promieniowania określona jako $d(t)$, z parametrami czułości na promieniowanie α i β) oraz w oparciu o model Skippera (*log-kill*) dla chemioterapii [211] (stężenie chemoterapeutyku dane jako $\nu(t)$, wrażliwość komórek dana jako γ_0). Dodatkowo farmakokinetyka leku została uwzględniona w formie inercji pierwszego rzędu, jak przedstawia Równanie 3.20.

$$\frac{d\nu(t)}{dt} = \nu_{in} - \lambda\nu(t), \nu(0) = 0. \quad (3.20)$$

Tutaj ν_{in} oznacza dostarczaną dawkę leku, λ z kolei jest czasem połowicznego zaniku dla danej substancji.

W momencie kiedy guz pierwotny osiągnie pewien zadany próg (Równanie 3.21), rozpoczyna się proces przerzutowania.

$$N_0(t) > N_{threshold}, \quad (3.21)$$

W równaniu 3.21, próg rozpoczęcia przerzutowania - $N_{threshold}$ - jest jednym z parametrów modelu, którego dobór i rozkład bardzo silnie wpływają na zachowanie dla kohorty. Po spełnieniu tego warunku następuje przełączenie struktury modelu do postaci z dwoma kompartmentami. Zmiana ta objawia się przede wszystkim w uwzględnieniu drugiego równania różniczkowego określającego liczebność komórek metastatycznych. Dodatkowo człon związany z przepływem komórek między kompartmentami musi zostać dodany do równania 3.19 opisującego rozwój guza pierwotnego. Człon ten - oznaczony jako $g(t)$ - jest związany z unaczynieniem guza w sposób opisany w [113]. Stamtąd też pochodzi forma matematyczna tego członu, przedstawiona w równaniu 3.22:

$$g(t) = mN_0(t)^a. \quad (3.22)$$

, gdzie m jest współczynnikiem kolonizacji, opisującym proporcjonalność jej tempa do liczby komórek będących w kontakcie z naczyniami krwionośnymi [191, 203], a natomiast wymiarem fraktalnym, opisującym geometrię naczyń krwionośnych przenikających guz [81].

Ostateczną postać równania opisującego rozwój guza pierwotnego po zapoczątkowaniu przerzutów prezentuje równanie 3.23.

$$\frac{dN_0(t)}{dt} = -\rho_0 N_0(t) \log\left(\frac{N_0(t)}{K_0}\right) - \gamma_0 \nu(t) N_0(t) - (\alpha d(t) + \beta d(t)^2) N_0(t) - g(t) \quad (3.23)$$

Kompartament związany z przerzutem zbudowany jest w analogiczny sposób - wzrost guza jest gompertzowski oraz występuje działanie terapii. Kluczową różnicą w tym miejscu jest założenie, że jedynie chemioterapia oddziałuje z przerzutem. Wynika to z faktu, że celem radioterapii najczęściej jest guz pierwotny. Aby zapewnić poprawny opis zarówno inicjalizacji przerzutu, jak i jego późniejszego wzrostu, odpowiednie równanie różniczkowe musi wystąpić w dwóch formach w zależności od liczby komórek nowotworowych w guzie wtórnym. W pierwszym przedziale czasowym po inicjalizacji przerzutu, ma ono postać jak w równaniu 3.24.

$$\frac{dN_{met}(t)}{dt} = -\gamma_{met} \nu(t) N_{met}(t) + g(t - T_0), \quad (3.24)$$

Obowiązuje ono dla liczby komórek $N_{met}(t) = 0$, kiedy jedynym źródłem nowych komórek jest dopływ migrujących z guza pierwotnego. Zapis ten, wymagany dla formalnej poprawności modelu, przechodzi w swoją pełną formę dla $N_{met} > 0$. Prezentuje ją równanie 3.25.

$$\frac{dN_{met}(t)}{dt} = -\rho_{met} N_{met}(t) \log\left(\frac{N_{met}(t)}{K_{met}}\right) - \gamma_{met} \nu(t) N_{met}(t) + g(t - T_0) \quad (3.25)$$

Parametry ρ , K oraz γ mają to samo znaczenie jak w przypadku guza pierwotnego (równanie 3.23), odpowiedni indeks dolny rozróżnia jedynie potencjalnie różne wartości tych parametrów. Należy jednak zwrócić uwagę na nowy parametr, związany z członem odpowiedzialnym za dopływ komórek migrujących z guza pierwotnego - T_0 . Jest on opóźnieniem, które reprezentuje czas potrzebny komórkom opuszczającym guz pierwotny na dotarcie do miejsca przerzutu i skuteczne zasiedlenie go (w tym czas potrzebny na rozpoczęcie procesów podziału). Pozwala to na przybliżone pominięcie stochastycznego charakteru początkowego etapu rozwoju kolonii komórek [117].

3.2.3 Uwzględnienie śmierci pacjenta

Przedstawiony w sekcji 3.2.2 model pozwala na określenie rozwoju nowotworu w czasie. Jednakże w kontekście jego zastosowania praktycznego niezbędne jest uwzględnienie śmierci organizmu na skutek zbyt daleko posuniętego rozwoju nowotworu. Zjawisko to zostało zamodelowane przez porównanie rozmiarów guzów z wielkością krytyczną, która została zdefiniowana za [55] jako kula o średnicy 13 cm. Rozmiar ten dotyczy jednak jedynie pojedynczego guza litego. Pytaniem pozostaje, jak zdefiniować ten warunek w przypadku współistnienia guza pierwotnego i przerzutu. W rozważaniach niewątpliwie należy uwzględnić, że przerzut inaczej wpływa na stan pacjenta niż guz pierwotny, a różnica ta jest zależna od miejsca przerzutu [198].

Z uwagi na występowanie tylko jednego miejsca przerzutowania w modelu wpływ guza wtórnego, zależny od miejsca przerzutu, musiał zostać w sztuczny sposób uśredniony. Co do zasady przyjęto, że guz pierwotny jest mniej obciążający dla organizmu, więc próg 13 cm średnicy, odnoszący się do guza pierwotnego, musiał zostać pomniejszony dla przerzutu. Ostatecznie zdecydowano się na warunek śmierci w postaci alternatywy logicznej, przedstawionej w równaniu 3.26.

$$N_0(t) > death_{threshold} \vee N_{met}(t) > w_{met} * death_{threshold} \quad (3.26)$$

Zdefiniowany jest on dla liczby komórek (która jest podstawową jednostką modelu), nie dla średnic. W związku z tym niezbędne było przeliczenie warunku z [55] na liczbę komórek. W tym celu wykorzystano opisaną w [227] gęstość komórek guza litego oraz założenie o jego kulistości, aby otrzymać wyrażenie przedstawione w równaniu 3.27:

$$N_{guz} = 5.8 \times 10^8 \times \left(\frac{4}{3}\pi R_{guz}^3\right) \quad (3.27)$$

,gdzie N_{guz} oznacza liczbę komórek guza litego, a R_{guz} promień kuli przybliżającej kształt guza, wyrażony w centymetrach.

Współczynnik w_{met} , modyfikujący warunek dla guza wtórnego w równaniu 3.26, został dobrany na podstawie eksperymentów numerycznych i przyjął wartość 1/3, co oznacza, że śmierć pacjenta będzie powodował przerzut o liczbie komórek trzykrotnie mniejszej niż w przypadku guza pierwotnego.

3.3 Metodyka prowadzonych badań

Zachowanie zaproponowanego modelu zostało zweryfikowane przy użyciu danych klinicznych, pochodzących od pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc (ang. *non-small-cell lung carcinoma*, NSCLC), leczonych w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowym Instytucie Badawczym - Oddział w Gliwicach. Porównywane były czasy do przerzutu (ang. *Metastasis Free Survival*, MFS) oraz czas przeżycia od diagnozy (ang. *Overall Survival*, OS).

3.3.1 Dane kliniczne

Dane kliniczne wykorzystane do weryfikacji modelu obejmowały 657 pacjentów ze zdiagnozowanym NSCLC. Podstawową, wykorzystywaną charakterystyką pacjenta, był opis w ramach tzw. klasyfikacji TNM (ang. *Tumour - Node - Metastasis*), która opisuje w sposób kategoriowy stadium rozwoju guza (T), stopień zajęcia węzłów chłonnych (N) oraz występowanie przerzutów (M). Dotyczył on stanu pacjenta w momencie diagnozy. Dodatkowo brano pod uwagę, jakiego rodzaju terapii poddawani byli poszczególni pacjenci.

Klasyfikacja TNM

Klasyfikacja TNM jest standardem opisu guzów opracowywanym przez UICC (Union for International Cancer Control) w celu ujednolicenia opisu różnych typów nowotworów. Jest ona nieustannie aktualizowana, w celu doprecyzowania podziału między stadiami i ich podgrupami. Najnowsza, dziewiąta wersja klasyfikacji została opublikowana w 2025 roku jako [31], jednak podstawowe kryteria podziału na stadia pozostały niezmienione względem poprzedniej edycji. Kryteria określania stadiów klasyfikacji TNM (ósmej edycji) dla nowotworów płuca zostały dobrze opisane w [135] i wykorzystane w niniejszej pracy.

T odnosi się do rozmiaru guza i obejmuje cztery podstawowe stadia (za [135]):

- T1 - nie większy niż 3 cm w najszerszym wymiarze,
- T2 - od 3 cm do 5 cm,
- T3 - od 5 cm do 7 cm,
- T4 - większy niż 7 cm.

Należy podkreślić, że jest to uproszczony opis – na przykład w przypadku obecności więcej niż jednego guza w tym samym płacie płuca nowotwór klasyfikowany jest jako T3, nawet jeśli poszczególne zmiany mają mniejszy rozmiar. Istnieją również podkategorie stadiów T, jednak takie informacje nie były dostępne w danych klinicznych.

N związane jest ze stopniem zajęcia węzłów chłonnych oraz ich lokalizacją. Wyróżnia się również 4 stadia (za [135]):

- N0 – brak zajęcia regionalnych węzłów chłonnych,
- N1 – zajęcie ipsilateralnych (po tej samej stronie) węzłów chłonnych okołoskrzelowych i/lub węzkowych (obejmuje również bezpośrednie naciekanie węzłów chłonnych wewnątrzplucnych),
- N2 – zajęcie ipsilateralnych węzłów chłonnych śródpiersia i/lub podostrogowych,
- N3 – zajęcie któregośkolwiek z następujących regionów węzłów chłonnych: kontralateralne węzły chłonne śródpiersia, kontralateralne węzłowe, ipsilateralne lub kontralateralne węzły chłonne mięśnia pochyłego lub nadobojczykowe,

W najnowszej edycji klasyfikacji rozbito stadium N2 na N2a i N2b, określające ilość węzłów chłonnych, z grupy dla tego stadium, która została zajęta. Informacja o zajęciu węzłów chłonnych nie była wykorzystywana w pracy.

M określa występowanie przerzutu odległego. Wyróżnia się jedynie 2 stadia (za [135]):

- M0 – brak przerzutów odległych,
- M1 – obecność przerzutów odległych.

Stadium występowania przerzutu M1 jest dzielone bardziej szczegółowo, w zależności od organu, w którym występuje przerzut: M1a – drugie płuco, opłucna lub osierdzie; M1b – jeden przerzut poza płuca; M1c – liczne przerzuty poza płuca do jednego lub wielu narządów. Na potrzeby pracy wykorzystano jedynie główny podział.

Szczegóły wykorzystanej kohorty

Wykorzystując informacje o stadiach T i M z klasyfikacji TNM dostępne w danych klinicznych określono liczbę pacjentów należących do każdej pary możliwej N,M, a także jaki procent całości kohorty stanowią. Dane te zebrano w Tabeli 3.1.

Dostępne dane kliniczne dotyczyły pacjentów poddawanych trzem rodzajom terapii oraz grupy osób nieleczonych. Działania terapeutyczne obejmowały chemoterapię, radioterapię oraz łączoną chemioradioterapię. W Tabeli 3.2 zebrano liczby pacjentów

Tabela 3.1: Podział kohorty klinicznej według stadiów T i M

T M	T1	T2	T3	T4	Suma
M0	32 4.9%	157 23.9%	109 16.6%	210 32.0%	508 77.3%
M1	12 1.8%	42 6.4%	34 5.2%	61 9.3%	149 22.7%
Suma	44 6.7%	199 30.3%	143 21.8%	271 41.2%	657 100.0%

poddanych konkretnym rodzajom terapii.

Tabela 3.2: Podział kohorty klinicznej według typu terapii

Terapia	Liczba pacjentów	Procent kohorty
chemioradioterapia	403	61.3%
chemoterapia	43	6.5%
radioterapia	169	25.7%
brak leczenia	42	6.4%

3.3.2 Symulacje numeryczne

Zaproponowany model poddano testom w serii symulacji numerycznych, dla wirtualnej kohorty 1000 pacjentów. Dla każdego pacjenta określany był czas wykrycia przerzutu oraz czas śmierci. Każdorazowo horyzontem symulacji było 5 lat od diagnozy. Każdy pacjent reprezentowany był przez zestaw wartości parametrów równań modelu 3.23-3.25, a także przez początkowe wielkości guza pierwotnego i wtórnego.

Kohorta wirtualna

Pacjentów wirtualnych różnicowały między sobą 3 aspekty - heterogeniczność wyrażona wartościami parametrów modelu, terapia, której byli poddani, a także różny stan początkowy.

Parametry równań modelu można podzielić na dwie kategorie:

- stałe, wspólne dla wszystkich pacjentów,
- losowane z odpowiedniego dla każdego pacjenta kohorty.

Wartości parametrów należących do pierwszej grupy oraz część parametrów rozkładów drugiej grupy zaczerpnięto z literatury: dla chemioterapii, radioterapii oraz guza pierwotnego zgodnie z [82, 166, 226, 160], a dla wpływu komórek nowotworowych odpowiedzialnych za przerzuty zgodnie z [113]. Niektóre wartości parametrów zostały założone — przykładowo, pojemność środowiska dla guza przerzutowego K_{met} została przyjęta jako równa K_0 . Wartości tych parametrów zebrano w Tabeli 3.3. Wartości parametrów należących do drugiej grupy były losowane z różnych rozkładów, jak przedstawiono w Tabeli 3.4.

Tabela 3.3: Lista parametrów wspólnych dla kohorty

Parametr	Wartość	Źródło
K_0 [cm średnicy]	30	[160]
K_{met} [cm średnicy]	równa K_0	założenie
β [Gy^{-2} dzień $^{-1}$]	$\alpha/10$	[82, 166]
λ [dzień $^{-1}$]		
m [dzień $^{-1}$]	5.3×10^{-8}	[113]
a	0.667	[113]

Tabela 3.4: Lista parametrów różnicujących pacjentów wraz z rozkładami

Parametr	Rozkład	Parametry rozkładu	Źródło
ρ_0 [dzień $^{-1}$]	normalny z ponownym losowaniem dla wartości ujemnych	$\mu = 7 \times 10^{-5}$ $\sigma = 7.23 \times 10^{-3}$	[82]
α [Gy^{-1} dzień $^{-1}$]	normalny z ponownym losowaniem dla wartości ujemnych	$\mu = 3.98 \times 10^{-2}$ $\sigma = 1.68 \times 10^{-2}$	[82] [166]
γ_0 [dzień $^{-1}$]	równomierny	0.0093 ± 0.0019	[226]
ρ_1	normalny (mnożnik ρ_0)	$\mu = 1.5$ $\sigma = 0.15$	założenie
γ_1	równomierny (mnożnik γ_0)	0.8 ± 0.15	założenie
próg przerzutowania [cm średnicy]	równomierny	$< 5, 13 >$	założenie
T_0	wykładniczy	$\lambda = 0.1$	[160]

Zróznicowanie terapii wśród pacjentów wirtualnych odpowiadało proporcjonalnie temu, co widoczne było w kohorcie rzeczywistej, a co przedstawiono w Tabeli 3.2. Dodatkowo zadbano, aby proporcje były zachowane nie tylko w ramach całej kohorty, ale

również w jej podgrupach, tzn. proporcje wykorzystania terapii dla pacjentów w danym stadium T i M również były zachowane.

Warunki początkowe

Wszystkie równania różniczkowe modelu muszą zostać zainicjalizowane. W przypadku stężenia chemoterapeutyku warunkiem początkowym jest 0, gdyż rozważani są pacjenci w momencie diagnozy, a więc przed przystąpieniem do leczenia. Sytuacja jest bardziej złożona dla początkowych rozmiarów guzów pierwotnego oraz wtórnego. Dobre oszacowania tych wielkości mogą pochodzić z badań obrazowych (np. pozytonowej tomografii emisyjnej - PET), lecz wykonywanie ich przy diagnozie nie jest powszechne i dostępne dane kliniczne nie zawierały takich informacji. W związku z tym do oszacowania początkowych wielkości guzów wykorzystano klasyfikację TNM, a konkretnie wartości T i M tej klasyfikacji. Zapewniono, aby w kohorcie wirtualnej proporcja pacjentów z każdą parą T i M odpowiadała rozkładowi w danych klinicznych, podanemu w Tabeli 3.1.

Klasyfikacja T, w mocno uproszczonej wersji, podaje jednak jedynie zakresy rozmiarów guza, w związku z czym niezbędne było wylosowanie dla każdego pacjenta z danym T początkowej liczby komórek guza pierwotnego. Losowanie to odbywało się z rozkładu równomiernego, na przedziale przypisanym do danego stadium. Powiązania między średnicą guza a liczbą komórek dokonano, podobnie jak w sekcji 3.2.3, poprzez założenie kulistości guza oraz wykorzystanie średniej gęstości guza opisanej w [227], jak pokazano w równaniu 3.27.

Klasyfikacja M informuje jedynie o wystąpieniu przerzutu odległego, nie daje jednak żadnej informacji na temat rozmiaru guza wtórnego. Z tego względu postanowiono założyć, że M1 oznacza przerzut na granicy wykrywalności przyjętej jako guz o średnicy 1.5 cm. Wartość ta, zasugerowana przez lekarzy odpowiedzialnych za zebranie wykorzystywanych w pracy danych klinicznych, pozostaje w zgodzie z pracami określającymi średni rozmiar wykrywanego guza ([133, 94]). Dla pacjentów w stadium M0, początkowy rozmiar przerzutu wynosi 0.

Takie określenie warunków początkowych obarczone jest znaczną niepewnością wynikającą z przyjętych założeń. Uproszczenie interpretacji klasyfikacji T powoduje, że dla niektórych pacjentów początkowy rozmiar guza może zostać określony błędnie (co do

zakresu wartości), gdyż przypisanie do danego stadium T mogło być wynikiem czynników innych niż rozmiar guza pierwotnego. Założenie jednego rozmiaru początkowego guza przerzutowego dla pacjentów w stadium M1 pomija występującą w rzeczywistości heterogeniczność tego parametru. Co więcej, dla pacjentów, u których nie stwierdzono przerzutu w momencie diagnozy (M0), guz wtórny może już istnieć, lecz jego rozmiar może być zbyt mały, aby został wykryty. Jednakże brak jest informacji pozwalających na uwzględnienie tego faktu w modelu.

Protokoły terapii

Terapia, jakiej byli poddawani wirtualni pacjenci, była dobierana tak, aby zachowane były proporcje pomiędzy poszczególnymi rodzajami leczenia, widoczne w danych rzeczywistych. Różnicowanie terapii w ramach kohorty polega jedynie na przypisaniu każdemu z pacjentów informacji, czy jest on poddawany chemioterapii lub radioterapii. Taki dwuelementowy wektor binarny pozwala na zakodowanie wszystkich występujących w analizowanej sytuacji wariantów: brak terapii - $[0, 0]$, jedynie chemioterapia - $[1, 0]$, jedynie radioterapia - $[0, 1]$, łączona chemio-radioterapia - $[1, 1]$. Równocześnie wszyscy pacjenci, dla których pierwszy element wektora terapii był jedynką, byli poddawani leczeniu zgodnie z identycznym protokołem. Podobnie w przypadku, gdy w wektorze terapii drugi element był jedynką, stosowany był ten sam protokół radioterapii. Podejście takie wynikało z braku pełnych informacji na temat protokołu leczenia w dostępnych danych, zaś próba sztucznego różnicowania protokołów terapii wprowadziłaby do modelu dodatkowy arbitralny element, mogący zaburzać wyniki. Oczywiście jest, że w przypadku dostępu do pełnych informacji o indywidualnie stosowanych protokołach leczenia powinny one zostać uwzględnione podczas budowania kohorty.

W przypadku radioterapii, przyjęto dla każdego pacjenta sumaryczną dawkę promieniowania 63 Gy. Wartość ta wynikała w pierwszej kolejności z częściowych danych, które były dostępne (jako średnia dawka spośród pacjentów, dla których informacja była udostępniona), a równocześnie była to wartość wykorzystywana w literaturze ([160]). Dawka ta podawana była w jednym cyklu leczenia trwającym 7 tygodni. Choć w rzeczywistości, każdego dnia cyklu część dawki podawana jest w postaci impulsu, w modelu symulacyjnym przyjęto, że promieniowanie jest dostarczane ciągle przez cały cykl, w ilości dającej po zsumowaniu całkowitą, określoną wcześniej dawkę.

Chemioterapia opierała się na podawaniu cisplatyny. Była to jednak jedyna informacja dostępna w danych klinicznych. W związku z tym zastosowano podejście opisane w [213], a więc dwie dawki leku, podawane w odstępie 28 dni. Założono, że w przypadku każdego pacjenta terapia rozpoczyna się od razu po przyjęciu na oddział.

3.3.3 Analiza przeżycia

Wyniki symulacji oraz ich porównanie z danymi klinicznymi oparte zostały o analizę przeżyciową. Badane były 2 zdarzenia, dla których określono w danych klinicznych czasy ich wystąpienia. Były to wystąpienie przerzutu odległego (dla pacjentów bez przerzutu przy diagnozie) - MFS oraz śmierć pacjenta - OS. Dla obu zdarzeń określone zostały warunki cenzurowania wyników. Dla czasu śmierci była to utrata kontaktu z pacjentem, w przypadku kohorty rzeczywistej. Przy określaniu czasu do przerzutu, poza utratą kontaktu z pacjentem, była to śmierć pacjenta przed wystąpieniem przerzutu (dla kohorty rzeczywistej i wirtualnej).

Krzywe Kaplana-Meiera

Narzędziem wykorzystywanym w analizie i porównywaniu danych przeżyciowych są krzywe Kaplana-Meiera. Pozwalają one na przedstawienie danych będących w postaci czasu do zdarzenia i są wykorzystywane powszechnie w badaniach zarówno medycznych, jak i pozamedycznych [197]. Opierają się one na estymatorze opracowanym przez Kaplana i Meiera w 1958 roku ([121]) pozwalającym na oszacowanie tzw. funkcji przeżycia $S(t)$, jak przedstawiono w równaniu 3.28.

$$\hat{S}(t) = \prod_{i:t_i \leq t} \left(1 - \frac{d_i}{n_i}\right) \quad (3.28)$$

Pozwala on określić proporcję elementów w populacji, których czas do zdarzenia przekroczyłby zadany, na podstawie informacji o kolejnych czasach wystąpienia zdarzenia (t_i), liczbie zdarzeń d_i , które zaszły w czasie t_i oraz liczebności osobników n_i , u których wiadomo, że zdarzenie nie wystąpiło do czasu t_i . Dzięki temu estymator pozwala na uwzględnienie danych niekompletnych (uciętych, cenzurowanych) bez utraty zawartej w nich częściowej informacji o przeżyciu, czyniąc z niego doskonałe narzędzie w analizie danych klinicznych.

Do wyznaczenia wartości estymatora Kaplana-Meiera, a co za tym idzie do wykreślenia krzywych przeżyciowych wykorzystano zaimplementowaną w środowisku Matlab funkcję. Była to funkcja *ecdf* (ang. *empirical cumulative distribution function* z opcją *survival*). Pozwala ona oczywiście na uwzględnienie informacji o cenzurowaniu danych. Dodatkowo funkcja ta pozwala na uzyskanie przedziału ufności dla całości krzywej, która to funkcjonalność również została wykorzystana.

MFS i OS dla kohorty klinicznej

W analizowanych danych klinicznych wszystkie elementy niezbędne do wyznaczenia krzywych Kaplana-Meiera zarówno dla czasu do przerzutu, jak i czasu do śmierci były zawarte. Podane w dniach wartości dla każdego pacjenta były uzupełnione o informację o cenzurowaniu, choć brakowało informacji o przyczynie cenzurowania danego wyniku. Wątpliwości wzbudzała jedynie grupa pacjentów, dla których wartości MFS były bardzo małe (nawet do jednego dnia). Po analizie i konsultacjach uznano, że część takich wartości MFS wynika z opóźnienia przeprowadzenia badania względem chwili przyjęcia pacjenta. Nie oznaczają więc one pacjentów, u których przerzut wystąpił bardzo szybko, lecz pacjentów, u których w rzeczywistości przerzut występował już w chwili przyjęcia. W związku z tym pacjenci opisani jako M0 według klasyfikacji TNM, dla których MFS wynosił do tygodnia, byli traktowani jako pacjenci mający przerzut w chwili diagnozy, a co za tym idzie, dla których nie wyznacza się czasu do przerzutu.

MFS i OS dla kohorty wirtualnej

Wyznaczenie niezbędnych czasów do przerzutu i śmierci w przypadku kohorty wirtualnej również nie stanowi żadnego problemu. MFS był wyznaczany dla pacjentów niemających przerzutu na początku symulacji, OS natomiast dla wszystkich pacjentów. W tym przypadku nie mamy sytuacji cenzurowania wyników z uwagi na utratę kontaktu z pacjentem, w związku z czym OS był wyznaczany każdorazowo na podstawie całej kohorty. Sytuacja wygląda inaczej w przypadku MFS, jak wspomniano wcześniej. Możliwe jest bowiem, że dla symulowanego pacjenta guz pierwotny osiągnie rozmiar związany ze śmiercią szybciej niż guz metastatyczny osiągnie próg detekcji. W takiej sytuacji na potrzeby obliczenia MFS dane dla takiego pacjenta podlegają cenzurowaniu. Dane kliniczne nie zawierają informacji o powodzie cenzurowania, w szczególności nie podają

przyczyny zgonu pacjenta (czy była związana z nowotworem, czy nie). W związku z tym w kohorcie wirtualnej przyjęto, że śmierć pacjenta może nastąpić wyłącznie z powodu choroby.

Porównywanie krzywych przeżycia

Aby móc porównać rezultat działania modelu z danymi klinicznymi, niezbędne jest zestawienie danych przeżyciowych, a co za tym idzie, krzywych Kaplana-Meiera uzyskanych w obu przypadkach. Podstawowym narzędziem stosowanym w analizie porównawczej krzywych przeżycia jest test statystyczny log-rank, opracowany w 1966 roku przez Mantela [157]. Przede wszystkim dokonuje on analizy całości funkcji przeżycia, nie jedynie jej wartości w wybranych punktach czasowych. Co więcej, podobnie jak estymator Kaplana-Meiera, pozwala na wykorzystanie informacji pochodzącej z obserwacji niekompletnych.

Hipotezą zerową testu log-rank jest równość funkcji przeżycia dla dwóch lub więcej badanych grup. Dopełniającą hipotezą alternatywną jest istnienie różnic między co najmniej dwiema funkcjami w dowolnym punkcie czasowym. Taka formuacja jest zgodna z najczęstszymi zastosowaniami testu, gdzie istotne jest wykazanie różnicy w czasie przeżycia, np. po zastosowaniu innego rodzaju terapii. Niestety nie pozwala ona na wnioskowanie o istotności statystycznej braku różnic między danymi. Oznacza to, że w przypadku rozważanym w niniejszym rozdziale, a więc uzyskania z modelu funkcji przeżycia zgodnej z danymi klinicznymi, test log-rank (a także inne testy statystyczne opracowane dla tego problemu) może jedynie stwierdzić, że nie ma dostatecznych podstaw do odrzucenia hipotezy o równości funkcji przeżycia.

W związku z tym do porównania krzywych przeżycia zdecydowano wykorzystać podwójne podejście. Po pierwsze, wstępna weryfikacja z użyciem testu log-rank, pozwalająca stwierdzić, czy wyniki uzyskane przez model istotnie różnią się od danych klinicznych. Po drugie, porównanie wizualne z uwzględnieniem przedziałów ufności.

3.4 Wyniki

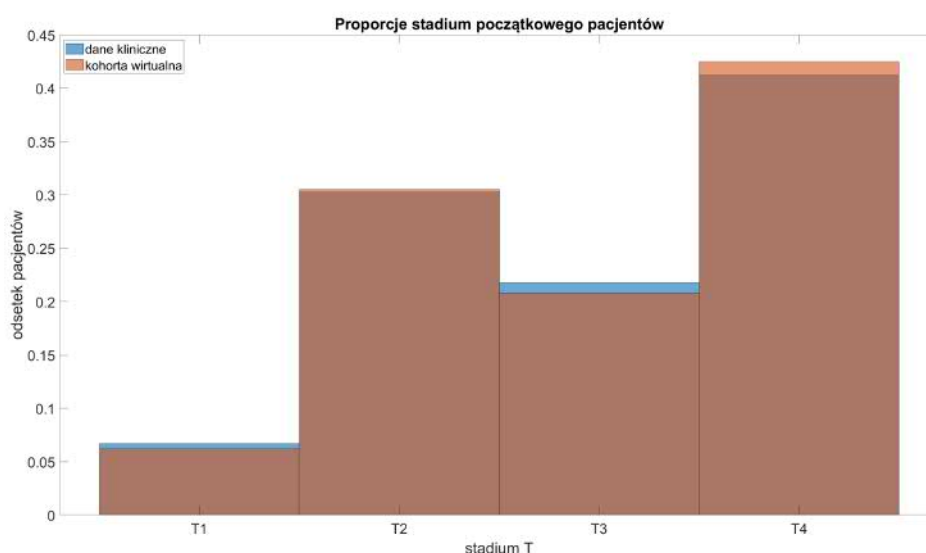
Przeprowadzono szereg testów symulacyjnych, mających określić zachowanie modelu przy przyjętych założeniach oraz porównać wyniki przeżycia wolnego od przerzutu

oraz przeżycia całkowitego z danymi klinicznymi. W pierwszej kolejności zaprezentowano podstawowe statystyki kohorty wirtualnej, aby udowodnić ich zbieżność z danymi kohorty klinicznej. Następnie przedstawiono wpływ poszczególnych założeń na wynik działania modelu. Ostatecznie porównano wynik finalnej wersji modelu z danymi klinicznymi zgodnie z zasadami opisanymi w 3.3.3, biorąc pod uwagę nie tylko całość danych, ale również porównując oddzielnie grupy o tym samym stadium T.

3.4.1 Podstawowe statystyki kohorty wirtualnej

W sekcji 3.3.1 zaprezentowano w Tabelach 3.1 i 3.1 podstawowe proporcje stadiów TM oraz wykorzystywanej terapii, jakimi charakteryzuje się kohorta kliniczna. Stworzona do testów modelu kohorta symulacyjna powinna cechować się podobnym rozkładem tych parametrów. Postanowiono przeprowadzić porównanie statystyk obu kohort na nieco głębszym poziomie niż zostało to przedstawione wcześniej dla samych danych klinicznych.

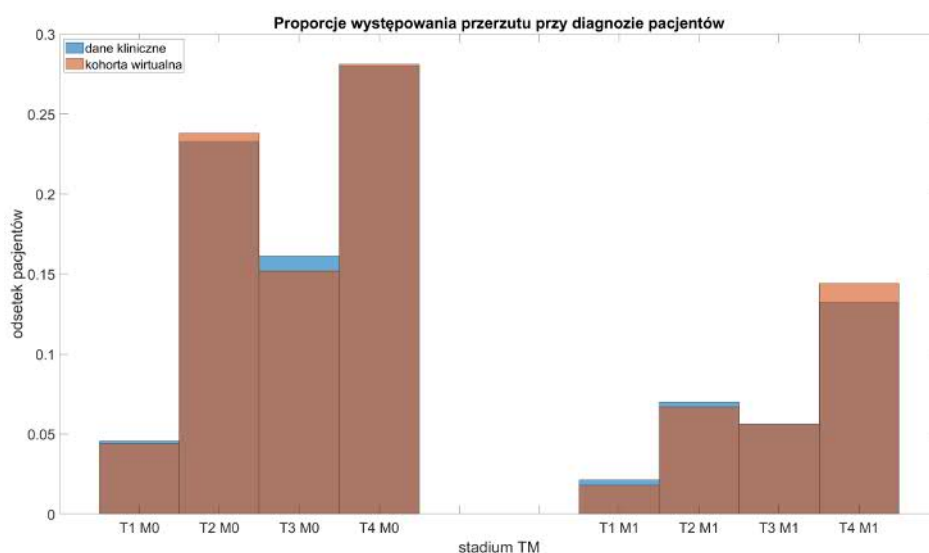
W pierwszej kolejności porównano odsetek pacjentów w danym stadium T przy diagnozie (na początku symulacji). Wyniki przedstawiono w formie graficznej na Rysunku 3.2.



Rysunek 3.2: Porównanie podziału kohorty klinicznej i symulacyjnej według stadium T przy diagnozie.

Wyraźnie widoczne jest, że podstawowy cel został osiągnięty. W każdym stadium odsetek pacjentów w obu kohortach jest bardzo zbliżony. Pozwala to na stwierdzenie, że na podstawowym poziomie kohorta wirtualna oddaje charakter kohorty klinicznej.

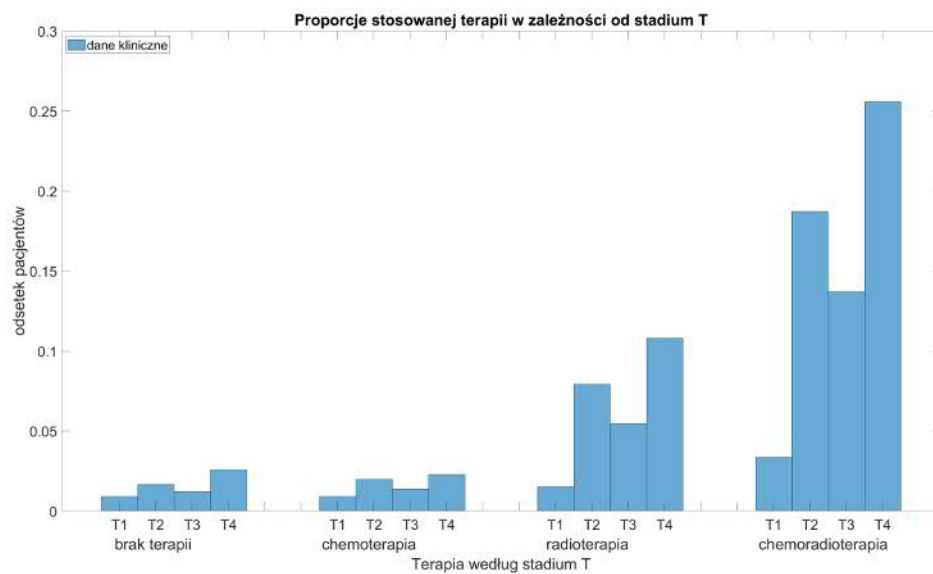
Po weryfikacji poprawności podziału według stadium T, sprawdzone zostało, czy również proporcja pacjentów bez przerzutu w czasie diagnozy odpowiada danym klinicznym. Dokonano tego, uwzględniając również stadium T pacjenta, tak aby zapewnić możliwie dużą zbieżność obu kohort. Wyniki dla takiego porównania przedstawiono graficznie na Rysunku 3.3.



Rysunek 3.3: Porównanie występowania przerzutu przy diagnozie w kohorcie klinicznej i symulacyjnej z podziałem według stadium T.

Opis poszczególnych słupków zgodny jest z nomenklaturą opisaną w 3.3.1, dotyczącą klasyfikacji TNM. M0 oznacza więc brak przerzutu, a M1 wykryty przerzut w momencie diagnozy. W wynikach widoczne jest, że zarówno ogólna proporcja pacjentów z przerzutem przy diagnozie (suma odsetków dla prawego zestawu słupków), jak i uwzględniająca podział według stadium T, jest zgodna pomiędzy obiema kohortami. Widoczne drobne różnice dla T3 M0 oraz T4 M1 zbiegają się z podobnymi, niewielkimi różnicami w całkowitej liczbie pacjentów w danym stadium T. Ponownie można więc stwierdzić, że cel związany z budową kohorty wirtualnej odpowiadającej danym klinicznym został spełniony w zakresie występowania przerzutu przy diagnozie.

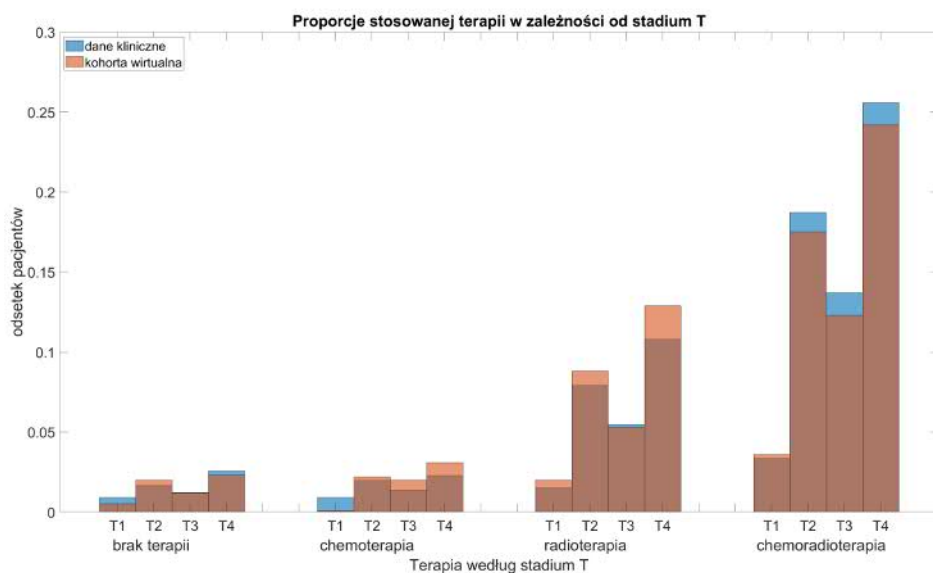
Ostatnim aspektem tworzenia kohorty symulacyjnej, który został zweryfikowany na tym etapie, było przypisanie terapii do poszczególnych pacjentów. W najogólniejszym wariancie oznaczałoby to podobny odsetek pacjentów poddanych danej metodzie leczenia. Jak widać na Rysunku 3.4, podejście takie nie byłoby nieuzasadnione, gdyż profil pacjentów w różnym stadium jest podobny dla każdej terapii.



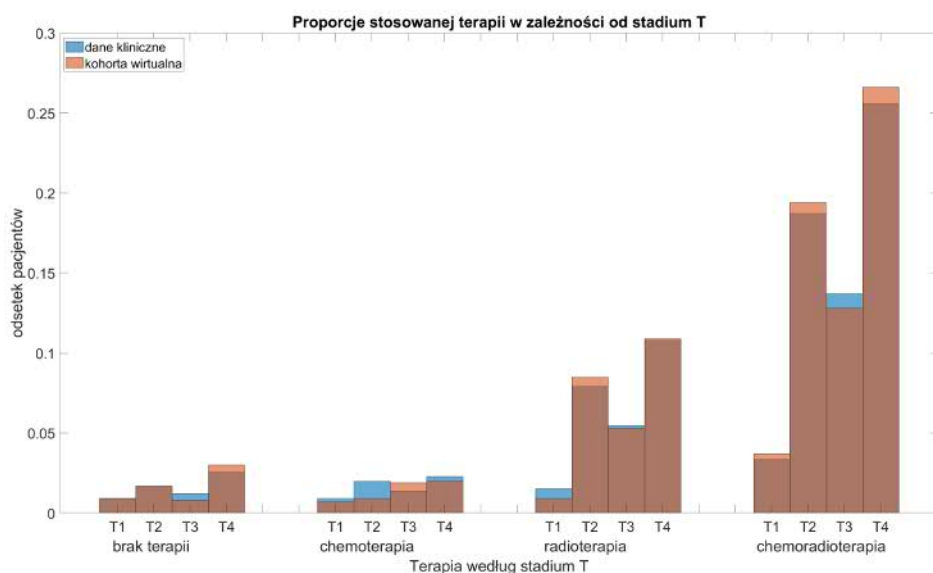
Rysunek 3.4: Rozkład pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii z podziałem według stadium T.

Postanowiono jednak zweryfikować tę kwestię, dokonując dwóch porównań, najpierw zestawiając wyniki dla danych klinicznych z podziałem nieuwzględniającym proporcji w ramach stadiów (Rysunek 3.5), a następnie uwzględniając możliwe różnice w proporcjach przypisania terapii pomiędzy stadiami (Rysunek 3.5).

W wynikach dla obu wariantów widoczne jest, że ogólna charakterystyka danych klinicznych została oddana poprawnie. W obu przypadkach widoczne są pojedyncze odstępstwa, jak np. w przypadku chemoterapii niedostateczna reprezentacja pacjentów w stadium T1 (Rysunek 3.5) lub stadium T2 (Rysunek 3.6). Wydaje się jednak, że uwzględnienie podziału w ramach poszczególnych stadiów, powinno prowadzić do dokładniejszego odwzorowania kohorty klinicznej w symulacji.



Rysunek 3.5: Porównanie podziału pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii nieuwzględniające stadium T dla kohorty wirtualnej.



Rysunek 3.6: Porównanie podziału pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii uwzględniające stadium T dla kohorty wirtualnej.

3.4.2 Wpływ założeń i dostępnych informacji na zachowanie modelu

Na etapie budowania eksperymentu numerycznego poczyniono szereg założeń dotyczących warunków początkowych oraz terapii, opisanych w 3.3.2. Postanowiono zwerifikować, jaki wpływ na wyniki działania modelu ma część z nich. Były to:

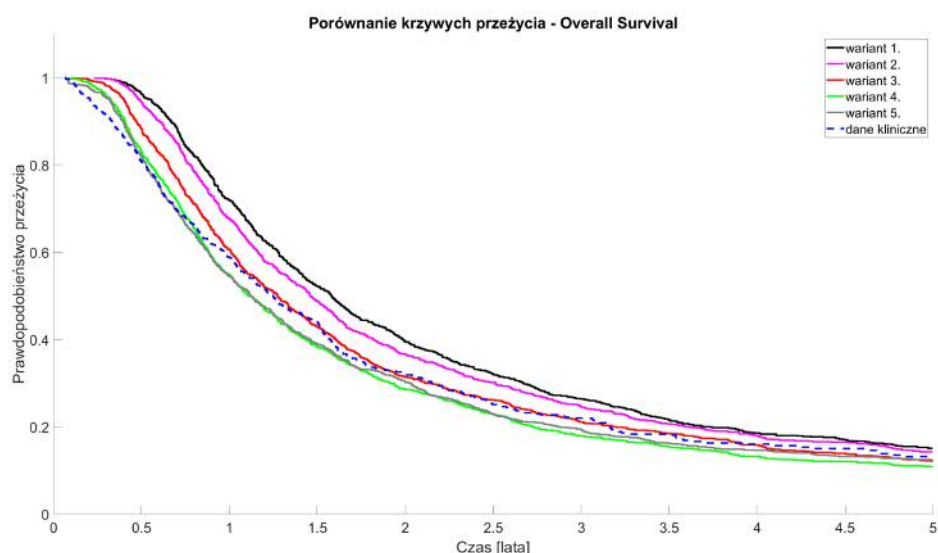
- zróżnicowanie początkowego rozmiaru guza pierwotnego wykorzystując klasyfikację T,
- zróżnicowanie stosowanego rodzaju terapii zgodnie z dostępnymi danymi,
- zróżnicowanie początkowego rozmiaru przerzutu w oparciu o próg wykrywalności,
- zachowanie proporcji stosowanej terapii w ramach stadium T.

W tym celu przeprowadzono symulację 5 wariantów kohorty wirtualnej, jak następuje:

- wariant 1.** : początkowy rozmiar guza pierwotnego równy dla wszystkich pacjentów, pacjenci w M0 rozpoczynają z guzem wtórnym rozmiaru 1 komórki, każdy pacjent poddawany chemio-radioterapii;
- wariant 2.** : początkowy rozmiar guza pierwotnego dobrany na podstawie stadium T, pacjenci w M0 rozpoczynają z guzem wtórnym rozmiaru 1 komórki, każdy pacjent poddawany chemio-radioterapii;
- wariant 3.** : początkowy rozmiar guza pierwotnego dobrany na podstawie stadium T, pacjenci w M0 rozpoczynają z guzem wtórnym rozmiaru 1 komórki, terapia dla pacjenta różnicowana zachowując proporcje z danych klinicznych;
- wariant 4.** : początkowy rozmiar guza pierwotnego dobrany na podstawie stadium T, pacjenci w M0 rozpoczynają z guzem wtórnym o rozmiarze granicy wykrywalności, terapia dla pacjenta różnicowana zachowując proporcje z danych klinicznych;
- wariant 5.** : początkowy rozmiar guza pierwotnego dobrany na podstawie stadium T, pacjenci w M0 rozpoczynają z guzem wtórnym o rozmiarze granicy wykrywalności, terapia dla pacjenta różnicowana zachowując proporcje z danych klinicznych w ramach poszczególnych stadiów T.

W wariantach tych każdorazowo dokładano jedno założenie dotyczące warunków początkowych lub terapii, dochodząc do finalnej postaci, opisanej w 3.3.2.

Na Rysunkach 3.7 i 3.8 przedstawiono krzywe odpowiednio dla przeżycia całkowitego i wolnego od przerzutu, uzyskane dla wszystkich wariantów, zestawione z danymi klinicznymi. Dla czytelności wykresu nie zamieszczono przedziałów ufności.



Rysunek 3.7: Porównanie krzywych całkowitego przeżycia dla testowanych wariantów symulacji z krzywą kliniczną.

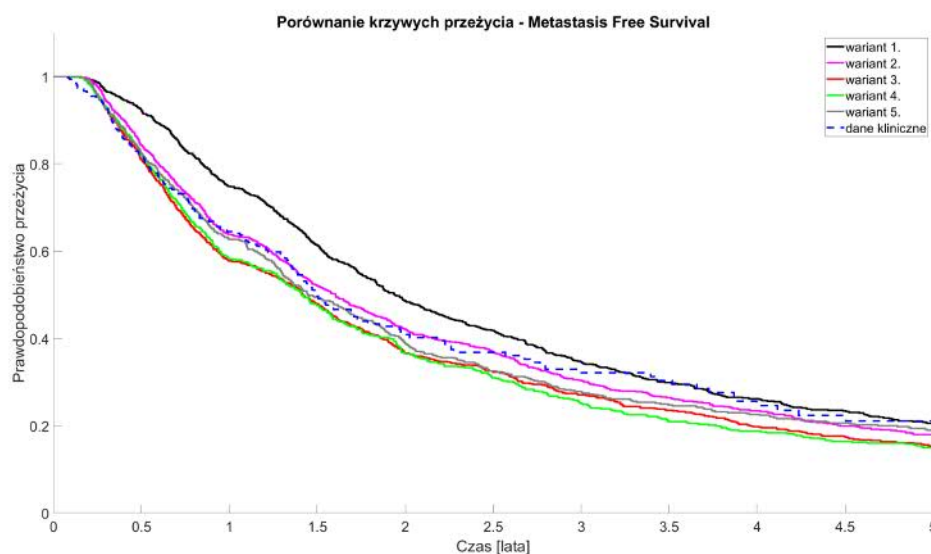
W przypadku krzywych OS widoczne są wyraźne różnice między wynikami dla poszczególnych wariantów. Zgodnie z przewidywaniami, im bliższy wariant postaci ostatecznej (wariantu 5), tym bliżej równocześnie powinien być krzywej opartej o dane kliniczne. Dla wariantów 1 i 2 stwierdzenie to nie budzi żadnych zastrzeżeń. W przypadku wariantu 4, widać, że jest on bardzo blisko wariantu 5, podając nieco niższe prawdopodobieństwa przeżycia dla OS większego niż 4 lata. Najwięcej zastrzeżeń można mieć do odrzucenia wariantu 3. Dla OS większych niż rok, a więc dla większości horyzontu, krzywa dla tego wariantu niemal pokrywa się z krzywą kliniczną. Istotna rozbieżność jest w początkowym fragmencie, gdzie różnice między modelem w tym wariantcie a rzeczywistymi danymi są istotnie większe niż dla wariantów późniejszych.

Aby rozstrzygnąć wątpliwości wynikające z analizy wizualnej krzywych przeżycia, dokonano również porównania wyników testu log-rank między krzywą kliniczną a kolejnymi wariantami. Wyniki tej analizy w postaci uzyskanej wartości p pokazuje Tabela 3.5.

Tabela 3.5: Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia całkowitego wariantów modelu z danymi klinicznymi. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.

Wariant	p
1.	0.00004
2.	0.00259
3.	0.47671
4.	0.23774
5.	0.38519

Wyniki testu log-rank potwierdzają analizę wizualną krzywych przeżycia. Dla wariantów 1-2 wartość p zwracana przez test jest niższa od przyjętego poziomu 0.05, co oznacza odrzucenie hipotezy zerowej o równości funkcji przeżycia oraz statystycznie istotną różnicę między wynikami tych wariantów a danymi klinicznymi. Dla wariantów 3-5 wartość p jest znacznie wyższa, co oznacza, że nie możemy odrzucić hipotezy zerowej.



Rysunek 3.8: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla testowanych wariantów symulacji z krzywą kliniczną.

Sytuacja, którą można było zaobserwować dla OS, nie powtarza się dla MFS. Jedynym wariantem, który istotnie wyróżnia się, jest wariant 1., w którym nie zostały uwzględnione żadne dodatkowe dane, natomiast krzywe dla wariantów od 2 do 5 są bardzo po-

dobne. Największą różnicę widać w przypadku wariantu 3 i 4 na przedziale 1-3 lat, kiedy przewidywania przeżycia są dla niego zauważalnie niższe. Podobnie jak dla OS, przeprowadzono porównanie krzywych z wykorzystaniem testu log-rank, którego wyniki zostały pokazane w Tabeli 3.6.

Tabela 3.6: Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia wolnego od przerzutu wariantów modelu z danymi klinicznymi. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.

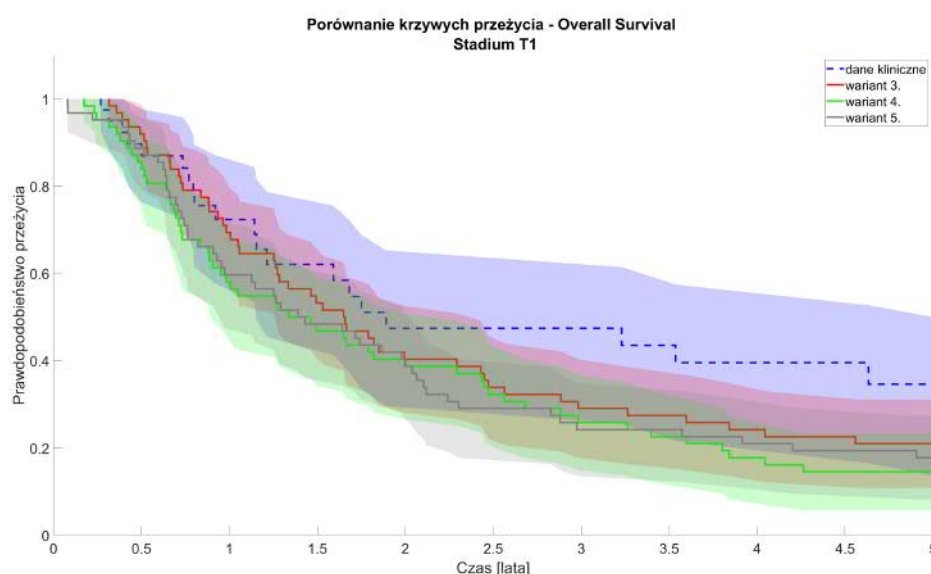
Wariant	p
1.	0.01014
2.	0.84779
3.	0.17149
4.	0.14014
5.	0.20739

Obserwowane wyniki testu log-rank ponownie potwierdzają analizę wizualną. Wariant 1, znacząco odbiegający od pozostałych, statystycznie istotnie różni się od krzywej dla danych klinicznych. W przypadku pozostałych wariantów wartości p są wysokie, co nie daje podstaw do przyjęcia hipotezy alternatywnej testu.

Kierując się wartościami p można by zasugerować, że biorąc pod uwagę zarówno OS, jak i MFS wyniki najbliższe klinicznym uzyskano dla wariantu 3 lub 5. Jednakże, chcąc ocenić wartość predykcyjną modelu, spojrzeć należy nie tylko na krzywą przeżycia dla całości danych, ale również dla podgrup pacjentów o danym stadium T. Biorąc pod uwagę wyniki z Tabel 3.5 i 3.6, do tego porównania wybrano już jedynie warianty 3., 4. i 5., dla których nie wykazano różnic istotnych statystycznie. Postanowiono również dodać do wykresów 95% przedziały ufności.

Porównania dla podgrup pacjentów - przeżycie całkowite

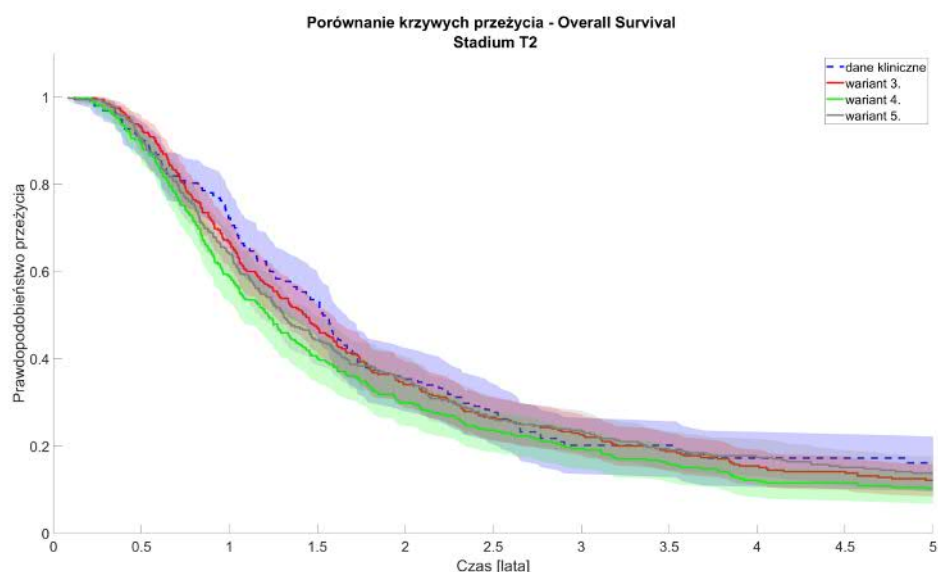
Krzywe dotyczące całkowitego przeżycia dla podgrup pacjentów zostały przedstawione: dla T1 na Rysunku 3.9, dla T2 na Rysunku 3.10, dla T3 na Rysunku 3.11 oraz dla T4 na Rysunku 3.12. Podobnie jak to było przy porównaniu krzywych dla całości danych, wykonano również porównanie danych dla wariantów modelu z danymi klinicznymi z użyciem testu log-rank, w przypadku każdego ze stadiów T. Wyniki w postaci wartości p testu dla OS zebrano w Tabeli 3.7.



Rysunek 3.9: Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T1.

Najważniejszą cechą krzywych przeżycia całkowitego dla stadium T1 (Rysunek 3.9) są bardzo szerokie przedziały ufności. Wynika to z niewielkiego odsetka takich pacjentów w całości kohorty (za Tabelą 3.1 jest to 6.7%). Równocześnie widoczne jest, że niemal w całości krzywe z symulacji plasują się poniżej krzywej klinicznej, wskazując na niższe prawdopodobieństwo przeżycia. Jedynym odstępstwem jest początek krzywej dla wariantu 3, która zaczyna opadać z wartości 1 później niż krzywa kliniczna. Dla wariantu 5 spadek z wartości 1 następuje wyraźnie szybciej niż dla wariantu 4 i danych klinicznych. Na całym horyzoncie czasowym wariant 3 daje najwyższe prawdopodobieństwa przeżycia, następnie wariant 5, a najniższe uzyskano dla wariantu 4. Jedynie między OS równym 2 i 2.5 roku, krzywa dla wariantu 5 pokazuje najniższe przeżycia.

Liczba pacjentów diagnozowanych w stadium T2 jest wyraźnie większa, co przekłada się na szerokość przedziałów ufności (Rysunek 3.10). Zauważyć można, że krzywe dla wszystkich wariantów zachowują się dosyć podobnie. Od OS równego 1 rok, widoczna jest stale utrzymująca się różnica między krzywymi dla wariantów 4 i 5, przy czym w niemal całym tym zakresie (za wyjątkiem okolic OS równego 3 lata) krzywa dla wariantu 5 przebiega bliżej krzywej klinicznej. Krzywa dla wariantu 3 z kolei przebiega początkowo najbliżej krzywej klinicznej, aby zrównać się z wariantem 5. dla OS między

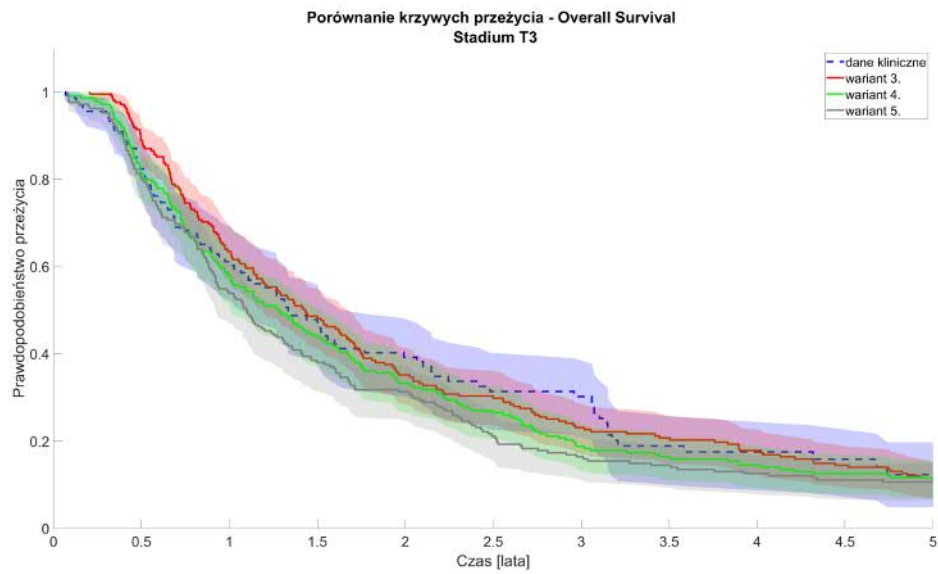


Rysunek 3.10: Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T2.

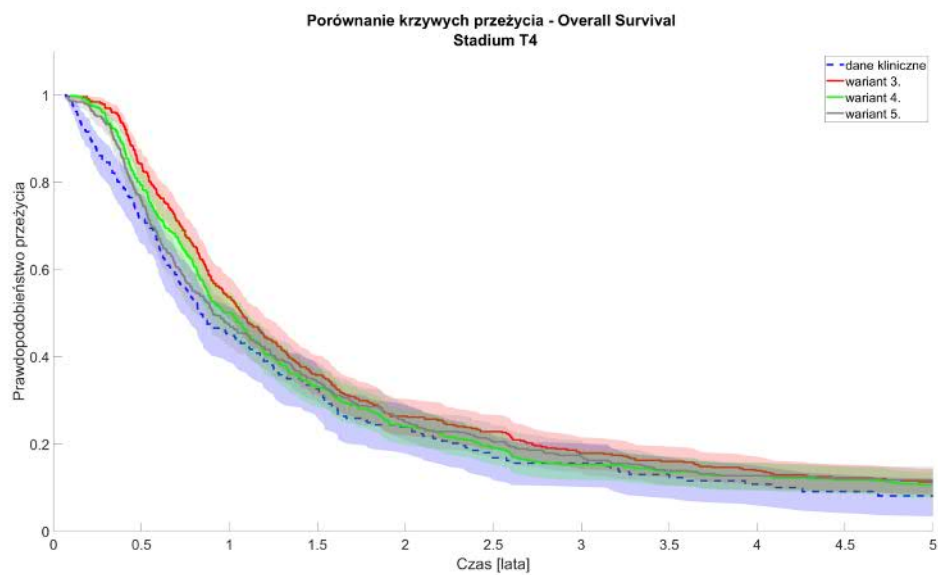
2 i 4 lata, a następnie plasować się pomiędzy wariantami 4 i 5. W okolicach całkowitego przeżycia równego 1 rok, wszystkie trzy krzywe wyszły poza przedział ufności krzywej klinicznej.

W przypadku pacjentów w stadium T3 różnice między krzywymi OS dla wariantów nie są podobne jak dla stadium T2 (Rysunek 3.11). Dla wartości czasu przeżycia ok. 1 roku i większych utrzymują się różnice pomiędzy krzywymi dla wariantów, jednak w przeciwieństwie do poprzedniej sytuacji, tym razem to krzywa dla wariantu 5 przebiega najdalej od klinicznej. W przypadku wariantów 4 i 5 modelowane przeżycia są niższe niż rzeczywiste, natomiast krzywa dla wariantu 3 oscyluje wokół krzywej klinicznej. Warto również zauważyć, że dla OS krótszych niż rok, krzywa dla wariantu 3 wykracza ponad przedział ufności krzywej klinicznej, a w okolicach OS równego 3 lata krzywe wariantów 4 i 5 spadły poniżej tego przedziału.

Sytuacja wygląda zgoła inaczej dla pacjentów w stadium T4 przy diagnozie (Rysunek 3.12). Jest to najliczniejsza grupa, stanowiąca 41.2% wszystkich dostępnych przypadków. W związku z tym przedziały ufności krzywych są tutaj największe. Pierwszą istotną obserwacją jest położenie krzywych uzyskanych z modelu względem krzywej klinicznej - dla wszystkich wariantów przewidywane przeżycia są wyższe od klinicznych na całym



Rysunek 3.11: Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T3.



Rysunek 3.12: Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T4.

badanym horyzoncie. Największe różnice względem krzywej rzeczywistej występują na początku, dla czasu przeżycia poniżej roku. Może to być związane np. z występowaniem wśród pacjentów rzeczywistych niezdiagnozowanych, szybko rozwijających się przerzutów. W pozostałym zakresie krzywe dla wariantów pozostają wewnątrz przedziału ufności krzywej klinicznej. Wynik dla wariantu 3. odbiega od pozostałych, pokazując zauważalnie wyższe wartości prawdopodobieństwa przeżycia. Dodatkowych informacji może dostarczyć tabela z wynikami testu log-rank (Tabela 3.7).

Tabela 3.7: Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia całkowitego wybranych wariantów kohorty wirtualnej z danymi klinicznymi dla danych zgrupowanych według stadium T. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.

Test	p dla T1	p dla T2	p dla T3	p dla T4
kliniczne vs wariant 3.	0.26674	0.50681	0.88343	0.01846
kliniczne vs wariant 4.	0.04518	0.04699	0.46416	0.15896
kliniczne vs wariant 5.	0.09487	0.42836	0.13642	0.21934
wariant 3. vs wariant 4.	0.31383	0.12427	0.35820	0.24115
wariant 3. vs wariant 5.	0.47804	0.99769	0.07099	0.23217
wariant 4. vs wariant 5.	0.78915	0.13420	0.38213	0.96216

Analizując wyniki wielokrotnego przeprowadzenia testu log-rank dla danych dotyczących całkowitego przeżycia (Tabela 3.7), w pierwszej kolejności należy zwrócić uwagę, że dla części testów wykazano istotną statystycznie (przy 95% poziomie ufności) różnicę między badanymi krzywymi. Jest to różnica między krzywą kliniczną i krzywą dla wariantu 4 dla pacjentów w stadium T1 i T2, a także różnica między krzywą kliniczną a krzywą dla wariantu 3. dla pacjentów w stadium T4. W przypadku krzywych dla stadium T2 i T4 rezultat ten nie jest zaskoczeniem biorąc pod uwagę analizę kształtu i położenia krzywych przeżycia. W przypadku stadium T1 jednak, uzyskany wynik pokazuje wagę przeprowadzania dodatkowego porównania, gdyż wniosek taki nie byłby oczywisty na podstawie samego kształtu krzywej przeżycia. Co ciekawe, test nie wykazał istotnej statystycznie różnicy pomiędzy krzywymi dla obu wariantów. Sytuacją, dla których test był najbliżej znalezienia istotnych statystycznie różnic, były weryfikacje wariantu 5 w grupie pacjentów w stadium T1 ($p < 0.1$), lecz w przeciwieństwie do wariantu 4 nie wykazano istotnych statystycznie różnic między krzywą symulowaną a kliniczną. Podobnie niską wartość p , lecz wyższą od progu istotności, dało porównanie wariantów 3 i 5 w grupie T3.

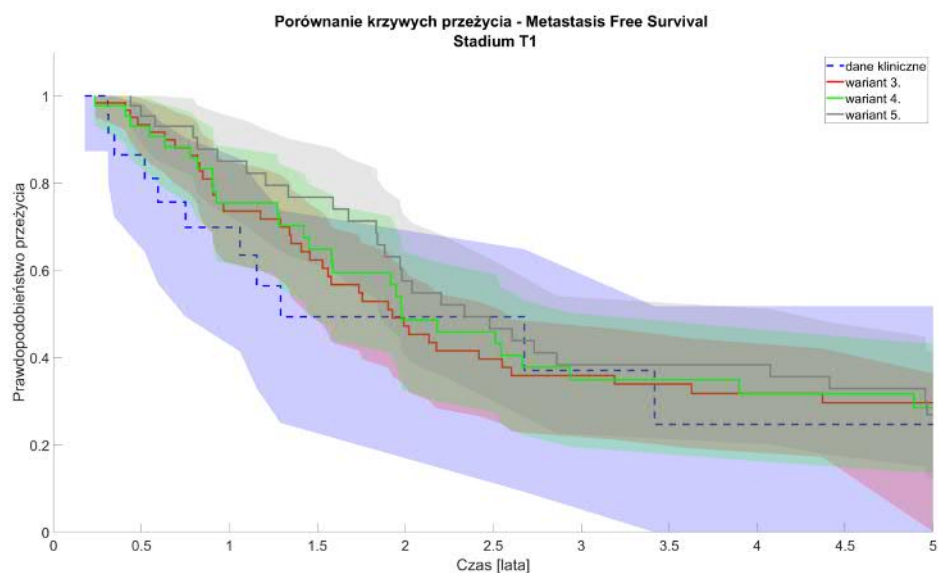
Wszystkie analizowane w tej części warianty do pewnego stopnia oddają charakter klinicznej krzywej przeżycia, co widoczne było dla analizy całości zbioru danych (Rysunek 3.7 i Tabela 3.5), jednak patrząc na zachowanie w poszczególnych podgrupach widoczne były większe różnice. Biorąc pod uwagę wykazanie istotnych statystycznie różnic między krzywymi dla wariantu 4, a danymi klinicznymi dla dwóch grup pacjentów oraz krzywą dla wariantu 3 i danymi klinicznymi dla najliczniejszej grupy pacjentów (T4), należy stwierdzić, że wariant 5 modelu jest bardziej uzasadniony w kontekście modelowania przeżycia całkowitego. Oznacza to, że niewielkie różnice w odwzorowaniu rozkładu terapii między analizowanymi wariantami (Rysunek 3.5 i Rysunek 3.6) przełożyły się na istotne różnice w jakości działania modelu. Jest to szczególnie istotne jeżeli rozważyć inne możliwe kohorty rzeczywiste, które niekoniecznie musi cechować obserwowany na Rysunku 3.4 powtarzający się w ramach terapii podział pacjentów według stadium.

Porównania dla podgrup pacjentów - przeżycie wolne od przerzutu

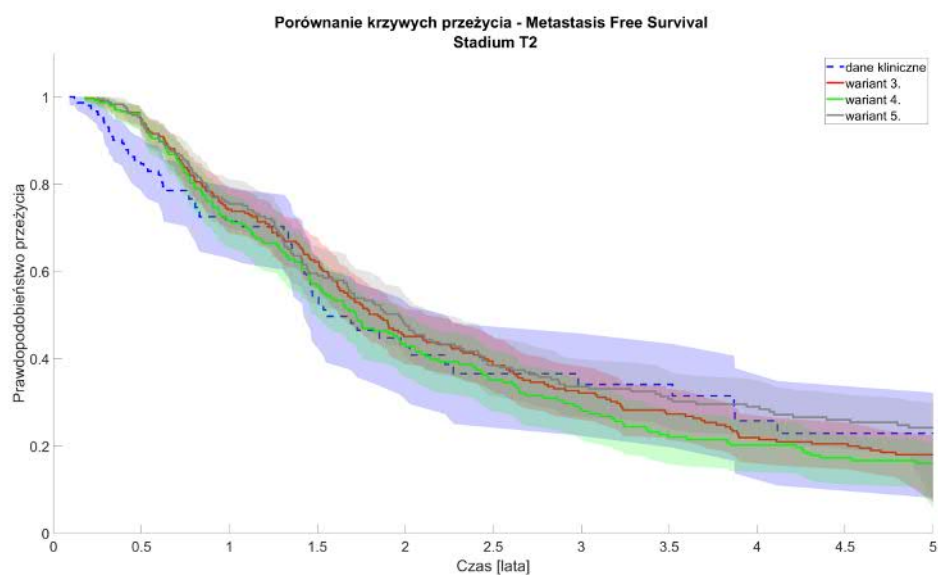
Analogicznie jak dla OS, w przypadku przeżycia wolnego od przerzutu wyniki dla podgrup zostały przedstawione: dla T1 na Rysunku 3.13, dla T2 na Rysunku 3.14, dla T3 na Rysunku 3.15 oraz dla T4 na Rysunku 3.16. Ponownie wykonano również porównanie danych dla wariantów modelu z danymi klinicznymi z użyciem testu log-rank, w przypadku każdego ze stadiów T. Wyniki w postaci wartości p testu dla MFS zebrano w Tabeli 3.8.

W przypadku pacjentów diagnozowanych w stadium T1 sytuacja dla MFS jest podobna jak dla OS - z uwagi na niewielką liczbę pacjentów (zaledwie 4.9%) przedziały ufności są bardzo szerokie, szczególnie dla krzywej klinicznej (Rysunek 3.13). Można za to zauważyć, że wyniki dla wariantów zachowują się podobnie i przewidują wyższe przeżycie niż w przypadku danych klinicznych na niemal całym horyzoncie czasowym badania. Równocześnie wyniki wariantu 5 są bardziej odległe od klinicznych niż dla wariantu 4. Krzywe dla wariantów 3 i 4 są mocno zbliżone.

Dla stadium T2 (Rysunek 3.14), zachowanie badanych krzywych jest inne. Ogólny kształt krzywej klinicznej został zachowany we wszystkich wariantach, lecz same krzywe różnią się między sobą, w szczególności dla dłuższych MFS (powyżej 2.5 roku). O ile w początkowym fragmencie (do 1 roku) krzywe dla wariantów niemal się pokrywają i

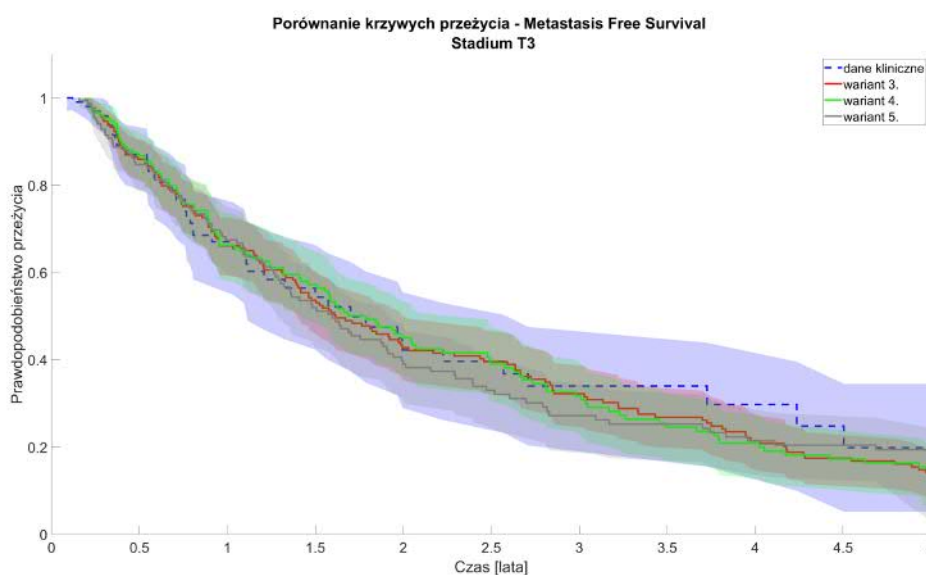


Rysunek 3.13: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T1.



Rysunek 3.14: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T2.

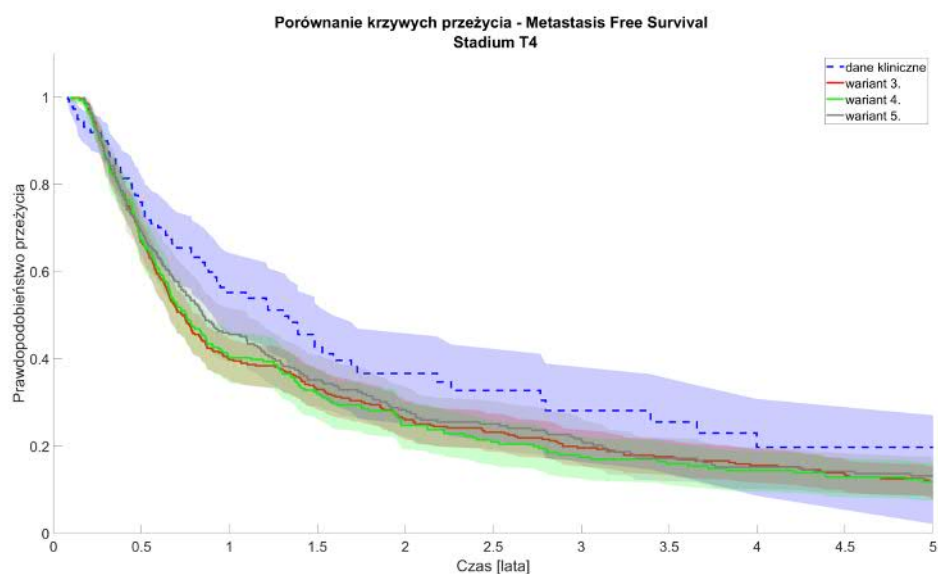
wykraczają poza przedział ufności dla danych klinicznych, o tyle później pojawiają się różnice. Przede wszystkim wariant 4 generuje niższe prawdopodobieństwa przeżycia niż wariant 5, co przybliża go do krzywej rzeczywistej na przedziale 1.5-2.5 roku, lecz oddala dla MFS wyższych niż 2.5 roku. Krzywa dla wariantu 3 w całym zakresie, za wyjątkiem okolic MFS równego 1.5 roku, przebiega pomiędzy krzywymi dla wariantów 4 i 5.



Rysunek 3.15: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T3.

Obserwacje wyników dla stadium T3 wskazują na inne zachowanie krzywych (Rysunek 3.15). Wyniki dla wariantów rozbiegają się jedynie dla MFS między 1.5 a 3 lata, w którym to przedziale krzywe dla wariantu 3 i 4 położone są bliżej klinicznej. W pozostałym zakresie wyniki dla wariantów niemal się pokrywają. Dla krótkich MFS (do ok. 1 roku) pokrywają się również z krzywą kliniczną, natomiast dla długich czasów przeżycia (powyżej trzech lat) wskazują na prawdopodobieństwo nieco niższe niż w rzeczywistości. W całości wyników krzywe dla wariantu 3 i 4 są zbliżone.

Ostatnie zestawienie, uzyskane dla pacjentów w stadium T4 przy diagnozie, pokazuje największe różnice między danymi klinicznymi a wynikiem działania modelu (Rysunek 3.16), potęgowane przez najwęższe przedziały ufności. Wyraźnie widoczne są znacznie niższe prawdopodobieństwa przeżycia prognozowane przez model dla MFS dłuższych niż 0.5 roku. Równocześnie w niemal całym horyzoncie czasowym (za wyjątkiem oko-



Rysunek 3.16: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T4.

lic MFS równego 1 rok) krzywe dla wszystkich wariantów są bardzo zbliżone, lecz to krzywa dla wariantu 5 pokazuje nieco wyższe prawdopodobieństwa przeżycia, co plasuje ją bliżej krzywej klinicznej.

Warto przypomnieć w tym miejscu pewien problem związany z modelowaniem czasu do przerzutu, poruszony w 3.3.2, a mianowicie możliwość występowania u pacjentów zdiagnozowanych jako M0 przerzutów o rozmiarze mniejszym niż próg wykrywalności. Jest to problem szczególnie istotny dla pacjentów diagnozowanych w późnych stadiach (szczególnie T4), u których prawdopodobieństwo wystąpienia takiej sytuacji jest wyższe z uwagi na zaawansowanie choroby. Wprawdzie sytuacja ta objawia się na krzywych Kaplana-Meiera w pobliżu ich początku, w postaci znacznej liczby pacjentów z krótkim MFS, jednak dobór parametrów mający pełnić rolę korekty skutkuje równocześnie obniżeniem prawdopodobieństwa przeżycia dla dłuższych czasów.

Dodatkowe spojrzenie na przedstawione porównania dają wyniki przeprowadzonego testu log-rank, zebrane w Tabeli 3.8.

W porównaniu do wyników uzyskanych dla całkowitego przeżycia, w przypadku MFS test log-rank wykazał istotność statystyczną jedynie w porównaniach wariantów z danymi klinicznymi w grupie pacjentów w stadium T4. Dotyczy to analizy wariantów 3

Tabela 3.8: Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia wolnego od przerzutów wybranych wariantów kohorty wirtualnej z danymi klinicznymi dla danych zgrupowanych według stadium T. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.

Test	p dla T1	p dla T2	p dla T3	p dla T4
kliniczne vs wariant 3.	0.61206	0.57841	0.78661	0.02930
kliniczne vs wariant 4.	0.54921	0.95461	0.85362	0.01877
kliniczne vs wariant 5.	0.75422	0.62256	0.38650	0.06664
wariant 3. vs wariant 4.	0.90522	0.39990	0.86257	0.93212
wariant 3. vs wariant 5.	0.61733	0.34947	0.95057	0.45484
wariant 4. vs wariant 5.	0.58090	0.28921	0.49276	0.45792

i 4, dla których już w badaniu OS wykryto istotne różnice. W przypadku wariantu 5 w tej grupie pacjentów wartość p testu jest niska (poniżej 0.1), lecz utrzymuje się powyżej progu związanego z 95% poziomem ufności. Dla wszystkich pozostałych analiz dotyczących MFS wartości p zwracane przez test log-rank były wysokie (powyżej 0.25), a dla części bardzo wysokie (powyżej 0.5), wyraźnie pokazując brak statystycznie istotnych różnic między porównywanymi krzywymi.

Analiza czasu wolnego od przerzutu potwierdziła wnioski wyciągnięte na podstawie badania OS. Mimo braku istotnych różnic między wariantami w większości testów i niekiedy również wizualnie lepszego dopasowania w przypadku wariantów 3 i 4, jedynie dla wariantu 5 w żadnym z testów nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między symulowaną i kliniczną funkcją przeżycia. Oznacza to, że zgodnie z pierwotnym założeniem kohorta wirtualna realizowana zgodnie z wariantem 5 jest najbardziej odpowiednią do odwzorowania danych rzeczywistych spośród analizowanych.

3.5 Podsumowanie i dyskusja

W ramach tego rozdziału wykorzystałem dostępny w literaturze model matematyczny rozwoju nowotworu płuc, uwzględniający wystąpienie przerzutu odległego. Bazując na danych dotyczących przeżycia pacjentów z tym typem nowotworu, dokonałem porównania przewidywań modelu z danymi rzeczywistymi dla różnych kohort wirtualnych. Wyszczególniłem kilka elementów procesu tworzenia kohorty wirtualnej, dla których można uwzględnić dodatkowe informacje dostępne w danych rzeczywistych. Następnie wykorzystałem krzywe Kaplana-Meiera oraz test statystyczny log-rank, aby

ocenić podobieństwo wyników działania modelu po uwzględnieniu kolejnych informacji z danych klinicznych, do rzeczywistej krzywej przeżycia. Analizę przeprowadziłem dla całości kohorty, jak również analizując jej podgrupy.

3.5.1 Podstawowa postać modelu

Planowanie terapii przeciwnowotworowej, jako problem sterowania w pętli otwartej, w dużej mierze zależy od jakości modelu matematycznego wykorzystywanego do przewidywania przebiegu choroby. Pomimo że w przedstawionej pracy nie przeprowadzono systematycznej analizy wpływu zmian struktury modelu na jego zachowanie, uzyskane wyniki jednoznacznie wykazały, że różnice wprowadzone na innych poziomach konstrukcji modelu prowadzą do istotnych rozbieżności w przewidywaniach oraz ich zgodności z danymi klinicznymi.

Tradycyjna analiza wrażliwości koncentruje się na badaniu wpływu zmian wartości parametrów modelu na generowane odpowiedzi. W niniejszym rozdziale zaprezentowano odmienne podejście, w którym uwaga została skierowana na populacyjny charakter uzyskiwanych rezultatów. W trakcie analiz wartości parametrów równań modelu, takich jak tempo wzrostu guza czy wrażliwość na zastosowane terapie, pozostawiono bez zmian. Metoda ich generowania zapewniała odpowiednią heterogeniczność symulowanej kohorty, pozwalając na zbadanie wpływu innych czynników.

Postanowiono zweryfikować wpływ warunków początkowych oraz stosowanej terapii na osiągane wyniki. Analizy dokonano jednak w ujęciu populacyjnym, a więc zachowując odpowiednie proporcje poszczególnych wartości cech w ramach całej wirtualnej kohorty. Warto dodatkowo podkreślić, że cechy te nie są względem siebie niezależne. Na przykład początkowa wielkość guza pierwotnego decyduje o tym, czy proces przerzutowania rozpocznie się, zanim terapia skutecznie doprowadzi do redukcji rozmiaru guza poniżej przyjętego progu. Z kolei wpływ obecności przerzutów w chwili diagnozy na dalszy przebieg choroby — w szczególności na przeżycie pacjenta — jest istotnie modyfikowany przez rodzaj zastosowanej terapii. W modelu przyjętym w rozdziale, radio-terapia oddziałuje wyłącznie na guz pierwotny, podczas gdy chemioterapia wykazuje działanie zarówno wobec guza pierwotnego, jak i przerzutów. W związku z tym u pacjentów, u których obecność przerzutów stwierdzono już w momencie rozpoznania i którzy zostali poddani chemioterapii, możliwe jest istotne ograniczenie liczby komórek

przerzutowych we wczesnej fazie rozwoju guza wtórnego. Może to skutecznie spowolnić dalszy wzrost przerzutu w porównaniu do scenariusza, w którym proces metastazy rozpoczyna się dopiero po zakończeniu cyklu leczenia.

Uzyskane wyniki analizowano w oparciu o dwojakie dane przeżyciowe - przeżycie całkowite oraz przeżycie wolne od przerzutu. Otrzymane czasy do zdarzenia porównywano w pierwszej kolejności w całości kohort, dokonując porównania wizualnego oraz z weryfikacji istotnych różnic pomiędzy nimi z wykorzystaniem testu statystycznego log-rank. Takie podejście pozwoliło na wykazanie istotności uwzględnienia podstawowych cech kohorty rzeczywistej, takich jak stadium początkowe choroby oraz stosowana terapia. Jednocześnie nie było ono dostatecznie szczegółowe, aby zbadać dalsze założenia dotyczące budowy kohorty wirtualnej. W tym celu rozszerzono porównanie między wynikami działania modelu a danymi klinicznymi o analizę dla podgrup pacjentów. Zdecydowano o rozdzieleniu pacjentów według stadium T i weryfikacji otrzymanych w ten sposób cząstkowych funkcji przeżycia. Przeprowadzona w ten sposób analiza wykazała dla części podgrup (w tym dla najsilniej reprezentowanego stadium T4) statystyczną istotność różnic między danymi rzeczywistymi a wynikami modelu w sytuacji nieuwzględnienia bardziej szczegółowych charakterystyk kohorty klinicznej: początkowego rozmiaru przerzutu oraz uwzględnienia, że stadium choroby przy diagnozie może wpływać na decyzję o stosowanej terapii. Uzyskana w wyniku uwzględnienia wszystkich tych założeń kohorta symulacyjna pozwoliła na uzyskanie funkcji przeżycia, zarówno dla OS, jak i MFS, dla których nie wykazano statystycznie istotnych różnic względem danych rzeczywistych.

3.5.2 Modyfikacja modelu - prawdopodobieństwo przerzutu w oparciu o zmiany wewnątrzkomórkowe

Jednym z najbardziej sztucznych i nieoddających prawdziwego charakteru zjawisk elementów modelu jest przełącznik określający rozpoczęcie procesu migracji komórek nowotworowych. Uzależnienie rozpoczęcia tego procesu od przekroczenia przez guz pierwotny określonego, arbitralnie przyjętego progu nie oddaje bardziej ciągłej natury tego zjawiska.

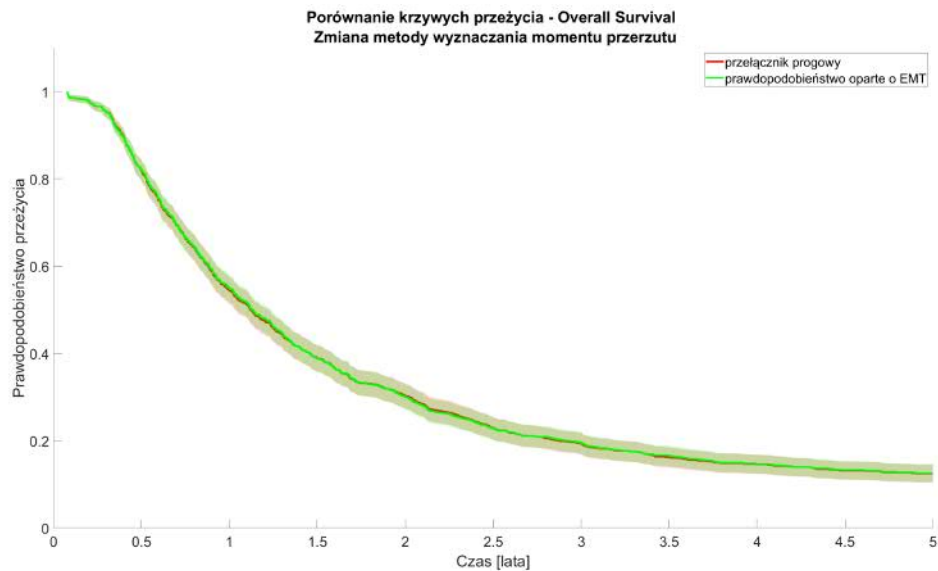
Sytuację tę można poprawić, wykorzystując wiedzę dotyczącą nabywania przez komórki zdolności migracyjnych na drodze przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT,

szczegółowo omówionego w rozdziale 4). Wiedząc, że warunkiem niezbędnym do tego, aby komórki nowotworowe opuściły guz pierwotny, jest powstanie frakcji o fenotypie mezenchymalnym, można założyć, że prawdopodobieństwo rozpoczęcia procesu migracji będzie proporcjonalne do liczebności tej grupy komórek. Poprzez połączenie modelu przejścia EMT z rosnącą populacją komórek oraz śledzenie fenotypu każdej komórki możliwe jest określenie momentu powstania pierwszej komórki mezenchymalnej. Co więcej, otrzymać można przebieg liczby takich komórek w czasie, który następnie może zostać przekształcony do postaci dystrybuanty rozkładu prawdopodobieństwa wystąpienia przerzutu.

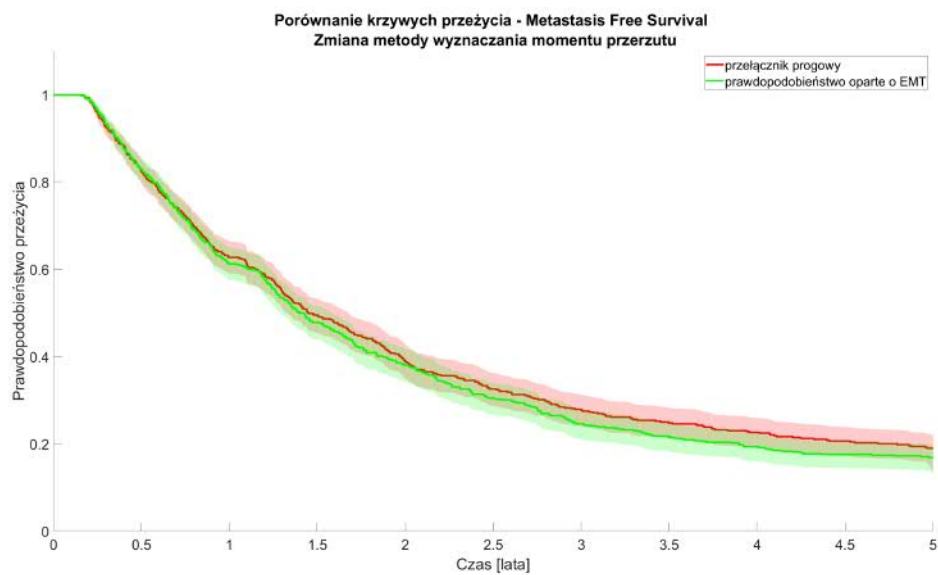
Proces ten można śledzić rozpoczynając od dowolnie wybranej początkowej liczby komórek nowotworowych. Należy jednak pamiętać, że czasy otrzymane w tej procedurze zależne są od punktu startowego. Aby móc zastosować otrzymane prawdopodobieństwa, niezbędne jest określenie, ile czasu musiało upłynąć między diagnozą a momentem, gdy rozmiar guza odpowiadał początkowej liczbie komórek w modelu EMT. Na Rysunkach 3.17 i 3.18 przedstawiono przykładowe porównanie krzywych przeżycia (dla odpowiednio OS i MFS) dla wariantu 5, opisanego w 3.4.2 oraz przy pewnych wartościach parametrów modelu EMT dla momentu przerzutowania określonego, jak opisano powyżej. Pozostałe aspekty modelu opisane w niniejszym rozdziale nie różniły się między oboma analizowanymi przypadkami.

W przedstawionych wstępnych wynikach widać wyraźnie, że w przypadku przeżycia całkowitego, wykorzystując model przejścia epitelialno-mezenchymalnego, udało się osiągnąć niemal identyczną krzywą jak w przypadku arbitralnego progu. Większą różnicę widać w przypadku czasu wolnego od przerzutu. W tym przypadku krzywa przeżycia dla przypadku, gdy prawdopodobieństwo przerzutu wyznaczano na podstawie modelu EMT, plasuje się poniżej krzywej dla arbitralnego progu, co oznacza przewidywane mniejsze prawdopodobieństwa przeżycia. Warto jednak zauważyć, że kształt i charakter krzywych są bardzo zbliżone, co sugerować może, że różnica wynika jedynie z wykorzystanych w przykładzie wartości parametrów modelu EMT.

Patrząc całościowo, wykorzystanie modelu przejścia epitelialno-mezenchymalnego do określenia momentu wystąpienia przerzutu wydaje się rozsądną metodą wprowadzenia elementu o interpretacji biologicznej do modelu, w miejsce sztucznego i arbitralnego przełącznika opartego na progowej wielkości guza. Przykładowe wyniki pokazują, że możliwe jest uzyskanie podobnych funkcji przeżycia. Minusem takiego podejścia jest



Rysunek 3.17: Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla różnych metod określenia momentu przerzutu.



Rysunek 3.18: Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla różnych metod określenia momentu przerzutu.

natomiast niewątpliwie istotne zwiększenie liczby parametrów, których wartości należy określić, gdyż zamiast pojedynczej wartości progu, wprowadzany jest model dynamiczny o wielu równaniach różniczkowych.

Rozdział 4

Poziom wewnątrzkomórkowy

4.1 Wprowadzenie

Wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe odgrywają kluczową rolę w przekazywaniu informacji pomiędzy elementami komórki, umożliwiając jej odpowiedź na bodźce środowiskowe oraz koordynację procesów wewnętrznych. Są to złożone sieci oddziaływań molekularnych, w których sygnał inicjowany przez zewnętrzny czynnik – taki jak hormon, cytokinę czy bodziec mechaniczny – jest przekształcany i przekazywany przez kaskady białkowe, prowadząc do zmian w ekspresji genów, metabolizmie lub innych aspektach funkcjonowania komórki [91].

Wśród najczęściej badanych szlaków sygnałowych znajdują się m.in. szlak p53/Mdm2 [42, 60], szlak MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinase*) [33, 73], szlak Notch [29, 28] czy szlak NF- κ B [100, 143, 40]. Ze względu na ich znaczenie biologiczne oraz powiązania z wieloma chorobami, w tym nowotworami, modele matematyczne tych szlaków stały się przedmiotem intensywnych badań.

Modele matematyczne szlaków sygnałowych przyjmują różne formy, w zależności od celu analizy i dostępnych danych eksperymentalnych [219, 107]. Do najczęściej stosowanych należą modele oparte na układach równań różniczkowych, w szczególności równań różniczkowych zwyczajnych (ang. *ordinary differential equations*, ODE) [39]. W niektórych przypadkach stosuje się również inne podejścia, takie jak sieci Boolowskie [96, 247], modele stochastyczne [84, 110] czy sieci Petriego [170, 88].

W inżynierii systemów dynamicznych opracowano szereg sprawdzonych struktur

regulacji, które znajdują szerokie zastosowanie w przemysłowej automatyce oraz systemach sterowania. Struktury te, bazujące na formalnych podstawach teorii sterowania, służą do zapewnienia stabilności układu, redukcji błędów regulacji oraz odpowiedniego zachowania dynamicznego w odpowiedzi na zmienne warunki zewnętrzne.

Jedną z najprostszych, a zarazem najczęściej wykorzystywanych struktur jest regulacja w oparciu o sprzężenia zwrotne (ang. *feedback control*), w której sygnał wyjściowy układu jest porównywany z sygnałem zadany, a różnica (uchyb regulacji) służy do korygowania działania układu. Rozszerzeniem tej struktury jest klasyczny regulator PID (proporcjonalno-całkująco-różniczkujący), który łączy trzy składniki: proporcjonalny (reagujący na bieżącą wartość błędu), całkujący (akumulujący błąd w czasie) oraz różniczkujący (uwzględniający tempo zmian błędu). Dzięki temu możliwe jest osiągnięcie dobrej jakości regulacji w szerokim zakresie warunków pracy [20].

Innym podejściem, stosowanym często w połączeniu ze sprzężeniem zwrotnym, jest regulacja ze sprzężeniem w przód (ang. *feedforward control*). W tym przypadku sygnał sterujący jest modyfikowany na podstawie informacji o znanych lub przewidywalnych zakłóceniach – zanim jeszcze zdążą one wpłynąć na wyjście układu. Podejście to pozwala na szybsze reagowanie na zmiany warunków pracy, jednak wymaga znajomości modelu oddziaływania zakłócenia na układ. Co istotne, sprzężenie w przód może być stosowane nie tylko w odniesieniu do zakłóceń, ale również w odniesieniu do wartości zadanej, co umożliwia wygenerowanie toru sterowania dopasowanego do zmieniającego się sygnału odniesienia [131, 145]. Połączenie obu typów sprzężeń – w przód i zwrotnego (ang. *feedback-feedforward*) – jest szczególnie efektywne: podczas gdy sprzężenie zwrotne odpowiada za eliminację błędów wynikających z niepewności modelu lub nieprzewidywanych zakłóceń, sprzężenie w przód minimalizuje wpływ znanych zaburzeń i przyspiesza odpowiedź układu. Tego rodzaju struktury hybrydowe są szeroko stosowane w praktyce przemysłowej, zwłaszcza tam, gdzie istotna jest zarówno dokładność regulacji, jak i szybkość reakcji.

W bardziej złożonych zastosowaniach przemysłowych często wykorzystuje się hierarchiczne struktury sterowania, w których różne poziomy regulacji odpowiadają za różne aspekty działania systemu. Przykładem takiego podejścia jest regulacja kaskadowa (ang. *cascade control*), w której układ nadrzędny steruje wartością zadaną dla jednego lub więcej podrzędnych regulatorów, z których każdy odpowiada za kontrolę określonego podukładu. Kaskadowa struktura regulacji pozwala na szybsze tłumienie zakłóceń

w wewnętrznych częściach systemu, zanim zdążą one wpłynąć na jego wyjście. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie większej precyzji i stabilności całego procesu, zwłaszcza w systemach wieloetapowych lub o dużej inercji [71, 150]. Na wyższych poziomach hierarchii mogą być stosowane regulatory nadzorujące, modyfikujące działanie całego układu na podstawie szerszego kontekstu operacyjnego, w tym danych ekonomicznych, prognoz popytu czy strategii planowania produkcji.

Tego rodzaju podejścia są również inspiracją dla projektowania syntetycznych sieci regulacyjnych w biologii, w których złożone zachowania komórkowe wynikają ze współdziałania wielu warstw kontroli molekularnej. Obserwowany w ostatnich latach dynamiczny rozwój biologii syntetycznej umożliwił celowe projektowanie i wdrażanie zarówno modyfikacji istniejących szlaków, jak i nowych szlaków sygnałowych w komórkach. Przykładem zastosowania takiego podejścia jest projektowanie regulatorów z rodziny PID - od prostego regulatora całkującego [5], przez dołączenie części proporcjonalnej [72] aż po pełny regulator PID [68]. Podobnie struktura kaskadowa została wykorzystana w pracach biologii syntetycznej pod różnymi nazwami: *layered feedback* (warstwowe sprzężenie zwrotne) [108], *multi-level circuit* (obwód wielopoziomowy) [80] czy *hierarchical control* (sterowanie hierarchiczne) [167].

Również w analizie istniejących szlaków sygnałowych widoczne jest zainteresowanie analizą poszczególnych komponentów odpowiedzialnych za regulację, wyrażoną w poszukiwaniu motywów funkcjonalnych (ang. *functional motifs*) [237]. Najczęściej poszukiwanym i znajdowanym motywem jest sterowanie ze sprzężeniem w przód [238, 244]. Jednakże z punktu widzenia technicznego rozumienia takiego sterowania, jak przedstawiono w [212], często motyw ten nie jest sterowaniem typu feedback-feedforward, lecz po prostu połączeniem równoległym elementów dynamicznych [205, 75].

Wynika stąd, że identyfikacja w modelach naturalnych szlaków sygnałowych struktur regulacyjnych wykazujących analogie strukturalne i funkcjonalne do klasycznych układów sterowania stosowanych w inżynierii systemów mogłaby otworzyć nowe możliwości zarówno na gruncie analizy biologicznej, jak i projektowania syntetycznych układów regulacyjnych. Z jednej strony, umożliwiłoby to wykorzystanie sprawdzonych koncepcji teorii sterowania jako punktu odniesienia przy konstruowaniu złożonych sieci molekularnych. Z drugiej strony, wiedza na temat zachowania technicznych struktur regulacji mogłaby zostać zaadaptowana do opisu i prognozowania dynamiki procesów biologicznych, prowadząc do bardziej systematycznego podejścia w analizie i inżynierii

szlaków sygnałowych.

4.2 Szlak sygnałowy EMT oraz struktura ze sprzężeniem w przód

Analizę na poziomie modeli wewnątrzkomórkowych postanowiono zrealizować w oparciu o szlak sygnałowy przejścia epitelialno-mezenchymalnego. Wybór taki spowodowany był z jednej strony kontynuacją prac dotyczących modeli rozwoju nowotworów z przerzutami, opisanymi w rozdziale 3, a z drugiej wstępnymi wynikami pokazującymi, że jest to obiecujący szlak do poszukiwania struktur sterowania.

Spośród zaawansowanych struktur sterowania, wykorzystywanych w zastosowaniach przemysłowych, postanowiono skoncentrować się w pierwszej kolejności na najprostszych i najczęściej stosowanych. Po wstępnej analizie uznano strukturę sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód za odpowiedni przykład do weryfikacji proponowanego podejścia.

4.2.1 Szlak sygnałowy EMT

Przejście epitelialno-mezenchymalne (ang. *epithelial-mesenchymal transition*, EMT) jest to proces, w którym komórki o fenotypie epitelialnym - spolaryzowane, tworzące liczne połączenia międzykomórkowe i silnie oddziałujące z błoną podstawną - tracą swoją polaryzację i zdolność łączenia się z innymi komórkami, stając się komórkami mezenchymalnymi [258]. Cechują się one zwiększoną zdolnością migracji i inwazji, wyższą odpornością na apoptozę, a także zmianami strukturalnymi w cytoszkieletcie [119, 258]. Utrata cech epitelialnych przez komórki jest procesem stopniowym, prowadzącym do wytworzenia fenotypów mieszanych epitelialno-mezenchymalnych [136]. Co więcej, EMT jest procesem odwracalnym, a więc komórki mezenchymalne mogą powrócić do fenotypu epitelialnego poprzez tzw. przejście mezenchymalno-epitelialne (ang. *mesenchymal-epithelial transition*, MET) [258].

EMT zachodzi naturalnie w okresie rozwoju zarodkowego kręgowców [95] oraz pełni kluczową rolę w procesie gojenia ran [218, 112]. W przypadku nowotworów powstanie komórek zdolnych do migracji wiąże się z możliwością powstawania przerzutów [124,

242].

Inicjalizacja szlaku sygnałowego, prowadzącego do EMT, może nastąpić na skutek wielu różnych czynników, takich jak HIF-1 α , p53, TGF- β , HGF, FGF, EGF czy Notch; z których najważniejszy jest TGF- β [233, 136]. Powodują one zmiany ekspresji czynników transkrypcyjnych Slug, Snail, Twist, Zeb1 oraz Zeb2 [233], a w konsekwencji spadek ekspresji markerów fenotypu epitelialnego (m. in. E-kadhedryny, kladyn czy okludyn) [209], oraz wzrost ekspresji markerów fenotypu mezenchymalnego (takich jak N-kadhedryna czy wimentyna) [189].

Model matematyczny szlaku EMT

Spśród wielu modeli matematycznych opisujących interakcje występujące w szlaku EMT, do analizy wybrany został model zaproponowany przez Lu i współautorów w 2013 roku [149]. Choć jest to propozycja sprzed kilkunastu lat, ma ona szereg zalet w kontekście omawianego w niniejszym rozdziale podejścia. Między innymi jest to model wielokrotnie cytowany [188, 210], którego różne aspekty zostały zweryfikowane w późniejszych pracach, zarówno obliczeniowych [141, 208], jak i eksperymentalnych [118, 206], a także na jego podstawie budowane były bardziej złożone modele uwzględniające więcej czynników [141, 208, 207, 116]. Dodatkowo ma on niewielki rozmiar, co ułatwia weryfikację proponowanych metod.

Model ten opiera się na interakcjach 6 zmiennych reprezentujących następujące molekuly: białka Snail (S) oraz Zeb (Z), ich mRNA (mS i mZ), a także dwa mikroRNA - miR-34 (μ_{34}) i miR-200 (μ_{200}). Dodatkowo obecny jest jeden sygnał zewnętrzny (I), reprezentujący wiele możliwych związków, jak TGF- β , HGF, czy NF- κ B. Model nie uwzględnia wprost markerów fenotypów epitelialnego i mezenchymalnego - E-kadhedryny i N-kadhedryny, lecz wnioskuje o fenotypie na podstawie poziomów mikroRNA oraz białek już uwzględnionych w modelu. Sześć równań różniczkowych tworzących model zostało przedstawionych w Równaniach 4.1 - 4.6.

$$\frac{d\mu_{200}}{dt} = g_{\mu_{200}} H^S(Z, \lambda_{Z\mu_{200}}) H^S(S, \lambda_{S\mu_{200}}) - m_Z Y_\mu(\mu_{200}) - k_{\mu_{200}} \mu_{200} \quad (4.1)$$

$$\frac{dm_Z}{dt} = g_{m_Z} H^S(Z, \lambda_{Zm_Z}) H^S(S, \lambda_{Sm_Z}) - m_Z Y_m(\mu_{200}) - k_{m_Z} m_Z \quad (4.2)$$

$$\frac{dZ}{dt} = g_Z m_Z L(\mu_{200}) - k_Z Z \quad (4.3)$$

$$\frac{d\mu_{34}}{dt} = g_{\mu_{34}} H^S(Z, \lambda_{Z\mu_{34}}) H^S(S, \lambda_{S\mu_{34}}) - m_S Y_\mu(\mu_{34}) - k_{\mu_{34}} \mu_{34} \quad (4.4)$$

$$\frac{dm_S}{dt} = g_{m_S} H^S(I, \lambda_{Im_S}) H^S(S, \lambda_{Sm_S}) - m_S Y_m(\mu_{34}) - k_{m_S} m_S \quad (4.5)$$

$$\frac{dS}{dt} = g_S m_S L(\mu_{34}) - k_S S \quad (4.6)$$

W równaniach tych parametry g_i oznaczają tempa produkcji, a k_i tempa degradacji poszczególnych związków. H^S oznacza przesuniętą funkcję Hilla, o parametrze Hilla λ , zdefiniowaną jak w Równaniu 4.7.

$$H^S(B, \lambda) = H^-(B) + \lambda H^+(B), \quad (4.7)$$

$$H^-(B) = \frac{1}{1 + (\frac{B}{B_0})^{n_B}}, \quad H^+(B) = 1 - H^-(B)$$

Funkcje $Y_\mu(\mu)$, $Y_m(\mu)$ oraz $L(\mu)$ związane są z wpływem miRNA odpowiednio na degradację miRNA i mRNA, a także na translację białek. Postaci tych funkcji, wykorzystywane w modelu, przedstawiają Równania 4.8, 4.9 i 4.10

$$Y_\mu(\mu) = \sum_{i=0}^n \gamma_{\mu i} \frac{n!}{i!(n-i)!} \frac{(\frac{\mu}{\mu_0})^i}{(1 + \frac{\mu}{\mu_0})^n} \quad (4.8)$$

$$Y_m(\mu) = \sum_{i=0}^n \gamma_{mi} \frac{n!}{i!(n-i)!} \frac{(\frac{\mu}{\mu_0})^i}{(1 + \frac{\mu}{\mu_0})^n} \quad (4.9)$$

$$L(\mu) = \sum_{i=0}^n l_i \frac{n!}{i!(n-i)!} \frac{(\frac{\mu}{\mu_0})^i}{(1 + \frac{\mu}{\mu_0})^n} \quad (4.10)$$

W równaniach tych uwzględnione jest występowanie wielu miejsc wiązania miRNA (jako parametr n) oraz możliwość, że w różnym czasie różna liczba miejsc wiązania

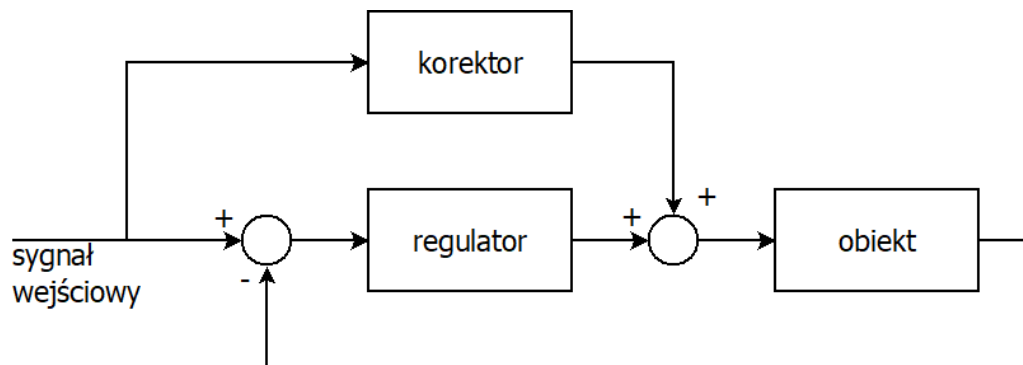
jest już zajęta przez cząsteczki miRNA (parametr i). Człon kombinatoryczny uwzględnia wszystkie możliwe konfiguracje zajmowania miejsc wiązania przez miRNA. Z kolei parametry $\gamma_{\mu i}$, γ_{mi} i l_i reprezentują tempa degradacji i translacji związane z zajęciem i miejsc przez miRNA.

4.2.2 Struktura sterowania oparta o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od sygnału wejściowego

Podstawową strukturą wykorzystywaną w technicznych problemach sterowania jest pętla sprzężenia zwrotnego [93]. Jest ona również szeroko przyjęta jako element struktury szlaków sygnałowych [30, 175].

W rozdziale 2, podczas omawiania struktur sterowania, wprowadzona została idea sterowania ze sprzężeniem w przód, w którym dodatkowy sygnał dotyczył zewnętrznego zakłócenia (2.2.3). Jednakże, strukturę tę można również zastosować, wykorzystując ten sam sygnał wejściowy, co w przypadku sprzężenia zwrotnego [131]. Celem takiego podejścia nie jest zwiększenie odporności układu regulacji, lecz przyspieszenie jego działania w przypadku zmian sygnału wejściowego.

Schemat blokowy takiego wariantu struktury przedstawiony jest na Rysunku 4.1.



Rysunek 4.1: Schemat blokowy idealnej struktury opartej o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od sygnału wejściowego.

Zarówno ścieżka sprzężenia w przód, jak i ścieżka sprzężenia zwrotnego zawierają niezależne elementy modyfikujące odpowiednio sygnał wejściowy i uchyb regulacji. Zwyczajowo nazwa regulator zachowana jest dla sprzężenia zwrotnego, podczas gdy w ścieżce sprzężenia w przód mowa jest o korektorze.

Poza cechami wynikającymi z poszczególnych typów sprzężeń, struktura typu feedback-feedforward charakteryzuje się jeszcze jedną właściwością, która będzie kluczowa w procesie rozpoznawania występowania struktury w modelach szlaków sygnałowych - większą wrażliwością wyjścia na zmiany w ścieżce sprzężenia w przód niż na zmiany w ścieżce sprzężenia zwrotnego. Cecha ta objawia się wyraźnie w pracach dotyczących projektowania pętli sprzężenia w przód, gdzie zaznaczana jest istotność odpowiedniego zaprojektowania korektora [214, 61].

4.3 Metodyka prowadzonych badań

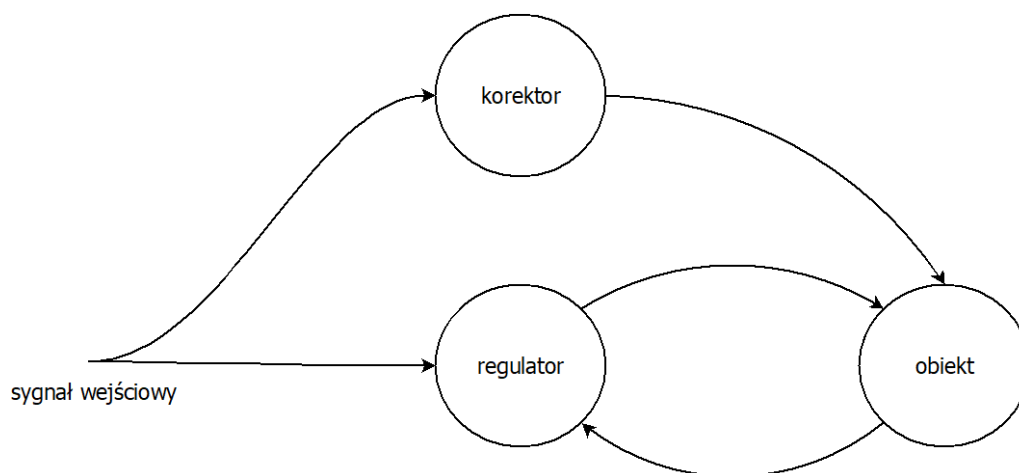
Poszukiwanie w modelu szlaku sygnałowego zależności odpowiadających strukturze sterowania opartej o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód jest procesem wieloetapowym. Pierwszym etapem jest znalezienie odpowiedniego zestawu zmiennych, których wzajemne powiązania dopuszczają wystąpienie poszukiwanej struktury. Następnie, tak znalezione zbiory należy dalej zweryfikować, biorąc pod uwagę specyficzną postać związków między zmiennymi. Ostatecznie sprawdzić należy, czy zachowanie znalezionej struktury jest zgodne z oczekiwaniami i wiedzą dotyczącą technicznych układów sterowania.

4.3.1 Analiza grafu zależności

Oddziaływania pomiędzy poszczególnymi elementami modelu szlaku sygnałowego można jakościowo przedstawić w postaci grafu, gdzie każdy wierzchołek reprezentuje jedną zmienną, a dokładniej fragment modelu odpowiedzialny za wyznaczenie tej zmiennej; każda krawędź z kolei, oddziaływanie między zmiennymi. Z uwagi na możliwy brak wzajemności oddziaływania, graf taki musi być skierowany. W takim przypadku krawędzie prowadzą od zmiennej oddziałującej do zmiennej, na którą ona oddziałuje.

Strukturę typu feedback-feedforward również można przedstawić w postaci grafu skierowanego. Taką reprezentację schematu blokowego przedstawionego w sekcji 4.2.2 pokazano na Rys. 4.2.

W ramach grafu utrzymane zostały relacje między sygnałami w ramach struktury: sygnałem wejściowym, sygnałem sterującym oraz sygnałem wyjściowym. Wierzchołki grafu powiązane z tymi sygnałami można interpretować jako regulator pętli sprzężenia



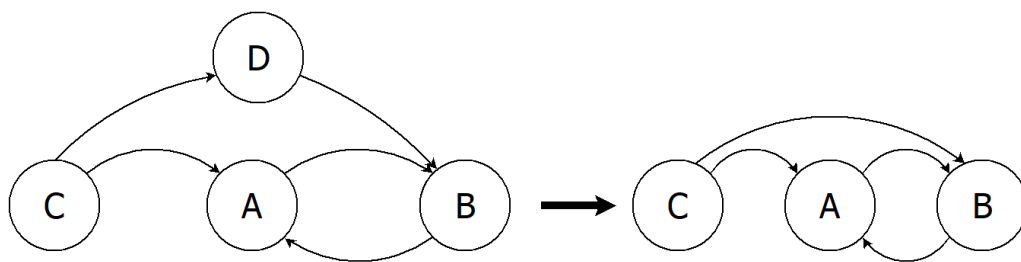
Rysunek 4.2: Graf odpowiadający strukturze typu feedback-feedforward

zwrotnego, korektor sprzężenia w przód oraz obiekt regulacji. W szczególności możliwe jest, aby korektor sprzężenia w przód nie występował jako oddzielny element dynamiczny. Wtedy sprzężenie w przód będzie jedynie wzmocnieniem o wartości 1.

Pierwszym krokiem sprawdzenia występowania struktur typu feedback-feedforward w modelu szlaku sygnałowego jest poszukiwanie w jego grafowej reprezentacji fragmentów, których struktura powiązań odpowiada przedstawionej na Rys. 4.2. Każdy znaleziony w ten sposób zbiór węzłów należy traktować jako kandydata na sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód. Struktura przedstawiona na Rys. 4.2 odpowiada pełnej strukturze typu feedback-feedforward, w której każdy z elementów sterowania jest układem dynamicznym. Możliwe jest, aby sprzężenie w przód było zrealizowane jako element statyczny - funkcję sygnału wejściowego. W takiej sytuacji graf połączeń może ulec uproszczeniu do postaci z Rys. 4.3. Dodatkowo przyjęto jedno założenie dotyczące elementów składowych struktury - regulator oraz obiekt są reprezentowane przez jedną zmienną (a więc odpowiadają pojedynczej częsteczce w szlaku), korektor zaś jest reprezentowany przez co najwyżej jedną zmienną.

4.3.2 Weryfikacja kandydatów w oparciu o równania

Każdy kandydat na poszukiwaną strukturę składa się ze zbioru węzłów, którym można przypisać odpowiednie role w strukturze sterowania. Aby zweryfikować, czy znaleziony kandydat rzeczywiście odpowiada poszukiwanej strukturze sterowania, należy spraw-



Rysunek 4.3: Uproszczenie grafu struktury dla przypadku statycznego sprzężenia w przód.

dzić występowanie odpowiednich węzłów sumacyjnych, zapewniających pożądany przy sprzężeniu w przód rozptyw sygnałów. Węzły te są ściśle określone przez rolę poszczególnych wierzchołków w grafie struktury, a więc:

- wyjścia regulatora sprzężenia zwrotnego oraz korektora sprzężenia w przód muszą wchodzić do węzła sumacyjnego, którego wyjście wchodzi do obiektu regulacji - węzeł realizujący sprzężenie w przód;
- wyjście obiektu oraz sygnał wejściowy muszą wchodzić do węzła sumacyjnego, którego wyjście wchodzi do regulatora sprzężenia zwrotnego - węzeł realizujący sprzężenie zwrotne.

Weryfikacja podanych węzłów odbywa się poprzez analizę równań modelu związanych z wierzchołkiem spełniającym w kandydacie rolę obiektu regulacji (dla węzła realizującego sprzężenie w przód) oraz równań związanych z wierzchołkiem spełniającym rolę regulatora (dla węzła realizującego sprzężenie zwrotne). W szczególności muszą w równaniach występować zależności przedstawione w Równaniu 4.11 dla sprzężenia w przód oraz Równaniu 4.12 dla sprzężenia zwrotnego.

$$\begin{aligned} \frac{dx_{\text{obiett}}}{dt} = & f_0(x_{\text{obiett}}, x_{\text{regulator}}, x_1, \dots, x_n) + \\ & + g_0(x_{\text{obiett}}, x_{\text{korektor}}, x_{\text{wejście}}, x_1, \dots, x_n) + \\ & + h_0(x_{\text{obiett}}, x_1, \dots, x_n) \end{aligned} \quad (4.11)$$

$$\begin{aligned} \frac{dx_{\text{regulator}}}{dt} = & f_r(x_{\text{regulator}}, x_{\text{obiett}}, x_1, \dots, x_n) + \\ & + g_r(x_{\text{regulator}}, x_{\text{wejście}}, x_1, \dots, x_n) + \\ & + h_r(x_{\text{regulator}}, x_1, \dots, x_n) \end{aligned} \quad (4.12)$$

W równaniach 4.11 i 4.12 x_{obiett} i $x_{\text{regulator}}$ oznaczają zmienne opisujące odpowiednio

wierzchołek pełniący rolę obiektu oraz wierzchołek pełniący rolę regulatora w kandydacie. $x_{wejście}$ oznacza sygnał wejściowy, a więc zmienną modelu lub zewnętrzne wymuszenie, powodujące reakcję struktury. Jako $x_1, \dots, x_n$ oznaczono pozostałe zmienne modelu. Wyrazy wyrażające zależność jedynie od zmiennej, której pochodna liczona jest w danym równaniu, traktowane są jako zależności tworzące dany element dynamiczny (obiekt, regulator czy korektor) - w przypadku równań analizowanego modelu będą to wyrażenia związane z niewymuszoną degradacją, prowadzące do dynamiki typu inercja pierwszego rzędu.

Równania te są bardziej ogólne niż sugerowałaby definicja struktury typu sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód. Dopuszczamy, aby pozostałe zmienne modelu mogły bezpośrednio wpływać na połączenia między elementami struktury, narzucamy jedynie oddzielenie ścieżki sprzężenia w przód od pętli sprzężenia zwrotnego. Założenie to wynika z

4.3.3 Narzędzie do automatycznego poszukiwania struktur

Poszukiwanie kandydatów, a następnie ich weryfikacja zgodnie z procedurą opisaną w poprzednich podsekcjach, dokonywana ręcznie, jest procesem żmudnym i czasochłonnym. Równocześnie schemat postępowania zbudowany jest jak algorytm, co daje możliwość automatyzacji poszukiwań. W tym celu opracowano oprogramowanie w języku Python, które na podstawie wprowadzonych w formie tekstu równań modelu odnajduje kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward, a następnie dokonuje ich weryfikacji. Automatyczne wyszukiwanie kandydatów dotyczy modeli stworzonych w oparciu o ODE i zapisanych w postaci równań stanu. Równania muszą zostać podane z zachowaniem schematów zapisu operacji matematycznych: każda operacja musi zostać podana jawnie, dzielnik każdej operacji dzielenia musi zostać zapisany pomiędzy znakami '(/', a ')', a użyte funkcje zapisane w postaci 'nazwa(arg1, arg2, ...)'

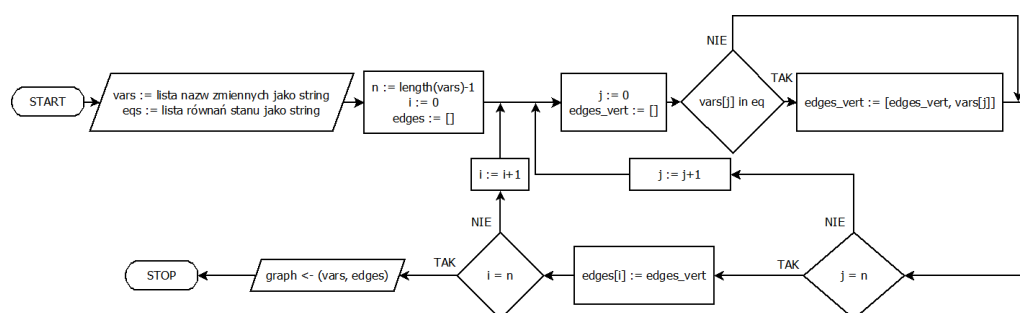
Procedurę poszukiwania zgodnie z algorytmem można podzielić na 3 etapy:

- utworzenie grafu oddziaływań między zmiennymi;
- uzyskanie listy kandydatów w postaci zbiorów wierzchołków;
- weryfikacja każdego kandydata w oparciu o odpowiednie równania modelu.

Dla każdego z etapów można stworzyć schemat blokowy algorytmu, którego realizacją są poszczególne funkcje stworzonego skryptu.

Tworzenie grafu oddziaływań

Utworzenie grafu oddziaływań na podstawie równań wymaga określenia listy ciągów znaków oznaczających zmienne modelu. Następnie, wiedząc że jedno równanie stanu określa dokładnie zachowanie jednej zmiennej, można określić poprzedniki aktualnie rozważanej zmiennej w grafie jako wierzchołki reprezentujące te zmienne, które obecne są w równaniu opisującym rozważaną zmienną. Schemat blokowy realizujący to podejście przedstawia Rys. 4.4.



Rysunek 4.4: Schemat blokowy algorytmu określania grafu oddziaływań

Algorytm przeszukuje kolejne równania modelu i zapisuje zmienne występujące w wyrażeniu określającym pochodną zmiennej stanu. Wystąpienie jakiegokolwiek zmiennej oznacza istnienie krawędzi w grafie, od wykrytej zmiennej do zmiennej stanu analizowanego równania. Po sprawdzeniu wszystkich zmiennych, algorytm zapisuje listę zmiennych, które zostały wykryte, przechodzi do następnego równania i powtarza procedurę. Po przejściu wszystkich równań ostateczna lista krawędzi jest łączona z informacją o zmiennych jako wierzchołkach i razem tworzą graf oddziaływań.

Określanie listy kandydatów

Uzyskanie grafu powiązań dla modelu umożliwia poszukiwanie zbiorów wierzchołków, które spełniają wzajemne relacje przedstawione na Rys. 4.2, a więc są potencjalnymi miejscami występowania struktury typu feedback-feedforward. Pierwszym krokiem jest odnalezienie wszystkich pętli sprzężenia zwrotnego występujących w grafie (oznaczenia wierzchołków w algorytmach zgodne z Rys. 4.3):

- 1° Wybierz nowy wierzchołek grafu - A.
- 2° Wybierz krawędź od wierzchołka A do innego wierzchołka - B.

- 3° Przejdź do wierzchołka B.
- 4° Sprawdź czy istnieje krawędź od wierzchołka B do A.
- 5° Jeżeli istnieje, zapisz parę {A,B} jako sprzężenie zwrotne.
- 6° Powtarzaj kroki 2°-5° dla wszystkich krawędzi z A.
- 7° Powtarzaj kroki 1°-6° dla wszystkich wierzchołków grafu.

Wygenerowana w ten sposób lista par wierzchołków będzie zawierać każdą parę dwa razy. Jest to uzasadnione następnym krokiem algorytmu, w którym kolejność przypisania wierzchołków w parze sprzężenia będzie decydowała o ich domniemanej roli (regulator, obiekt).

Każda potencjalna struktura typu feedback-feedforward musi być zbudowana w oparciu o jedną ze znalezionych pętli sprzężenia zwrotnego. Lista znalezionych sprzężeń stanowi drugą (obok samego grafu) informację wejściową do następnego kroku algorytmu. W kroku tym następuje zestawienie znalezionych sprzężeń zwrotnych z resztą grafu, w celu znalezienia połączeń jak na Rys. 4.2.:

- 1° Wybierz nową parę wierzchołków z listy - {A, B}.
- 2° Wybierz wierzchołek grafu - sygnał wejściowy struktury - C.
- 3° Jeżeli $C=A$ lub $C=B$ idź do 14°.
- 4° Sprawdź czy z wierzchołka C prowadzą krawędzie do wierzchołka A oraz do wierzchołka B.
- 5° Jeżeli prowadzą, dodaj {C, {A, B}} do listy kandydatów i idź do 10°.
- 6° Sprawdź czy z wierzchołka C prowadzi krawędź do wierzchołka A.
- 7° Jeżeli nie, idź do 14°.
- 8° Wybierz krawędź prowadzącą z wierzchołka C do wierzchołka D.
- 9° Jeżeli $D=A$, idź do 13°
- 10° Wybierz krawędź prowadzącą z wierzchołka D do wierzchołka E.
- 11° Jeżeli $E=B$, dodaj {C, {A, B}, D} do listy kandydatów i idź do 14°.
- 12° Powtarzaj kroki 10°-11° dla wszystkich krawędzi prowadzących z wierzchołka D.
- 13° Powtarzaj kroki 8°-12° dla wszystkich krawędzi prowadzących z wierzchołka C.
- 14° Powtarzaj kroki 2°-13° dla wszystkich wierzchołków grafu.
- 15° Powtarzaj kroki 1°-14° dla wszystkich par z listy sprzężeń zwrotnych.

Uzyskana lista zawiera w sobie wszystkich kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward, którzy spełniają wytyczne dotyczące grafu oddziaływań opisane w 4.3.2.

Weryfikacja kandydatów

Każdy kandydat na strukturę znaleziony w oparciu o analizę grafu oddziaływań, musi zostać zweryfikowany w oparciu o równania modelu. Nie każdy zestaw połączeń spełniających strukturę grafu, będzie realizował schemat blokowy układu regulacji w sprzężeniu zwrotnym ze sprzężeniem w przód. W szczególności weryfikacja obejmuje sprawdzenie czy struktura równań dla znalezionych kandydatów jest zgodna z Równaniami 4.11 i 4.12.

Niezbędnym krokiem, powtarzanym kilkakrotnie w ramach algorytmu, jest rozbicie łańcucha znaków reprezentującego równanie na części połączone znakami dodawania, odejmowania lub dzielenia. Rozbicie według znaków dodawania i odejmowania wynika wprost z konieczności sprawdzenia występowania węzłów sumacyjnych. Dodatkowe rozbicie według znaku dzielenia jest wymagane, aby odróżnić operacje sumy i różnicy występujące w liczniku lub mianowniku jednego wyrażenia składowego od sum i różnic między wyrażeniami składowymi. Procedura rozbicia, dla której wejściem jest ciąg znaków reprezentujący dane równanie, wygląda następująco:

- 1° Znajdź wszystkie wystąpienia wyrażenia $'/'$ w wejściowym ciągu znaków.
- 2° Jeżeli nie znaleziono wyrażenia, przyjmij cały ciąg wejściowy jako bieżący i idź do 10°.
- 3° Podziel wejściowy ciąg znaków w miejscach wystąpienia $'/'$, usuwając samo wyrażenie. Umieść uzyskane podciągi jako kolejne elementy listy.
- 4° Wybierz element listy podciągów.
- 5° Znajdź wystąpienie wyrażenia $''$ w podciągu.
- 6° Jeżeli nie znaleziono wyrażenia, przyjmij cały element listy podciągów jako wyrażenie bieżące i idź do 10°.
- 7° Podziel aktualne wyrażenie w miejscu wystąpienia $''$, usuwając sam znak.
- 8° Dopisz pierwszy fragment po podziale do ostatniego elementu listy wyrażen składowych, dodając $'/'$ przed oraz $''$ za dopisywany ciąg znaków.
- 9° Przyjmij drugi fragment po podziale jako element bieżący.
- 10° Znajdź wszystkie wystąpienia wyrażenia $''$ w elemencie bieżącym.
- 11° Jeżeli nie znaleziono wyrażenia, przyjmij cały dzielony element jako bieżący i idź do 14°.
- 12° Podziel element bieżący w miejscach wystąpienia $''$, usuwając samo wyrażenie.

Umieść uzyskane podciągi jako kolejne elementy listy.

13° Wybierz element listy podciągów jako element bieżący.

14° Znajdź wszystkie wystąpienia wyrażenia '-' w elemencie bieżącym.

15° Jeżeli nie znaleziono wyrażenia, przyjmij cały dzielony element jako bieżący i idź do 18°.

16° Podziel element bieżący w miejscach wystąpienia '-', usuwając samo wyrażenie. Umieść uzyskane podciągi jako kolejne elementy listy.

17° Wybierz element listy podciągów jako element bieżący.

18° Jeżeli element bieżący nie jest pusty, dopisz go na koniec listy wyrażen składowych.

19° Powtarzaj kroki 17°-18° dla wszystkich elementów listy podciągów po podziale względem '-'.

20° Powtarzaj kroki 13°-19° dla wszystkich elementów listy podciągów po podziale względem '+'.

21° Powtarzaj kroki 4°-20° dla wszystkich elementów listy podciągów po podziale względem '(/'.

W wyniku realizacji procedury otrzymamy na wyjściu listę składników będących wejściami węzła sumacyjnego poprzedzającego wierzchołek dla danej zmiennej.

Mając do dyspozycji narzędzie rozdzielania równania, można określić schemat postępowania w procedurze weryfikacji kandydatów. Sprawdzeniu podlegać będą 2 węzły sumacyjne określone w 4.3.2. Informacjami wejściowymi są lista równań modelu oraz lista kandydatów na strukturę. Zastosowany algorytm wygląda następująco:

1° Wybierz kandydata z listy kandydatów.

2° Sprawdź rozmiar zbioru reprezentującego kandydata.

3° Jeżeli zbiór ma 3 elementy, przypisz role wierzchołkom kandydata - $\{C, \{A, B\}\} \leftrightarrow \{\text{sygnał wejściowy/korektor}, \{\text{regulator}, \text{obiekt}\}\}$ i idź do 5°.

4° Przypisz role wierzchołkom kandydata - $\{C, \{A, B\}, D\} \leftrightarrow \{\text{sygnał wejściowy}, \{\text{regulator}, \text{obiekt}\}, \text{korektor}\}$.

5° Zastosuj procedurę podziału równania, dla równania odpowiadającemu wierzchołkowi o roli obiekt.

6° Wybierz element listy składników równania.

7° Sprawdź wystąpienie nazwy wierzchołka o roli "korektor" w elemencie oraz wystąpienie nazwy wierzchołka o roli "regulator" w elemencie.

- 8° Jeżeli występuje tylko wierzchołek o roli "korektor" oznacz, że kandydat jest potencjalną strukturą w kontekście korektora. Jeżeli występuje tylko wierzchołek o roli "regulator" oznacz, że kandydat jest potencjalną strukturą w kontekście regulatora.
- 9° Jeżeli kandydat jest oznaczony jako potencjalna struktura w kontekście korektora i regulatora, idź do 11°.
- 10° Powtarzaj kroki 6°-9° dla wszystkich elementów listy składników równania.
- 11° Zastosuj procedurę podziału równania, dla równania odpowiadającemu wierzchołkowi o roli regulator.
- 12° Wybierz element listy składników równania.
- 13° Sprawdź wystąpienie nazwy wierzchołka o roli "sygnał wejściowy" w elemencie oraz wystąpienie nazwy wierzchołka o roli "obiekt" w elemencie.
- 14° Jeżeli występuje tylko wierzchołek o roli "sygnał wejściowy" oznacz, że kandydat jest potencjalną strukturą w kontekście sygnału wejściowego. Jeżeli występuje tylko wierzchołek o roli "obiekt" oznacz, że kandydat jest potencjalną strukturą w kontekście obiektu.
- 15° Jeżeli kandydat jest oznaczony jako potencjalna struktura w kontekście sygnału wejściowego i obiektu, oznacz kandydata jako zweryfikowaną strukturę i idź do 17°.
- 16° Powtarzaj kroki 12°-15° dla wszystkich elementów listy składników równania.
- 17° Powtarzaj kroki 1°-16° dla wszystkich kandydatów na liście kandydatów.

W wyniku zastosowania opisanej procedury, lista kandydatów na strukturę została zweryfikowana i każdemu jej elementowi przypisana informacja, czy dany kandydat przeszedł weryfikację, czy nie. Otrzymujemy więc listę zbiorów wierzchołków grafu, a więc zmiennych modelu, które realizują w modelu strukturę typu feedback-feedforward, wraz z przypisaniem poszczególnym zmiennym ról pełnionych w ramach struktury.

Prezentacja wyników działania algorytmu

Zarówno graf oddziaływań, jak i poszczególne listy struktur oraz kandydatów są przez program wyświetlane w formie tekstowej. W przypadku samego grafu, dla każdego wierzchołka podana jest lista wierzchołków bezpośrednio poprzedzających dany wierzchołek, jak pokazano na Rys. 4.5 dla grafu przed uproszczeniem, pokazanego na Rys. 4.3.

```

Wierzchołek A jest poprzedzany przez wierzchołki: ['B', 'C']
Wierzchołek B jest poprzedzany przez wierzchołki: ['A', 'D']
Wierzchołek C jest poprzedzany przez wierzchołki: []
Wierzchołek D jest poprzedzany przez wierzchołki: ['C']

```

Rysunek 4.5: Reprezentacja tekstowa przykładowego grafu.

Listy przedstawiające wyniki poszukiwania kolejnych struktur i kandydatów, prezentowane są w dwóch formach: tekstowej i tekstowo-graficznej. W Tabeli 4.1 zestawiono obie reprezentacje sprzężeń obecnych w grafach z Rys. 4.3, zarówno dla pełnej, jak i uproszczonej wersji struktury feedback-feedforward.

Tabela 4.1: Reprezentacje tekstowe struktur i sprzężeń używane przez program

Struktura	Reprezentacja tekstowo-graficzna	Reprezentacja tekstowa
sprężenie zwrotne	$A \Leftrightarrow B$	[A,B]
feedback-feedforward pełne	$C \rightarrow A \Leftrightarrow B \leftarrow D \leftarrow C$	[C,[A,B],D]
feedback-feedforward uproszczone	$C \rightarrow A \Leftrightarrow B \leftarrow C$	[C,[A,B]]

Sprawdzenie działania proponowanego narzędzia

Działanie zaproponowanego algorytmu musi zostać zweryfikowane na opisanych w literaturze strukturach występujących w szlakach sygnałowych, aby można było wykorzystać go do analizy innych modeli. Wybrano kilka modeli szlaków sygnałowych, dla których w literaturze potwierdzono występowanie sprzężenia zwrotnego i sprawdzono, czy proponowany algorytm je wykryje.

Pierwszy przykład związany był z regulacją ekspresji genów związaną z wystąpieniem stanu zapalnego. Ścieżka ta obejmowała m. in. MAPK, TNF i $\text{NK-}\kappa\text{B}$, w sposób opisany w [173]. Na tym etapie nie wykorzystano modelu matematycznego w postaci równań, a jedynie opis powiązań i interakcji, który może zostać przedstawiony w grafie zależności. W artykule źródłowym zaznaczono istnienie kilku pętli sprzężenia zwrotnego, które algorytm powinien wykryć. Dodatkowo autorzy omawiają występowanie połączeń typu *feedforward*, jednakże oznaczają one połączenia równoległe z dodatkowym elementem w jednym z torów. Algorytm nie powinien więc wykryć żadnej struktury typu *feedback-feedforward*.

Drugim przykładem testowym był model szlaku NF- κ B uwzględniający interakcje między NF- κ B i I κ B, ich inhibitorami A20 oraz I κ B α a także ich kompleksami, zaproponowany w [143]. Praca opisuje dwie główne struktury sprzężeń zwrotnych związane z A20 i I κ B α .

Ostatni przykład weryfikacyjny to model szlaku p53/Mdm2 o złożoności porównywalnej z modelem szlaku EMT będącym docelowym zastosowaniem algorytmu. Wykorzystano równania opisane w [42]. Stwierdzono tam występowanie licznych pętli sprzężenia zwrotnego między p53 a Mdm2, a także pomiędzy różnymi formami p53 oraz różnymi formami Mdm2.

4.3.4 Analiza wrażliwości

Podobieństwo strukturalne powiązań między elementami modelu szlaku sygnałowego a strukturą sterowania typu feedback-feedforward jest jedynie pierwszym krokiem. Należy również sprawdzić, czy zachowanie modelu odpowiada temu, czego należy spodziewać się po sprzężeniu zwrotnym ze sprzężeniem w przód. W tym celu przeprowadzić należy analizę wrażliwości modelu szlaku sygnałowego, a następnie zweryfikować, czy wrażliwość modelu na zmiany parametrów wewnątrz ścieżki sprzężenia w przód jest większa niż dla parametrów w sprzężeniu zwrotnym.

Zdecydowano się na analizę symulacyjną oraz rankingi wrażliwościowe określone dwoma metodami: opartą o metody częstotliwościowe, przedstawioną w [123] oraz opartą o całkowanie sygnału czasowego, przedstawioną w [122]. Parametry modelu opisane w publikacji źródłowej przyjęto jako nominalne, a następnie przeprowadzono 3 eksperymenty wrażliwościowe: niewielkich odchyłek parametrów od wartości nominalnej, znacznego zwiększenia wartości parametrów oraz znacznego zmniejszenia wartości parametrów.

Niewielkie odchyłki od wartości nominalnych reprezentują sobą wpływ naturalnej heterogeniczności, która może występować pomiędzy komórkami. Testy obejmujące znaczącą zmianę wartości parametrów mają natomiast na celu sprawdzenie zachowania w przypadku zastosowania teoretycznego leku celowanego w proces reprezentowany przez dany parametr. Jak zauważono w [122], aby można było mówić o skuteczności leku, jego efekt musi w znaczący sposób zmieniać wartość odpowiedniego parametru niezależnie od różnic pomiędzy samymi komórkami. Oznacza to, że aby sprawdzić, czy

zachowanie szlaku sygnałowego będzie zgodne z zachowaniem struktury sterowania typu feedback-feedforward również w kontekście terapii celowanej, niezbędne jest dokonanie porównania wrażliwości w sytuacji znacznego zwiększenia (jeżeli teoretyczny lek ma działanie wzmacniające) oraz znacznego zmniejszenia (jeżeli teoretyczny lek ma działanie inhibicyjne) wartości parametru modelu.

W przypadku analizy opartej o metody częstotliwościowe indeks wrażliwości każdorazowo jest liczbą nieujemną, której średnia z powtórzeń oznacza, jak mocno zmieniała się odpowiedź układu na skutek zmiany, niezależnie od charakteru tej zmiany. Wariancja z powtórzeń pokazuje z kolei, jak bardzo zróżnicowane zmiany wynikają z losowych odchylek. Same wartości indeksu dla pojedynczego przebiegu obliczane są zgodnie z [123], jak pokazano w Równaniu 4.13.

$$A_j = \frac{\sum_{k=0}^{M+1} |\Delta F_i(\omega_k, p_j)|}{\sum_{k=0}^{M+1} |F_n(\omega_k, p_n)|} \quad (4.13)$$

, gdzie $\omega_k = k/T$ ($k = 0, 1, \dots, 2M$), $M = \log_2 N - 1$, T to czas końcowy symulacji, N liczba dyskretnych punktów w symulacji. $F_i(\omega, k_j)$ oznacza dyskretną transformatę Fouriera wyjścia dla j -tego zestawu parametrów. Indeks dolny n oznacza, że mowa o przebiegach i parametrach nominalnych.

Dla analizy całkowitej, indeks może być dowolną liczbą rzeczywistą. W tym przypadku znak średniej z powtórzeń informuje o jakościowym charakterze zmiany - zmniejszeniu lub zwiększeniu osiąganych wartości wyjścia względem przebiegu nominalnego. Wartość indeksu, zdefiniowana w [122], jest liczona jak przedstawiono w Równaniu 4.14.

$$R_j = \frac{\int_0^T y_j(p_j, t) - y_n(p_n, t) dt}{\int_0^T y_n(p_n, t) dt} \quad (4.14)$$

, gdzie T oraz p_j ponownie oznaczają czas symulacji i zestaw parametrów, $y(p, t)$ oznacza wyjście układu, zaś indeks dolny n informuje, że dotyczy to wartości nominalnych.

Każdorazowo eksperyment składał się z zestawu symulacji, w których zmianie podlegał tylko jeden z parametrów. Dla każdego parametru przeprowadzono 1000 symulacji, w każdej wartość odchyłki od wartości nominalnej była losowana z odpowiednio dobrego rozkładu normalnego, spośród przedstawionych w Tabeli 4.2, sama zaś odchyłka realizowana była jako $k_j = \alpha k_{nom}$, z losowym mnożnikiem α .

Tabela 4.2: Rozkłady odchyłek wartości parametrów

Rodzaj testu	średnia	odchylenie standardowe
niewielkie odchyłki	1	0.05
znaczne zmniejszenie	0.1	0.005
znaczne zwiększenie	10	0.05

4.4 Wyniki

Pierwszym etapem była weryfikacja stworzonego oprogramowania, poprzez sprawdzenie poszukiwania struktury sprzężenia zwrotnego w modelach, w których ich występowanie zostało potwierdzone. Następnie kolejne etapy procedury opisanej w 4.3 zastosowano do przedstawionego w 4.2.1 modelu szlaku sygnałowego odpowiedzialnego za EMT. W wyniku uzyskano listę struktur typu feedback-feedforward odnalezionych w modelu, a także wartości indeksu wrażliwościowego dla parametrów występujących w równaniach opisujących znalezione struktury.

4.4.1 Weryfikacja poprawności działania algorytmu

Jak wspomniano w 4.3.3 wybrano 3 przykłady modeli szlaków sygnałowych, dla których w literaturze opisano występowanie pętli sprzężenia zwrotnego i wykorzystano je do sprawdzenia poprawności działania stworzonego narzędzia. Należy w tym miejscu podkreślić, że algorytm został dostosowany do poszukiwania prostych pętli sprzężenia zwrotnego, występujących między dwoma zmiennymi modelu, w związku z tym nie jest w obecnym kształcie zdolny do wykrycia sprzężeń obejmujących więcej elementów. Niemniej jednak wybrane przykłady, choć skupiają się na obecności bardziej ogólnych motywów regulacyjnych, zawierają sprzężenia, które algorytm powinien wychwycić. Zastosowano każdorazowo poszukiwanie struktury typu feedback-feedforward z uwagi na to, że wykonuje ona również poszukiwanie sprzężeń zwrotnych jako pierwszy etap.

Szlak odpowiedzi na stan zapalny - analiza schematu połączeń

W pierwszym przykładzie analizowane były jedynie połączenia funkcjonalne pomiędzy elementami modelu, bez uwzględnienia opisu matematycznego. W [173] autorzy pokazują występowanie sprzężenia zwrotnego między MAPK oraz DUSP1, a także między

NFKBIA i NF- κ B. Opisane są również pętle złożone z 3 komponentów, łączące NF- κ B z IL1B/TNF poprzez TNFAIP3 oraz IRAK3, które z wymienionej wcześniej przyczyny nie będą wykrywane przez algorytm w jego obecnej postaci.

```
vert = ["IL1B/TNF", "DUSP1", "MAPK", "NFKBIA", "NF-kB", "TNFAIP3", "IRAK3", "GC"]
edges = [{"MAPK", "NK-kB"},
         [{"MAPK"},
          ["DUSP1"],
          ["NF-kB"],
          ["NFKBIA", "TNFAIP3", "IRAK3"],
          ["IL1B/TNF"],
          ["IL1B/TNF"],
          ["DUSP1", "NFKBIA", "TNFAIP3", "IRAK3"],
          []]
```

Rysunek 4.6: Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy odpowiedzi na stan zapalny w oprogramowaniu.

Rysunek 4.6 przedstawia format danych wejściowych reprezentujących schemat powiązań między zmiennymi modelu, analogiczny do tego, co można zaobserwować na Rysunku 2. pracy [173]. Zmienna *vert* określa zmienne modelu, a zarazem wierzchołki grafu, zmienna *edges* z kolei przechowuje informację o oddziaływaniach pomiędzy zmiennymi poprzez listę wierzchołków następujących po danym.

Wynik działania algorytmu został przedstawiony na Rysunku 4.7. W pierwszej kolejności widoczna jest tekstowa interpretacja wcześniej wprowadzonych danych dotyczących struktury grafu powiązań, następnie pokazane są znalezione sprzężenia zwrotne, a na koniec znalezieni kandydaci na strukturę sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód.

```
Wierzchołek IL1B/TNF jest poprzedzany przez wierzchołki: ['MAPK', 'NK-kB']
Wierzchołek DUSP1 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['MAPK']
Wierzchołek MAPK jest poprzedzany przez wierzchołki: ['DUSP1', 'Inf_gen_exp']
Wierzchołek NFKBIA jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF-kB']
Wierzchołek NF-kB jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NFKBIA', 'Inf_gen_exp', 'TNFAIP3', 'IRAK3']
Wierzchołek TNFAIP3 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IL1B/TNF']
Wierzchołek IRAK3 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IL1B/TNF']
Wierzchołek GC jest poprzedzany przez wierzchołki: ['DUSP1', 'NFKBIA', 'TNFAIP3', 'IRAK3']
Wierzchołek Inf_gen_exp jest poprzedzany przez wierzchołki: []

DUSP1<=>MAPK
MAPK<=>DUSP1
NFKBIA<=>NF-kB
NF-kB<=>NFKBIA
[]
```

Rysunek 4.7: Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym odpowiedzi na stan zapalny w oprogramowaniu.

Znalezione sprzężenia pokrywają się z dwuelementowymi przykładami opisanymi w

[173]. Zgodnie z przewidywaniami nie znaleziono pętli składających się z 3 wierzchołków. Dodatkowo algorytm nie wykrył ani jednego fragmentu modelu, który mógłby być strukturą typu feedback-feedforward.

Szlak sygnałowy NF- κ B - I κ B

Kolejnym przykładem wykorzystanym do analizy poprawności działania proponowanego, automatycznego wykrywania struktur regulacji jest model szlaku sygnałowego NF- κ B - I κ B zaproponowany przez Lipniackiego i współautorów [143]. Opisano tam dwie główne struktury sprzężeń zwrotnych związane z A20 i I κ B α , bez wymienienia pojedynczych pętli. Podobnie jak poprzednio, wynikiem działania algorytmu będzie znalezienie sprzężeń zwrotnych jedynie między dwiema zmiennymi. Należy się spodziewać, że znalezione pętle związane będą albo z parą NF- κ B - A20, albo z parą I κ B (oznaczanym jako IKK) - I κ B α .

```
vars = ['IKKn', 'IKKa', 'IKKi', 'IK_Ka|Ik_Ba', 'IKK_a|I_kBa|NFk_B', 'NFkB', 'NF_kBn',
        'A20', 'A_20t', 'IkBa', 'IkB_an', 'IkB_at', 'Ik_Ba|NF_kB', 'IkB_an|NF_kBn', 'cgent']
eqs = ["kprod - kdeg*IKKn-TR*k1*IKKn",
        "TR*k1*IKKn-k3*IKKa-TR*k2*IKKa*A20-kdeg*IKKa-a2*IKKa*IkBa+t1*IK_Ka|Ik_Ba-a3*IKKa*Ik_Ba|NF_kB + t2*IKK_a|I_kBa|NFk_B",
        "k3*IKKa + TR*k2*IKKa*A20 - kdeg*IKKi",
        "a2*IKKa*IkBa - t1*IK_Ka|Ik_Ba",
        "a3*IKKa*Ik_Ba|NF_kB - t2*IKK_a|I_kBa|NFk_B",
        "c6a*Ik_Ba|NF_kB - a1*NFkB*IkBa + t2*IKK_a|I_kBa|NFk_B - i1*NFkB",
        "i1*kv*NFkB - a1*IkB_an*NF_kBn",
        "c4*A_20t - c5*A20",
        "c2 + c1*NF_kBn - c3*A_20t",
        "-a2*IKKa*IkBa - a1*IkBa*NFkB + c4a*IkBa_at - c5a*IkBa - i1a*IkBa + e1a*IkB_an",
        "-a1*IkB_an*NF_kBn + i1a*kv*IkBa - e1a*kv*IkB_an",
        "c2a + c1a*NF_kBn - c3a*IkB_at",
        "a1*IkBa*NFkB - c6a*Ik_Ba|NF_kB - a3*IKKa*Ik_Ba|NF_kB + e2a*IkB_an|NF_kBn",
        "a1*IkB_an*NF_kBn - e2a*kv*IkB_an|NF_kBn",
        "c2c + c1c*NF_kBn - c3c*cgent"]
```

Rysunek 4.8: Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy NF- κ B - I κ B.

Rysunek 4.8 przedstawia równania modelu w formacie przyjmowanym przez algorytm. Z tej postaci algorytm tworzy graf oddziaływań. Zauważyć można niezbędne modyfikacje w nazwach niektórych zmiennych, tak aby uniknąć rozpoznania fragmentu jednej zmiennej jako innej, co jest możliwe w przypadku kompleksów.

Pierwszą część wyników uzyskanych dla tego modelu przedstawia Rysunek 4.9. Jak poprzednio, widać w pierwszej kolejności strukturę grafu oddziaływań, a następnie odnalezione sprzężenia zwrotne i kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward. Znaleziono znaczną liczbę prostych pętli sprzężenia zwrotnego. W zdecydowanej większości z nich występuje jakaś postać IKK lub I κ B α , lub ich kompleksy. NF- κ B występuje w kilku sprzężeniach bezpośrednio lub poprzez swoje kompleksy, jednak są to pętle, w


```

Wierzchołek IKKn jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKn']
Wierzchołek IKKa jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKn', 'IKKa', 'IK_Ka|Ik_Ba', 'IKK_a|I_kBa|NFk_B', 'A20', 'IkBa',
'Ik_Ba|NF_kB']
Wierzchołek IKKi jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKa', 'IKKi', 'A20']
Wierzchołek IK_Ka|Ik_Ba jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKa', 'IK_Ka|Ik_Ba', 'IkBa']
Wierzchołek IKK_a|I_kBa|NFk_B jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKa', 'IKK_a|I_kBa|NFk_B', 'Ik_Ba|NF_kB']
Wierzchołek NFkB jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKK_a|I_kBa|NFk_B', 'NFkB', 'IkBa', 'Ik_Ba|NF_kB']
Wierzchołek NF_kBn jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NFkB', 'NF_kBn', 'IkB_an']
Wierzchołek A20 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['A20', 'A_20t']
Wierzchołek A_20t jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF_kBn', 'A_20t']
Wierzchołek IkBa jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKa', 'NFkB', 'IkBa', 'IkB_an', 'IkB_at']
Wierzchołek IkB_an jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF_kBn', 'IkBa', 'IkB_an']
Wierzchołek IkB_at jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF_kBn', 'IkB_at']
Wierzchołek Ik_Ba|NF_kB jest poprzedzany przez wierzchołki: ['IKKa', 'NFkB', 'NF_kBn', 'IkBa', 'IkB_an', 'Ik_Ba|NF_kB',
'IkB_an|NF_kBn']
Wierzchołek IkB_an|NF_kBn jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF_kBn', 'IkB_an', 'IkB_an|NF_kBn']
Wierzchołek cgent jest poprzedzany przez wierzchołki: ['NF_kBn', 'cgent']

IKKa<=>IK_Ka|Ik_Ba
IKKa<=>IKK_a|I_kBa|NFk_B
IKKa<=>IkBa
IKKa<=>Ik_Ba|NF_kB
IK_Ka|Ik_Ba<=>IKKa
IKK_a|I_kBa|NFk_B<=>IKKa
NFkB<=>IkBa
NFkB<=>Ik_Ba|NF_kB
NF_kBn<=>IkB_an
IkBa<=>IKKa
IkBa<=>NFkB
IkBa<=>IkB_an
IkB_an<=>NF_kBn
IkB_an<=>IkBa
Ik_Ba|NF_kB<=>IKKa
Ik_Ba|NF_kB<=>NFkB
IkBa->IKKa<=>IK_Ka|Ik_Ba<-IkBa
IkBa->IKKa<=>Ik_Ba|NF_kB<-IkBa
IkBa->IK_Ka|Ik_Ba<=>IKKa<-IkBa
IkBa->NFkB<=>Ik_Ba|NF_kB<-IkBa
IkBa->Ik_Ba|NF_kB<=>IKKa<-IkBa
IkBa->IK_Ka|NF_kB<=>NFkB<-IkBa
Ik_Ba|NF_kB->IKKa<=>IKK_a|I_kBa|NFk_B<-Ik_Ba|NF_kB
Ik_Ba|NF_kB->IKK_a|I_kBa|NFk_B<=>IKKa<-Ik_Ba|NF_kB

```

Rysunek 4.9: Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym NF- κ B - IkB.

których występują formy i kompleksy IKK lub $I\kappa B\alpha$, nie zaś A20. Samo A20 nie pojawiło się w żadnej prostej pętli sprzężenia zwrotnego, analizując jednak liczbę wystąpień form A20 w grafie oddziaływań można wywnioskować, że związane z nim sprzężenia zawierają więcej niż 2 zmienne, nie są więc wykrywane przez algorytm.

```
Analiza kandydata: ['IkBa', ['IKKa', 'IK_Ka|Ik_Ba']]
False
#####
Analiza kandydata: ['IkBa', ['IKKa', 'Ik_Ba|NF_kB']]
True
#####
Analiza kandydata: ['IkBa', ['IK_Ka|Ik_Ba', 'IKKa']]
False
#####
Analiza kandydata: ['IkBa', ['NFkB', 'Ik_Ba|NF_kB']]
False
#####
Analiza kandydata: ['IkBa', ['Ik_Ba|NF_kB', 'IKKa']]
True
#####
Analiza kandydata: ['IkBa', ['Ik_Ba|NF_kB', 'NFkB']]
False
#####
Analiza kandydata: ['Ik_Ba|NF_kB', ['IKKa', 'IKK_a|I_kBa|NFk_B']]
False
#####
Analiza kandydata: ['Ik_Ba|NF_kB', ['IKK_a|I_kBa|NFk_B', 'IKKa']]
False
#####
```

Rysunek 4.10: Wynik weryfikacji kandydatów na struktury typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym NF- κ B - $I\kappa$ B.

Na Rysunku 4.10 przedstawiono wyniki automatycznej weryfikacji znalezionych wcześniej kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward. Jak można zauważyć, żaden z kandydatów nie posiadał w opisujących go równaniach wymaganych węzłów.

Szlak sygnałowy p53/Mdm2

Ostatnim przykładem wykorzystanym do weryfikacji działania algorytmu był model szlaku p53/Mdm2 opisany w [42], który cechuje się podobną liczbą równań jak docelowy model ścieżki EMT. W artykule autorzy zauważają występowanie wielokrotnych sprzężeń pomiędzy różnymi formami p53 i różnymi formami Mdm2, lecz nie wymieniają ich

dokładnie. Taki opis sugeruje, że sprzężenia zwrotne będą w tej sytuacji składać się z większej liczby zmiennych niż 2, w związku z czym algorytm nie wykryje ich bezpośrednio.

```
vars = ["p53tot", "p53U", "p53uu", "Mdm2nuc", "Mdm2cyt", "Mdm2Pcyt", "DNAdam"]
eqs = ["ks53-kd53p*p53tot-kd53*p53uu",
      "kf*Mdm2nuc*p53tot-kf*Mdm2nuc*p53Ukf*Mdm2nuc*-p53uu+kr*p53uu-p53U*kr-p53U*kf*Mdm2nuc-kd53p*p53U",
      "ff_path(q)*kf*Mdm2nuc*p53U-p53uu*kr-p53uu*kd53p-p53uu*kd53)",
      "Vratio*ki*Mdm2Pcyt-Vratio*ko*Mdm2nuc-kd2p*Mdm2nuc-Mdm2nuc*kd2pp*DNAdam/(Jdam+DNAdam)",
      "ks2p+ks2*p53tot.*m/(Js^m+p53tot.*m)-kd2p*Mdm2cyt+kdeph*Mdm2Pcyt-Mdm2cyt*kph/(Jph+p53tot)",
      "Mdm2cyt*kph/(Jph+p53tot)-kdeph*Mdm2Pcyt-ki*Mdm2Pcyt+ko*Mdm2nuc-kd2p*Mdm2Pcyt",
      "kDNA*IR(t)-kdDNA*p53tot*DNAdam/(Jdna+DNAdam)"]
```

Rysunek 4.11: Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy p53/Mdm2.

Równania w kształcie przedstawionym w [42] i sformatowane na potrzeby algorytmu widać na Rysunku 4.11. Obecny jest dodatkowy komponent związany z uszkodzeniami DNA, które powodują reakcję szlaku.

```
Wierzchołek p53tot jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53tot', 'p53uu']
Wierzchołek p53U jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53tot', 'p53U', 'p53uu', 'Mdm2nuc']
Wierzchołek p53uu jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53U', 'p53uu', 'Mdm2nuc']
Wierzchołek Mdm2nuc jest poprzedzany przez wierzchołki: ['Mdm2nuc', 'Mdm2Pcyt', 'DNAdam']
Wierzchołek Mdm2cyt jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53tot', 'Mdm2cyt', 'Mdm2Pcyt']
Wierzchołek Mdm2Pcyt jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53tot', 'Mdm2nuc', 'Mdm2cyt', 'Mdm2Pcyt']
Wierzchołek DNAdam jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53tot', 'DNAdam']

p53U<=>p53uu
p53uu<=>p53U
Mdm2nuc<=>Mdm2Pcyt
Mdm2cyt<=>Mdm2Pcyt
Mdm2Pcyt<=>Mdm2nuc
Mdm2Pcyt<=>Mdm2cyt
p53tot->Mdm2cyt<=>Mdm2Pcyt<-p53tot
p53tot->Mdm2Pcyt<=>Mdm2nuc<-DNAdam<-p53tot
p53tot->Mdm2Pcyt<=>Mdm2cyt<-p53tot
Mdm2nuc->p53U<=>p53uu<-Mdm2nuc
Mdm2nuc->p53uu<=>p53U<-Mdm2nuc
Analiza kandydata: ['p53tot', ['Mdm2cyt', 'Mdm2Pcyt']]
False
#####
Analiza kandydata: ['p53tot', [['Mdm2Pcyt', 'Mdm2nuc'], 'DNAdam']]
False
#####
Analiza kandydata: ['p53tot', ['Mdm2Pcyt', 'Mdm2cyt']]
False
#####
Analiza kandydata: ['Mdm2nuc', ['p53U', 'p53uu']]
False
#####
Analiza kandydata: ['Mdm2nuc', ['p53uu', 'p53U']]
False
#####
```

Rysunek 4.12: Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym p53/Mdm2.

Wyniki działania algorytmu przedstawiono na Rysunku 4.12. Można zauważyć występowanie prostych pętli sprzężenia zwrotnego w ramach poszczególnych form p53

oraz Mdm2, lecz brak takich, które reprezentowałyby oddziaływanie między p53 i Mdm2, opisane przez autorów modelu. Interakcje te pojawiają się wśród kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward, lecz widoczne jest, że żadna z nich nie przeszła końcowej weryfikacji.

Chcąc sprawdzić, czy uzyskany wynik świadczy o błędnym działaniu algorytmu, czy jednak opisywane przez autorów sprzężenia obejmują więcej niż 2 zmienne, wprowadzono modyfikację oznaczeń, przyjmując wspólną nazwę dla wszystkich form p53 oraz wspólną nazwę dla wszystkich form Mdm2, a następnie generując graf zależności zbudowany na skutek połączenia wierzchołków oznaczających różne postacie tego samego związku.

```
Wierzchołek p53 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['p53', 'Mdm2', 'DNAdam']  
Wierzchołek Mdm2 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['Mdm2', 'p53']  
Wierzchołek DNAdam jest poprzedzany przez wierzchołki: ['Mdm2']  
  
p53<=>Mdm2  
Mdm2<=>p53
```

Rysunek 4.13: Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym p53/Mdm2 - modyfikacja grafu.

Uzyskany wynik przedstawia Rysunek 4.13. Widoczne jest, że znalezione zostało wzajemne powiązanie między p53 a Mdm2, co oznacza, że w przypadku pełnego grafu pętle sprzężenia zwrotnego omawiane przez autorów składają się z więcej niż 2 komponentów.

4.4.2 Zastosowanie algorytmu poszukiwania

Algorytm opisany w 4.3.3 został zastosowany do modelu szlaku EMT. Równania modelu zostały zapisane w formie tekstowej, niezbędnej jako informacja wejściowa algorytmu. Wydzielone zostały również nazwy zmiennych. Sformatowane dane wejściowe przedstawia Rys. 4.14. Drobne zmiany w nazwach zmiennych są niezbędne, aby nie dochodziło do mylenia zmiennych o podobnych nazwach (np. mS oraz S).

W oparciu o równania stworzony został graf powiązań, który następnie porównano z samymi równaniami oraz schematem przedstawionym w [149]. Stwierdzona została zgodność grafu stworzonego przez program z modelem. Reprezentacja tekstowa stworzonego grafu przedstawiona została na Rys. 4.15.

```
vars = ["mi200", "mZ", "Z_", "mi34", "mS", "S_"]
eqs = ["gmi_200*HS(Z_, lbdZmi_200, Z0mi_200, nZmi_200)*HS(S_, lbdSmi_200, S0mi_200, nSmi_200)
      -mZ*Ymi(6, mi200, gammami, mi0_200)-kmi_200*mi200",
      "gm_Z*HS(Z_, lbdZm_Z, Z0m_Z, nZm_Z)*HS(S_, lbdSm_Z, S0m_Z, nSm_Z)
      -mZ*Ym(6, mi200, gammami, mi0_200)-km_Z*mZ",
      "gZ*mZ*L(6, mi200, li, mi0_200)-kZ*Z_",
      "gmi_34*HS(Z_, lbdZmi_34, Z0mi_34, nZmi_34)*HS(S_, lbdSmi_34, S0mi_34, nSmi_34)
      -mS*Ymi(2, mi34, gammami, mi0_34)-kmi_34*mi34",
      "gm_S*HS(Iext, lbdIm_S, I0m_S, nIm_S)*HS(S_, lbdSm_S, S0m_S, nSm_S)
      -mS*Ym(2, mi34, gammami, mi0_34)-km_S*mS",
      "gS*mS*L(2, mi34, li, mi0_34)-kS*S_"]
```

Rysunek 4.14: Informacje wejściowe dla algorytmu - zmienne i równania

```
Wierzchołek mi200 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['mi200', 'mZ', 'Z_', 'S_']
Wierzchołek mZ jest poprzedzany przez wierzchołki: ['mi200', 'mZ', 'Z_', 'S_']
Wierzchołek Z_ jest poprzedzany przez wierzchołki: ['mi200', 'mZ', 'Z_']
Wierzchołek mi34 jest poprzedzany przez wierzchołki: ['Z_', 'mi34', 'mS', 'S_']
Wierzchołek mS jest poprzedzany przez wierzchołki: ['mi34', 'mS', 'S_']
Wierzchołek S_ jest poprzedzany przez wierzchołki: ['mi34', 'mS', 'S_']
```

Rysunek 4.15: Tekstowa reprezentacja grafu oddziaływań dla modelu szlaku EMT

Po utworzeniu grafu znaleziono wszystkie sprzężenia zwrotne. Zgodnie z założeniami algorytmu każda pętla powinna pojawić się dwukrotnie, gdyż każdy wierzchołek w pętli może potencjalnie pełnić rolę regulatora i obiektu. Znalezionych zostało 6 pętli sprzężenia zwrotnego, a wynik realizacji algorytmu przedstawia Rys. 4.16.

mi200<=>mZ	mi34<=>mS
mi200<=>Z_	mi34<=>S_
mZ<=>mi200	mS<=>mi34
mZ<=>Z_	mS<=>S_
Z_<=>mi200	S_<=>mi34
Z_<=>mZ	S_<=>mS

Rysunek 4.16: Odnalezione przez algorytm w modelu pętle sprzężenia zwrotnego

Następnym krokiem było poszukiwanie kandydatów na struktury typu feedback-feedforward. W oparciu o znalezione sprzężenia zwrotne zastosowano stworzony algorytm i uzyskano listę 16 zestawów wierzchołków, które spełniają wymagania dotyczące struktury powiązań w grafie. Listę stworzoną przez program przedstawia Rys. 4.17. Warto zauważyć, że w liście każdy zestaw wierzchołków pojawia się dwukrotnie, co jest wynikiem duplikacji pętli sprzężenia zwrotnego. W przypadku kandydatów nie można mówić jednak o duplikacji, gdyż kolejność wierzchołków, a więc i przypisanie im odpowiednich ról, będzie miało istotny wpływ na etap weryfikacji kandydatów.

Każdy znaleziony kandydat został następnie poddany procedurze weryfikacji w oparciu o równania. Wynik tej procedury przedstawiono na Rys. 4.18.

```

mi200->mZ<=>Z_-mi200    mS->mi34<=>S_-mS
mi200->Z_->mZ<-mi200    mS->S_->mi34<-mS
mZ->mi200<=>Z_-mZ      S_->mi200<=>mZ<-S_-
mZ->Z_->mi200<-mZ      S_->mi200<=>Z_-mZ<-S_-
Z_->mi200<=>mZ<-Z_-    S_->mZ<=>mi200<-S_-
Z_->mZ<=>mi200<-Z_-    S_->mZ<=>Z_-mi200<-S_-
mi34->mS<=>S_-mi34      S_->mi34<=>mS<-S_-
mi34->S_->mS<-mi34      S_->mS<=>mi34<-S_-

```

Rysunek 4.17: Kandydaci na strukturę typu feedback-feedforward

Analiza kandydata: ['mi200', ['mZ', 'Z_']]	Analiza kandydata: ['mS', ['mi34', 'S_']]
False	False
#####	#####
Analiza kandydata: ['mi200', ['Z_', 'mZ']]	Analiza kandydata: ['mS', ['S_', 'mi34']]
False	False
#####	#####
Analiza kandydata: ['mZ', ['mi200', 'Z_']]	Analiza kandydata: ['S_', ['mi200', 'mZ']]
False	True
#####	#####
Analiza kandydata: ['mZ', ['Z_', 'mi200']]	Analiza kandydata: ['S_', [['mi200', 'Z_'], 'mZ']]
False	False
#####	#####
Analiza kandydata: ['Z_', ['mi200', 'mZ']]	Analiza kandydata: ['S_', ['mZ', 'mi200']]
True	True
#####	#####
Analiza kandydata: ['Z_', ['mZ', 'mi200']]	Analiza kandydata: ['S_', [['mZ', 'Z_'], 'mi200']]
True	False
#####	#####
Analiza kandydata: ['mi34', ['mS', 'S_']]	Analiza kandydata: ['S_', ['mi34', 'mS']]
False	True
#####	#####
Analiza kandydata: ['mi34', ['S_', 'mS']]	Analiza kandydata: ['S_', ['mS', 'mi34']]
False	True
#####	#####

Rysunek 4.18: Wyniki weryfikacji kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward

Weryfikację na tym etapie przeszło 6 kandydatów. Zauważyć należy przede wszystkim, że dla każdego kandydata, który przeszedł pozytywnie weryfikację, tak samo zweryfikowany został kandydat, dla którego wierzchołki sprzężenia zwrotnego zostały przypisane do ról odwrotnie. Biorąc pod uwagę, że powoduje to zmianę sygnału wyjściowego takiej struktury, jest to zachowanie spodziewane, zgodne ze strukturą układów sterowania typu feedback-feedforward. Dodatkowo, żaden z kandydatów realizujących pełną formę sprzężenia w przód nie został zweryfikowany pozytywnie. Oznacza to, że w każdym przypadku korektor jest elementem statycznym, co jest rozwiązaniem spotykanym w układach technicznych.

4.4.3 Analiza wrażliwości

Każda ze struktur odnalezionych w wyniku zastosowania algorytmu została dodatkowo zweryfikowana w oparciu o analizę wrażliwości, zgodnie z procedurą opisaną w 4.3.2. Z uwagi na cel przeprowadzania analizy, ograniczono badanie jedynie do parametrów występujących w ścieżkach sprzężenia zwrotnego i sprzężenia w przód znalezionych struktur. Dodatkowo część parametrów wyłączono z analizy z uwagi na ich specyfikę. Były to:

- wykładniki w funkcjach Hilla - ich charakter jako liczb całkowitych nie pozwala na uwzględnienie w stosowanym schemacie analizy,
- parametry związane z translacją mRNA oraz wpływem miR na nią - poszczególne parametry nie są niezależne i nie można indywidualnie zmieniać pojedynczych wartości, zależą również od liczby miejsc wiązania miR - wielkości całkowitej, której zmiany ciężko uzasadnić.

Ostatecznie grupy parametrów, które zostały uwzględnione w analizie wrażliwości zawierały:

- tempa produkcji poszczególnych związków,
- tempa degradacji poszczególnych związków,
- współczynniki funkcji Hilla - krotność zmiany tempa syntezy względem bazowej oraz próg.

Spośród wszystkich parametrów w grupach, które podlegały analizie, wybrano te, które znalazły się w odpowiednich ścieżkach sprzężeń poszczególnych kandydatów. Parametry te, wraz z przypisaniem do kandydata oraz ścieżki, przedstawiono w Tabeli 4.3.

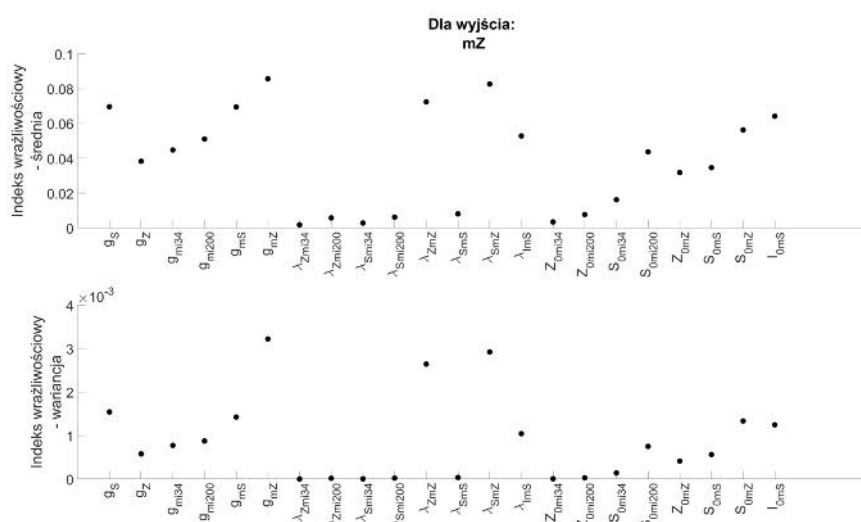
Tabela 4.3: Parametry modelu wybrane do analizy wrażliwości

Kandydat	parametr	ścieżka sprzężenia
Z->mi200<=>mZ<-Z	λ_{ZmZ}	w przód
	Z_{0mZ}	w przód
	g_{mZ}	w przód
	λ_{Zmi200}	zwrotne
	Z_{0mi200}	zwrotne
	g_{mi200}	zwrotne
Z->mZ<=>mi200<-Z	λ_{Zmi200}	w przód
	Z_{0mi200}	w przód
	g_{mi200}	w przód
	λ_{ZmZ}	zwrotne
	Z_{0mZ}	zwrotne
	g_{mZ}	zwrotne
S->mi200<=>mZ<-S	λ_{SmZ}	w przód
	S_{0mZ}	w przód
	g_{mZ}	w przód
	λ_{Smi200}	zwrotne
	S_{0mi200}	zwrotne
	g_{mi200}	zwrotne
S->mZ<=>mi200<-S	λ_{Smi200}	w przód
	S_{0mi200}	w przód
	g_{mi200}	w przód
	λ_{SmZ}	zwrotne
	S_{0mZ}	zwrotne
	g_{mZ}	zwrotne
S->mi34<=>mS<-S	λ_{SmS}	w przód
	S_{0mS}	w przód
	g_{mS}	w przód
	λ_{Smi34}	zwrotne
	S_{0mi34}	zwrotne
	g_{mi34}	zwrotne
S->mS<=>mi34<-S	λ_{Smi34}	w przód
	S_{0mi34}	w przód
	g_{mi34}	w przód
	λ_{SmS}	zwrotne
	S_{0mS}	zwrotne
	g_{mS}	zwrotne

Zauważyć należy, że dla par kandydatów, w których zmienne tworzące pętle sprzężenia zwrotnego mają zmienione role, te same parametry występują raz w ścieżce sprzężenia w przód, a raz w ścieżce sprzężenia zwrotnego. Nie oznacza to jednak, że wartości indeksów wrażliwościowych będą w obu przypadkach takie same. Zmiana ról w sprzężeniu zwrotnym zmienia bowiem przypisanie zmiennej do wyjścia takiego układu - wyjściem układu zawsze będzie zmienna realizująca rolę obiektu. W związku z tym odpowiednie indeksy wrażliwościowe przyjmować będą różne wartości.

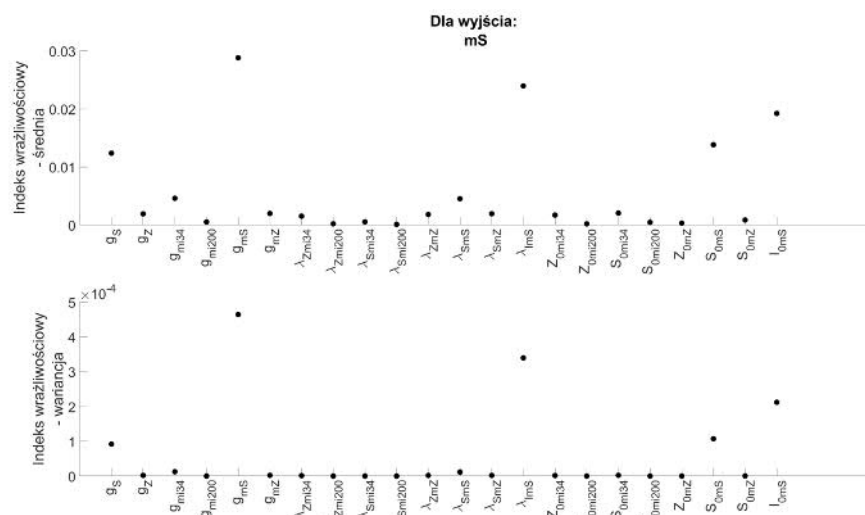
Lokalna analiza wrażliwości

W pierwszej kolejności przeprowadzono lokalną analizę wrażliwości - dla zmian wokół nominalnych wartości parametrów - zgodnie z procedurą opisaną w 4.3.4. Jako wynik uzyskano wartości indeksów wrażliwościowych dla wszystkich parametrów z badanych grup. Wartości te zostały uzyskane biorąc pod uwagę 4 sygnały wyjściowe - te, które pojawiły się jako wyjścia w zweryfikowanych kandydatach na strukturę typu feedback-feedforward: mRNA Zeb, mRNA Snail, miR-34 i miR-200. Obliczono w każdym przypadku średnią oraz wariancję z 1000 symulacji, wyniki dla metody częstotliwościowej przedstawiono na Rys. 4.19 - 4.22, zaś dla metody całkowitej na Rys. 4.23 - 4.26.

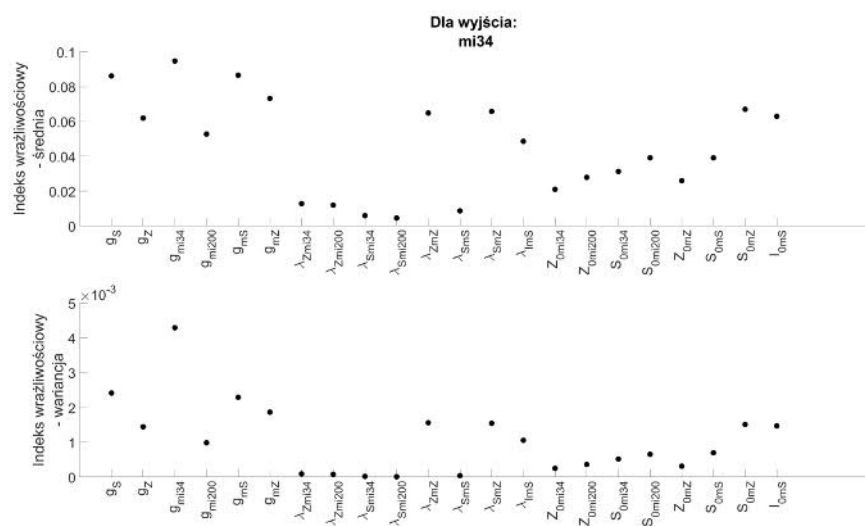


Rysunek 4.19: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.

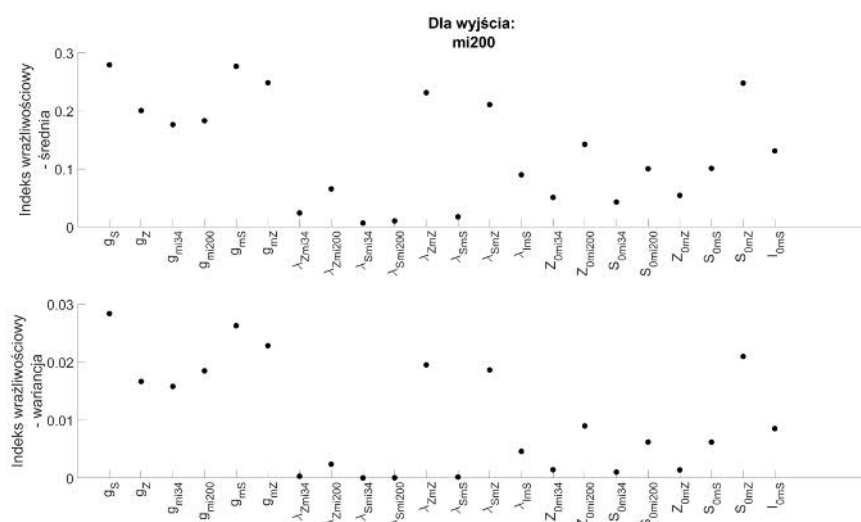
Analizując wyniki uzyskane dla metody częstotliwościowej, w pierwszej kolejności



Rysunek 4.20: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.



Rysunek 4.21: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.



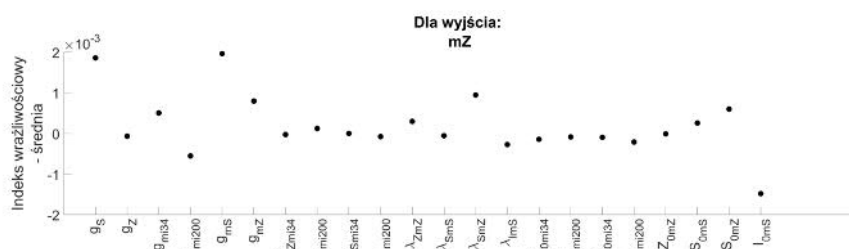
Rysunek 4.22: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.

można zauważyć istotne różnice w wartościach średniej i wariancji indeksu wrażliwości, dla tych samych parametrów przy innym sygnale wyjściowym. W tym samym czasie nie widać różnic jakościowych między względnymi wartościami średniej i wariancji między parametrami w ramach tego samego sygnału wyjściowego - ranking parametrów jest taki sam lub bardzo podobny (z możliwymi różnicami przy parametrach o niskiej wrażliwości). Dla wszystkich sygnałów wyjściowych wartości średniej są istotnie większe niż wariancji (1-2 rzędy wielkości), co pokazuje, że dla przyjętego zakresu zmian wartości parametrów zmiany w zachowaniu układu są podobne.

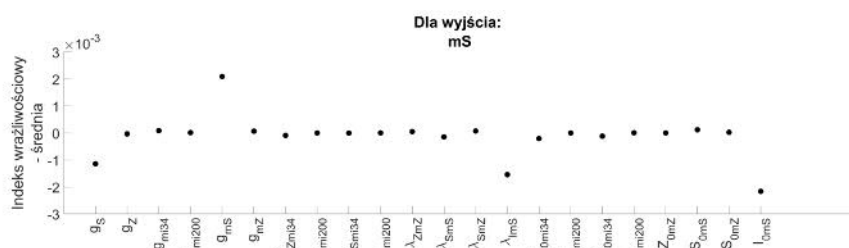
Wrażliwość danego wyjścia na zmiany parametrów wprost z nim związane jest wysoka dla obu mRNA (Rys. 4.19 oraz Rys. 4.20) - jako przykład, dla wyjścia w postaci mRNA Zeb najwyższą wartość indeksów mają: g_{mZ} , czyli tempo produkcji mRNA Zeb, a także λ_{ZmZ} i λ_{SmZ} a więc współczynniki funkcji Hilla określające krotność zmian w tempie syntezy mRNA Zeb na skutek obecności białek Zeb i Snail. Sytuacja wygląda inaczej w przypadku miR-34 (Rys. 4.21) i miR-200 (Rys. 4.22), dla których nawet tempo produkcji danego miRNA może nie być na szczycie rankingu (co widać dla miR-200). Oznacza to bardziej złożone zachowanie tych wyjść, silniej zależne od całości szlaku.

Dodatkowo można stwierdzić, że przy wszystkich sygnałach wyjściowych parametry λ , związane z funkcjami Hilla znajdują się na początku lub końcu listy rankingo-

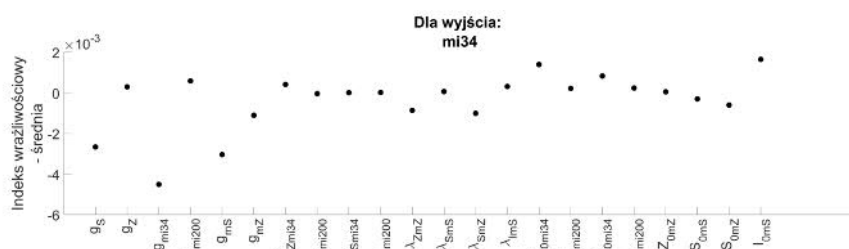
wej. Może być to związane z przełączeniowym charakterem funkcji Hilla - jeżeli człon związany z parametrem λ jest aktywny (wartość zmiennej jest odpowiednia względem progu), to zmiany samego parametru powodują istotne różnice w odpowiedzi. Jeżeli natomiast człon ten nie jest aktywny, zmiany parametru nie będą wpływać w sposób istotny na wyjście.



Rysunek 4.23: Wartości średniej całkowitego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.

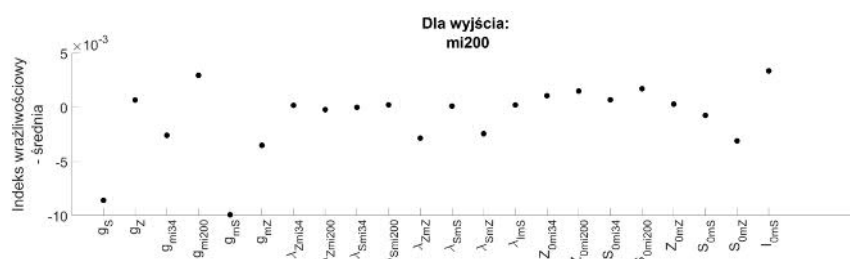


Rysunek 4.24: Wartości średniej całkowitego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.



Rysunek 4.25: Wartości średniej całkowitego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.

Wyniki analizy w dziedzinie czasu pokazują podobny charakter rozkładu wartości średniej indeksu wrażliwościowego, co dla analizy w dziedzinie częstotliwości, a więc



Rysunek 4.26: Wartości średniej całkowitego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.

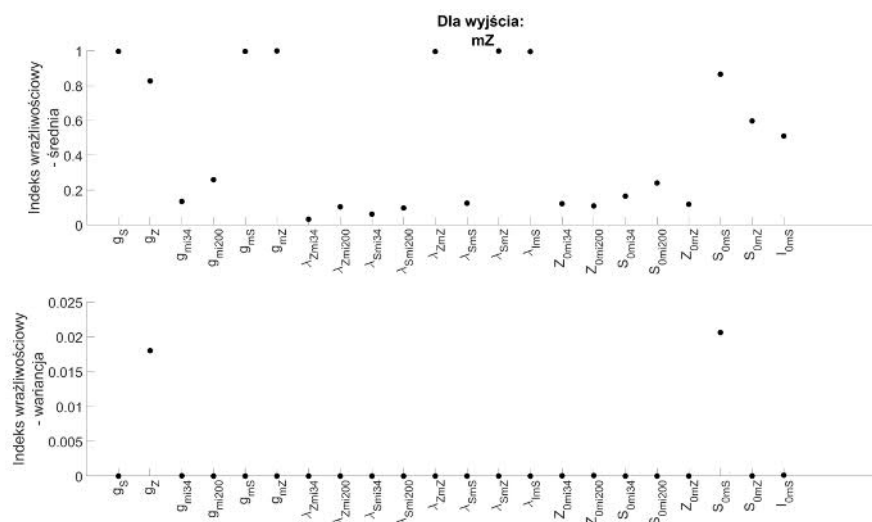
mocno różne od 0 wartości dla parametrów powiązanych z wyjściem w przypadku obu mRNA (Rys. 4.23 oraz Rys. 4.23) i brak takiej zależności dla miRNA (Rys. 4.25 oraz Rys. 4.26).

Interesującym jest porównanie obu metod dla parametrów o wysokich wartościach, tak średniej, jak i wariancji w badaniu częstotliwościowym - przykładowo S_{0mZ} dla mRNA Snail jako wyjścia (Rys. 4.20) oraz λ_{ImS} dla miR-200 jako wyjścia (Rys. 4.22). W obu przypadkach wartość średniej wskaźnika w dziedzinie czasu jest bliska 0 (Rys. 4.24 oraz Rys. 4.26). Może to sugerować, że odchylenia przebiegu wyjścia w wyniku zmian danego parametru objawiają się w postaci istotnej zmiany kształtu, przy równoczesnym zachowaniu pola pod wykresem takiego przebiegu. Nie jest to jednak zależność uniwersalna, co widać na przykładzie wyniku dla g_s przy wyjściu miR-200, gdzie wysokie wartości wskaźników częstotliwościowych przełożyły się na wysoką, co do modułu, wartość indeksu wskaźnika w dziedzinie czasu.

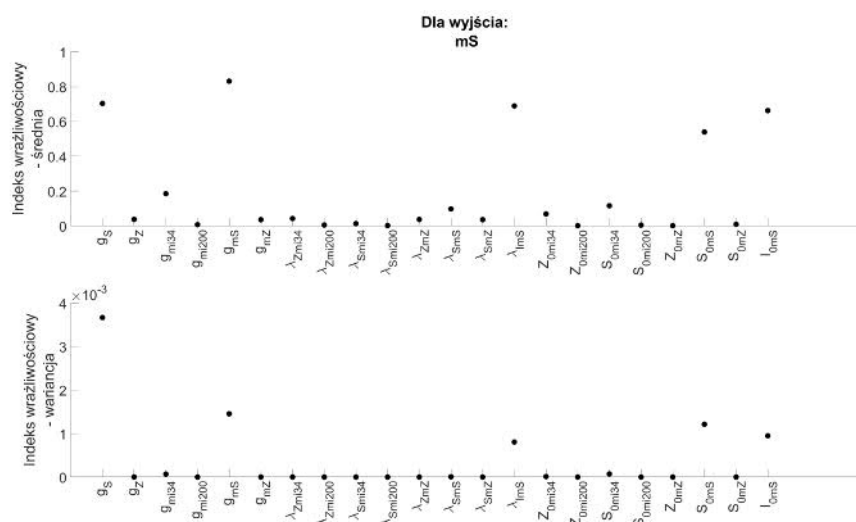
Analiza wrażliwości dla znacznego zmniejszenia wartości parametrów

Drugim eksperymentem wrażliwościowym było znaczące zmniejszenie wartości analizowanych parametrów (średnio 10-krotne, jak pokazano w Tabeli 4.2). Metodologia przeprowadzenia analizy pozostała taka sama jak przy wrażliwości lokalnej. Wartości odpowiednich wskaźników przedstawiono na Rys. 4.27 - 4.30 w przypadku metody częstotliwościowej oraz na Rys. 4.31 - 4.34 dla analizy w dziedzinie czasu.

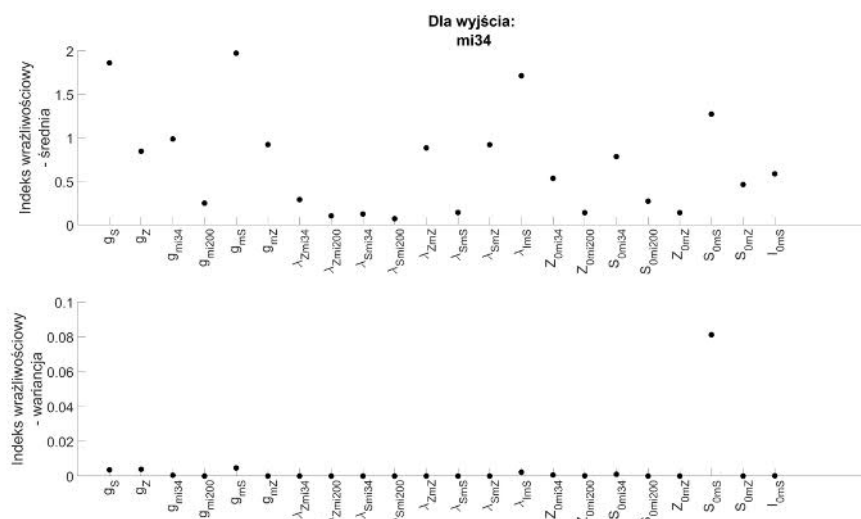
Pierwszą różnicą widoczną w wynikach dla metody częstotliwościowej jest znaczący wzrost wartości indeksów wrażliwości. W porównaniu do analizy lokalnej, wartości maksymalne średniej wzrosły między dziesięć- (dla mRNA Zeb - Rys. 4.27) a trzydziestokrotnie (dla mRNA Snail - Rys. 4.28). W przypadku maksymalnej wariancji rząd



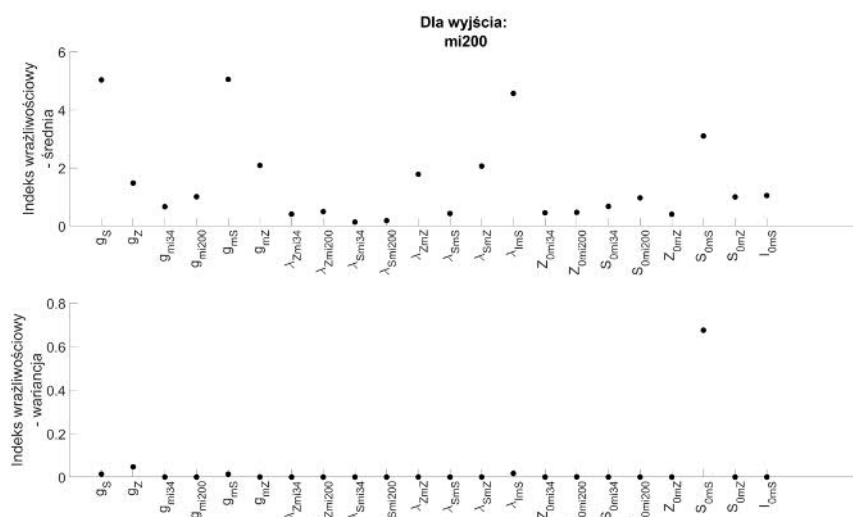
Rysunek 4.27: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.



Rysunek 4.28: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.



Rysunek 4.29: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.



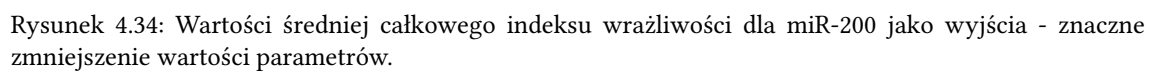
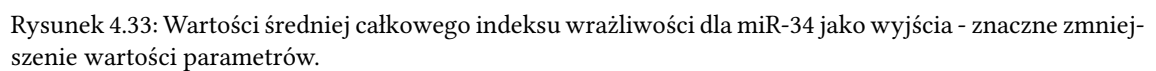
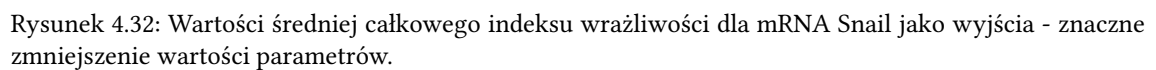
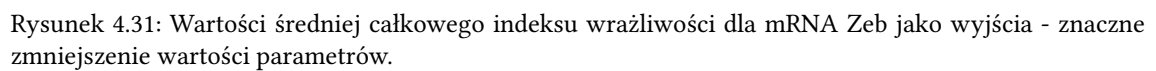
Rysunek 4.30: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.

wielkości zmian jest podobny, natomiast największe wzrosty wystąpiły dla obu miRNA (miR-34 na Rys. 4.29 i miR-200 na Rys. 4.30).

Analizując rozkład wartości pomiędzy parametrami, na pierwszy plan wysuwa się całkowita zmiana charakteru wyników dla wariancji dla wszystkich wyjść, za wyjątkiem mRNA Snail. Zaobserwować można, po pierwsze, że wartość wariancji indeksu wrażliwościowego dla kilku (1-2) parametrów jest wielokrotnie większa niż dla pozostałych. Po drugie, parametry, które znajdują się na czele rankingu, niekoniecznie są tymi samymi parametrami, co przy analizie lokalnej. W szczególności, zarówno dla mRNA Zeb, jak i obu miRNA, dominuje parametr S_{0mS} , który poprzednio plasował się w dolnej połowie rankingu. Oznacza to, że dla tego parametru bardzo istotnym jest, czy zmniejszenie jego wartości będzie 8-krotne, 10-krotne czy 12-krotne, w przeciwieństwie do innych parametrów, dla których dokładna skala zmiany jest mniej istotna niż sam fakt znaczącego zmniejszenia ich wartości. Wyjątkiem pod tym względem są wyniki dla mRNA Snail, w których największą wariancję indeksu wrażliwości uzyskały te same parametry co przy analizie lokalnej, zmianie uległy jedynie wartości i miejsca poszczególnych parametrów w czołówce rankingu.

Inaczej sytuacja wygląda w przypadku wartości średniej wskaźnika wrażliwości. Dla żadnego wyjścia nie jest widoczna tak wyraźna różnica w rozkładzie jak dla wariancji. Dla mRNA Snail wynik jest niemal identyczny, z dokładnością do ogólnie zwiększonych wartości średniej. Przy wynikach dla mRNA Zeb, można za to zauważyć swego rodzaju stratyfikację parametrów na grupę o wysokiej średniej (ok. 1) oraz grupę o niskiej średniej (ok. 0.2). Wyjątkiem są tutaj parametry S_{0mZ} i I_{0mS} z wartościami ok. 0.6. W przypadku miR-34 i miR-200 ciężko zauważyć jakąkolwiek ogólną prawidłowość dotyczącą zmian w wynikach. Jednym, co należy zaznaczyć, jest zachowanie średniej w przypadku parametru S_{0mS} , który dominował rankingi wariancji dla mRNA Zeb, miR-34 i miR-200. O ile dla średniej nie ma mowy o dominacji rankingu parametrów, widoczny jest niewątpliwie wzrost istotności tego parametru dla tych samych 3 wyjść.

Wyniki dla analizy czasowej, podobnie jak dla częstotliwościowej, charakteryzują się większymi, co do wartości bezwzględnej, wartościami średniej indeksu wrażliwościowego. Różna natomiast jest skala tych zmian, gdyż mowa o różnicach 2-3 rzędów wielkości (np. 500-krotnej w przypadku mRNA Zeb). W kwestii różnic w rozkładzie wartości pomiędzy parametrami ciężko dostrzec jakąkolwiek ogólną prawidłowość. W przekroju całego zbioru parametrów wyniki wyglądają dosyć podobnie do wyników w przypadku



analizy lokalnej.

Zupełnie inaczej wygląda sytuacja przy indywidualnej analizie rezultatów dla poszczególnych wyjść. W przypadku mRNA Zeb (Rys. 4.31) wyłania się wzór podobny jak na Rys. 4.27 dla analizy częstotliwościowej, a więc stratyfikacja parametrów na grupę o średniej ok. 1 oraz grupę o średniej ok. 0. Ponownie z reguły tej wyłamują się parametry S_{0mZ} i I_{0mS} , dla których średnia wartość indeksu wrażliwości zbliża się do -0.5. Ciekawym jest przy tym obserwacja, że dla S_{0mZ} zauważalnie dodatnia wartość średniej w analizie lokalnej (mówiąca o wzmocnieniu efektu) dla znacznego zmniejszenia wartości parametrów przeszła w wartość istotnie ujemną (mówiącą o zahamowaniu efektu). Co więcej, ponownie istotny wzrost ważności w rankingu dotyczy parametru S_{0mS} .

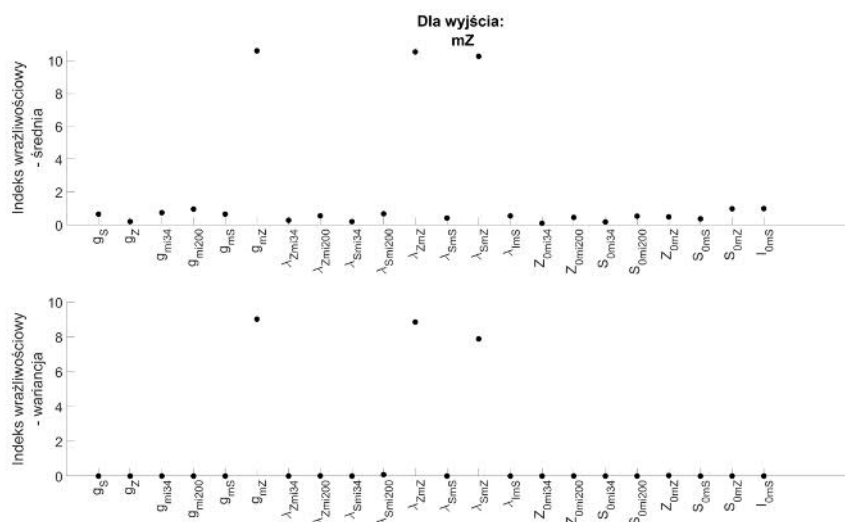
W wynikach dla mRNA Snail jako wyjścia (Rys. 4.32), można zauważyć 2 ciekawe zmiany w porównaniu do wyników analizy lokalnej. Po pierwsze zmiana znaku średniej wskaźnika wrażliwościowego dla parametru λ_{ImS} z wyrażnie ujemnego na wyrażnie dodatni. Po drugie, obserwowany w większości rezultatów tego eksperymentu, znaczący wzrost istotności parametru S_{0mS} . Poza tym, w zachowaniu pozostałych parametrów nie są widoczne wyraźne zmiany.

W przypadku miR-34 (Rys. 4.33) oraz miR-200 (Rys. 4.34) podobnie zmiany dotyczą w głównej mierze parametru λ_{ImS} oraz S_{0mS} . Dla obu wyjść i w przypadku obu parametrów następuje znaczący wzrost istotności - o ile dla analizy lokalnej parametry były mało znaczące (ze średnią w okolicy 0), o tyle przy znaczącym zmniejszeniu oba parametry plasują się w czołówce rankingu, z wartościami średniej indeksu wrażliwościowego wyrażnie ujemnymi. Co więcej, dla miR-34 następuje znacząca zmiana w przypadku parametru produkcji - g_{mi34} . Wprawdzie nadal jest to parametr o największej wartości bezwzględnej średniej indeksu wrażliwościowego, lecz wpływ zmian parametru zmienił się z inhibicji na wzmocnienie.

Analiza wrażliwości dla znacznego zwiększenia wartości parametrów

Ostatnim eksperymentem numerycznym było zbadanie wrażliwości wyjść na znaczące zwiększenie wartości badanych parametrów. Jak pokazano w Tabeli 4.2 wartości parametrów zwiększono średnio 10-krotnie, z dodatkowymi niewielkimi odchyłkami. Metodologia analizy pozostała taka sama jak dla pozostałych eksperymentów. Wartości odpowiednich wskaźników przedstawiono na Rys. 4.35 - 4.38 w przypadku metody

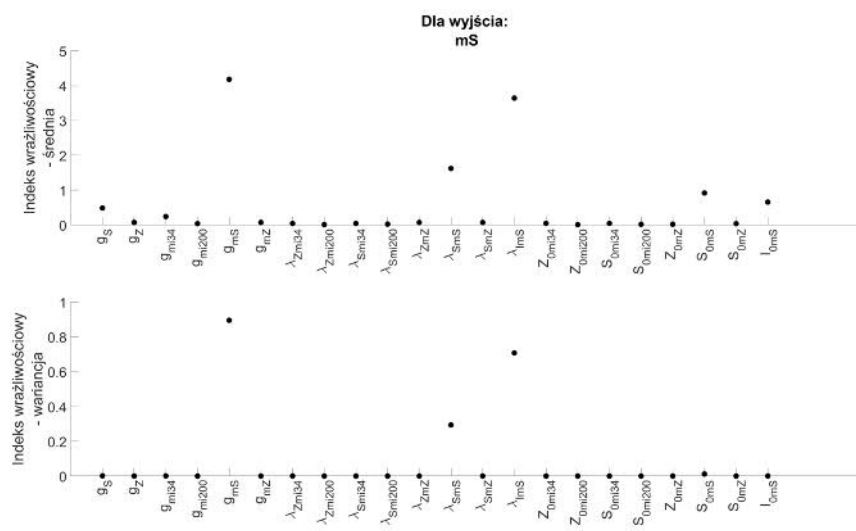
częstotliwościowej oraz na Rys. 4.39 - 4.42 dla analizy w dziedzinie czasu.



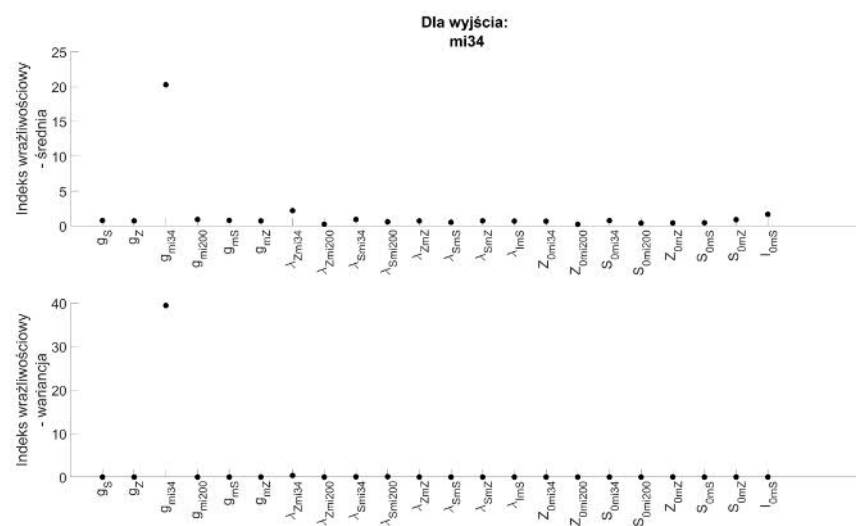
Rysunek 4.35: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.

W wynikach analizy w dziedzinie częstotliwości, podobnie jak w przypadku znacznego zmniejszenia wartości parametrów, widoczny jest znaczny wzrost wartości średniej i wariancji indeksu wrażliwościowego względem analizy lokalnej. Dla obu mRNA (Rys. 4.35 dla mRNA Zeb i Rys. 4.36 dla mRNA Snail) w przypadku średniej indeksu wrażliwościowego wzrost jest ponad 100-krotny, a dla wariancji nawet ponad 1000-krotny. Wzrosty podobnego rzędu widać również dla obu miRNA (Rys. 4.37 dla miR-34 i Rys. 4.38 dla miR-200).

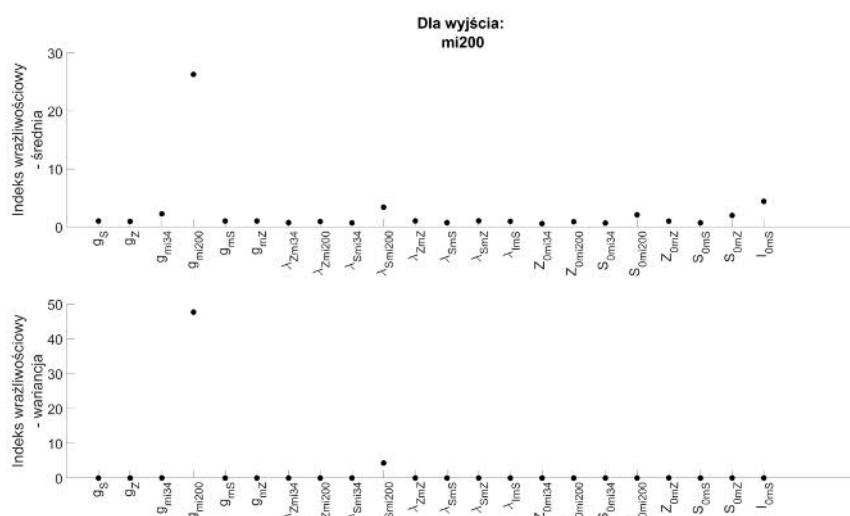
Tak samo jak przy znacznym zmniejszeniu wartości parametrów, zauważyć można istotne zmiany w rozkładzie wartości wskaźników, względem lokalnej analizy wrażliwości. W przypadku wszystkich wyjść zaobserwować można stratyfikację parametrów na grupy: o wysokiej wartości wskaźnika i niskiej wartości wskaźnika. Szczególnie widoczne jest to w przypadku obu miRNA, gdzie dosyć zróżnicowany obraz w analizie lokalnej został, dla znacznego zwiększenia wartości parametrów, zastąpiony rozkładem, w którym dominuje jeden parametr - tempo produkcji analizowanego miRNA, z wartością wskaźnika kilkanaście lub nawet kilkadziesiąt razy większą niż następny pod kątem ważności parametr. Obserwacja ta dotyczy zarówno średniej, jak i wariancji indeksu wrażliwościowego.



Rysunek 4.36: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.

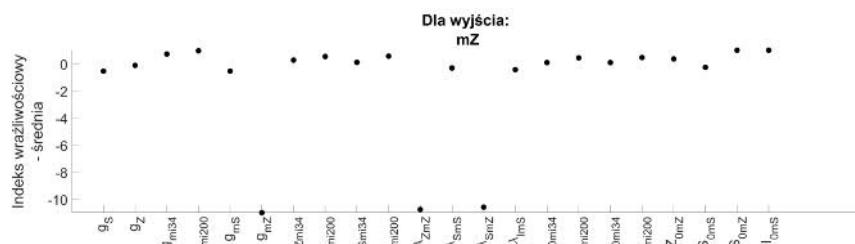


Rysunek 4.37: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.



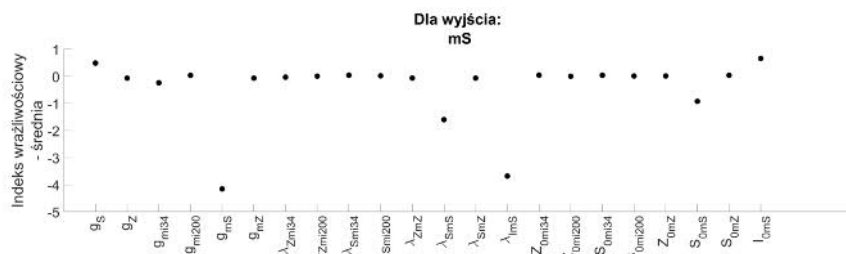
Rysunek 4.38: Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.

W przypadku mRNA Zeb zachowanie jest podobne, lecz dominuje nie jeden parametr a jedna grupa parametrów. Wyraźnie wyższe wartości wskaźników widać dla parametrów związanych wprost z tym mRNA - g_{mZ} , λ_{ZmZ} oraz λ_{SmZ} , za wyjątkiem parametrów reprezentujących wartości progowe funkcji Hilla. Z kolei w przypadku mRNA Snail, podobnie jak w poprzednich analizach, widoczna jest najmniejsza zmiana w kształcie rozkładu wartości wskaźników względem analizy lokalnej. Zauważalnymi zmianami jest wzrost istotności parametru λ_{SmS} tak dla średniej, jak i wariancji, a także spadek istotności parametrów g_S , S_{0mS} oraz I_{0mS} szczególnie dla wariancji.



Rysunek 4.39: Wartości średniej całkowitego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.

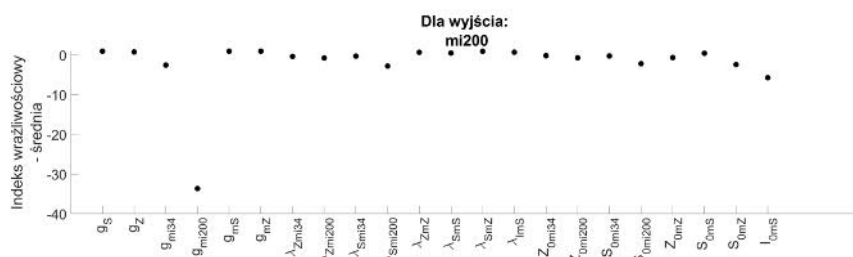
Analiza w dziedzinie czasu, podobnie jak w przypadku analizy częstotliwościowej, wykazała znacznie większe co do wartości bezwzględnej wartości średniej indeksu wrażliwości



Rysunek 4.40: Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.



Rysunek 4.41: Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.



Rysunek 4.42: Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.

liwościowego. Dla wszystkich wyjść krotność zmian dla najistotniejszych parametrów sięga nawet 5000. Rozkłady wartości wskaźnika zmieniły się w sposób podobny do obserwowanego w wynikach analizy częstotliwościowej, a więc dla miR-34 (Rys. 4.41) i miR-200 (Rys. 4.42) dominuje, pod względem istotności, parametr tempa wzrostu odpowiedniego miRNA. W obu przypadkach wartość średniej indeksu wrażliwościowego jest ujemna, co pokazuje efekt w postaci inhibicji danego wyjścia. Pozostałe parametry charakteryzują wartości w okolicach 0, z przewagą wartości ujemnych.

Podobieństwo zmian między analizą czasową, a częstotliwościową, widoczne jest również dla mRNA. W przypadku mRNA Zeb (Rys. 4.39) ranking parametrów zdominowany jest przez te same 3 parametry - g_{mZ} , λ_{ZmZ} oraz λ_{SmZ} , a wartości wskaźnika są dla wszystkich trzech ujemne. Oznacza to istotną zmianę jakościową, gdyż obserwowana jest zmiana wartości z dodatniej na ujemną. Dla mRNA Snail (Rys. 4.40), podobnie jak przy analizie w dziedzinie częstotliwości, zauważalnymi zmianami są wzrost istotności parametru λ_{SmS} oraz spadek istotności parametru I_{0mS} . Tak jak dla mRNA Zeb wszystkie najistotniejsze parametry charakteryzuje ujemna wartość średniej indeksu wrażliwościowego, co oznacza zmianę jakościową w przypadku tempa produkcji.

4.4.4 Znalezione struktury w kontekście analizy wrażliwości

Spośród całości przeprowadzonej analizy wrażliwości, w celu ostatecznej weryfikacji występowania struktur sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód, o zachowaniu analogicznym jak dla technicznej postaci tej struktury, wybrano wartości związane z parametrami występującymi w odpowiednich ścieżkach sprzężeń, tak jak pokazano w Tabeli 4.3. Wyniki rozbito na 3 tabele, z których każda przedstawia wartości jednego wskaźnika dla wszystkich kandydatów i wszystkich trzech eksperymentów numerycznych. W Tabeli 4.6 przedstawiono wartości średniej indeksu wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej, w Tabeli 4.8 zestawiono wartości wariancji wskaźnika dla metody w dziedzinie częstotliwości, a w Tabeli 4.4 pokazano wartości średniej wskaźnika wrażliwościowego dla analizy w dziedzinie czasu.

Porównaniu podlegają, dla każdego kandydata, pary parametrów o tym samym charakterze i takiej samej interpretacji biologicznej. Oznacza to dla każdego kandydata 3 pary parametrów, których wartości wskaźników należy porównać - para parametrów λ , para parametrów progu funkcji Hilla - B_0 oraz para temp produkcji - g . Do każ-

dej z tabel prezentującej wartości liczbowe (Tab. 4.4, 4.6, 4.8) skonstruowano tabelę, przedstawiającą wynik porównania dla poszczególnych par parametrów, gdzie kolorem zielonym oznaczono spełnienie zachowania charakterystycznego dla struktury typu feedback-feedforward, a czerwonym niespełnienie (Tab. 4.5, 4.7, 4.9).

Tabela 4.4: Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - średnia indeksu metody w dziedzinie czasu

Kandydat	Parametr	Wyjście	Sprzężenie	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z->(mi200<=>mZ)	λ_{ZmZ}	mRNA Zeb	w przód	9.954E-01	2.964E-04	-1.075E+01
	Z_{0mZ}		w przód	-2.721E-02	-1.046E-05	3.561E-01
	g_{mZ}		w przód	9.995E-01	7.970E-04	-1.099E+01
	λ_{Zmi200}		zwrotne	-7.663E-02	1.216E-04	5.366E-01
	Z_{0mi200}		zwrotne	-1.997E-02	-8.643E-05	4.378E-01
	g_{mi200}		zwrotne	-1.860E-01	-5.533E-04	9.602E-01
Z->(mZ<=>mi200)	λ_{Zmi200}	miR-200	w przód	1.512E-01	-2.060E-04	-7.988E-01
	Z_{0mi200}		w przód	9.531E-02	1.504E-03	-7.496E-01
	g_{mi200}		w przód	9.477E-01	2.959E-03	-3.368E+01
	λ_{ZmZ}		zwrotne	-2.080E+00	-2.841E-03	6.420E-01
	Z_{0mZ}		zwrotne	2.994E-01	2.998E-04	-6.952E-01
	g_{mZ}		zwrotne	-2.502E+00	-3.504E-03	9.137E-01
S->(mZ<=>mi200)	λ_{SmZ}	mRNA Zeb	w przód	8.289E-02	2.314E-04	-2.829E+00
	S_{0mZ}		w przód	8.989E-01	1.720E-03	-2.233E+00
	g_{mZ}		w przód	9.477E-01	2.959E-03	-3.368E+01
	λ_{Smi200}		zwrotne	-2.471E+00	-2.436E-03	8.960E-01
	S_{0mi200}		zwrotne	7.800E-01	-3.091E-03	-2.446E+00
	g_{mi200}		zwrotne	-2.502E+00	-3.504E-03	9.137E-01

Kontynuacja Tabeli 4.4						
S->(mi200<=>mZ)	λ_{Smi200}	miR-200	w przód	9.990E-01	9.466E-04	-1.058E+01
	S_{0mi200}		w przód	-4.672E-01	6.006E-04	9.989E-01
	g_{mi200}		w przód	9.995E-01	7.970E-04	-1.099E+01
	λ_{SmZ}		zwrotne	-2.800E-02	-7.877E-05	5.630E-01
	S_{0mZ}		zwrotne	-1.639E-01	-2.102E-04	4.595E-01
	g_{mZ}		zwrotne	-1.860E-01	-5.533E-04	9.602E-01
S->(mi34<=>mS)	λ_{SmS}	mRNA Snail	w przód	9.552E-02	-1.455E-04	-1.602E+00
	S_{0mS}		w przód	5.347E-01	1.182E-04	-9.247E-01
	g_{mS}		w przód	8.301E-01	2.093E-03	-4.160E+00
	λ_{Smi34}		zwrotne	-1.187E-02	-4.291E-06	3.773E-02
	S_{0mi34}		zwrotne	-1.103E-01	-1.190E-04	3.804E-02
	g_{mi34}		zwrotne	-1.790E-01	8.519E-05	-2.400E-01
S->(mS<=>mi34)	λ_{Smi34}	miR-34	w przód	7.922E-02	9.063E-06	-7.831E-01
	S_{0mi34}		w przód	6.830E-01	8.313E-04	-6.481E-01
	g_{mi34}		w przód	9.005E-01	-4.509E-03	-1.864E+01
	λ_{SmS}		zwrotne	-5.611E-02	6.305E-05	3.644E-01
	S_{0mS}		zwrotne	-1.343E+00	-2.994E-04	2.918E-01
	g_{mS}		zwrotne	-1.981E+00	-3.044E-03	6.731E-01

Tabela 4.5: Wyniki porównania par parametrów w kontekście średniej wskaźnika wrażliwościowego dla metody w dziedzinie czasu

Kandydat	Para parametrów	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z->(mi200<=>mZ)	λ			
	B_0			
	g			
Z->(mZ<=>mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mZ<=>mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mi200<=>mZ)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mi34<=>mS)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mS<=>mi34)	λ			
	B_0			
	g			

W przypadku analizy w dziedzinie czasu (Tabela 4.5) zdecydowanie wyróżnia się struktura "S->(mi200<=>mZ) białko Snail jako sygnał wejściowy, miR-200 jako sterowanie i mRNA Zeb jako wyjście, dla której wszystkie pary parametrów spełniły kryterium związane z wyższą wrażliwością w sprzężeniu w przód, w każdym eksperymencie numerycznym.

Drugą strukturą, na którą warto zwrócić uwagę, jest "S->(mi34<=>mS) białko Snail jako sygnał wejściowy, miR-34 jako sterowanie i mRNA Snail jako wyjście. W tym przypadku kryterium nie zostało spełnione jedynie dla progów w funkcji Hilla i jedynie w przypadku analizy lokalnej. Jednakże patrząc na dokładne wartości wskaźnika (Tab. 4.6) można zobaczyć, że różnica (w kontekście wartości bezwzględnych) na korzyść parametru w sprzężeniu zwrotnym jest mniejsza niż 1%, co pozwala uznać "S->(mi34<=>mS)" za strukturę odpowiadającą w przybliżeniu technicznemu strukturom typu feedback-feedforward.

Przeciwny wniosek można wyciągnąć w stosunku do struktur "S->(mZ<=>mi200)-białko Snail jako sygnał wejściowy, mRNA Zeb jako sterowanie i miR-200 jako wyjście; oraz "Z->(mZ<=>mi200) białko Zeb jako sygnał wejściowy, mRNA Zeb jako sterowanie i miR-200 jako wyjście. Dla tych dwóch kandydatów, mimo przejścia weryfikacji automatycznej, dla większości przypadków wrażliwość wyjścia na zmiany parametrów w pętli sprzężenia zwrotnego jest większa niż odpowiadających parametrów sprzężenia w przód.

Pozostałe dwie struktury wymagają bardziej dokładnej analizy. W przypadku "Z->(mi200<=>mZ) białko Zeb jako sygnał wejściowy, miR-200 jako sterowanie i mRNA Zeb jako wyjście, kryterium nie jest spełnione jedynie w przypadku progu w funkcji Hilla, lecz sytuacja taka zaszła w 2 z 3 eksperymentów numerycznych. Porównując wartości średniej indeksu wrażliwości w tych sytuacjach, można zauważyć, że są one istotnie różne w przypadku analizy lokalnej oraz mniej wyraźnie różne dla znacznego zwiększenia wartości parametru. Należy jednak zaznaczyć, że w każdym przypadku parametr progu w funkcji Hilla był najmniej istotnym spośród analizowanych parametrów.

Dla ostatniej analizowanej struktury - "S->(mS<=>mi34) białko Snail jako sygnał wejściowy, mRNA Snail jako sterowanie i miR-34 jako wyjście, mimo spełnienia kryterium w większości przypadków, dla każdej pary parametrów wystąpiła sytuacja, w której parametr ze ścieżki sprzężenia zwrotnego okazał się bardziej istotny w analizie wrażliwości. Patrząc na konkretne wartości, widać, że w każdym przypadku różnica między wartościami wskaźnika była znaczna (ok. 100% mniejszej z wartości). Co więcej, jedynie w przypadku parametrów λ pary niespełniające kryterium były tymi o najniższej istotności w eksperymencie. Dla B_0 oraz g w teście znacznego zmniejszenia wartości parametru, obie pary są wielokrotnie istotniejsze od λ .

Tabela 4.6: Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - średnia indeksu metody częstotliwościowej

Kandydat	Parametr	Wyjście	Sprzężenie	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z->(mi200<=>mZ)	λ_{ZmZ}	mRNA Zeb	w przód	9.957E-01	7.664E-02	1.052E+01
	Z_{0mZ}		w przód	1.180E-01	3.119E-02	4.882E-01
	g_{mZ}		w przód	9.995E-01	8.587E-02	1.058E+01
	λ_{Zmi200}		zwrotne	1.038E-01	5.905E-03	5.505E-01
	Z_{0mi200}		zwrotne	1.088E-01	7.644E-03	4.523E-01
	g_{mi200}		zwrotne	2.597E-01	5.171E-02	9.595E-01
Z->(mZ<=>mi200)	λ_{Zmi200}	miR-200	w przód	4.912E-01	6.714E-02	9.225E-01
	Z_{0mi200}		w przód	4.656E-01	1.416E-01	8.900E-01
	g_{mi200}		w przód	1.005E+00	1.821E-01	2.628E+01
	λ_{ZmZ}		zwrotne	1.777E+00	2.426E-01	1.018E+00
	Z_{0mZ}		zwrotne	3.983E-01	5.315E-02	9.826E-01
	g_{mZ}		zwrotne	2.084E+00	2.507E-01	1.011E+00
S->(mZ<=>mi200)	λ_{SmZ}	mRNA Zeb	w przód	1.807E-01	1.029E-02	3.389E+00
	S_{0mZ}		w przód	9.654E-01	9.504E-02	2.076E+00
	g_{mZ}		w przód	1.005E+00	1.821E-01	2.628E+01
	λ_{Smi200}		zwrotne	2.061E+00	2.147E-01	1.033E+00
	S_{0mi200}		zwrotne	9.970E-01	2.465E-01	1.963E+00
	g_{mi200}		zwrotne	2.084E+00	2.507E-01	1.011E+00

Kontynuacja Tabeli 4.6						
S->(mi200<=>mZ)	λ_{Smi200}	miR-200	w przód	9.991E-01	8.503E-02	1.025E+01
	S_{0mi200}		w przód	5.972E-01	5.577E-02	9.829E-01
	g_{mi200}		w przód	9.995E-01	8.587E-02	1.058E+01
	λ_{SmZ}		zwrotne	9.701E-02	6.245E-03	6.759E-01
	S_{0mZ}		zwrotne	2.407E-01	4.231E-02	5.316E-01
	g_{mZ}		zwrotne	2.597E-01	5.171E-02	9.595E-01
S->(mi34<=>mS)	λ_{SmS}	mRNA Snail	w przód	9.739E-02	4.558E-03	1.620E+00
	S_{0mS}		w przód	5.395E-01	1.396E-02	9.157E-01
	g_{mS}		w przód	8.314E-01	2.842E-02	4.181E+00
	λ_{Smi34}		zwrotne	1.288E-02	5.105E-04	4.022E-02
	S_{0mi34}		zwrotne	1.159E-01	2.071E-03	4.217E-02
	g_{mi34}		zwrotne	1.849E-01	4.341E-03	2.400E-01
S->(mS<=>mi34)	λ_{Smi34}	miR-34	w przód	1.250E-01	5.812E-03	9.172E-01
	S_{0mi34}		w przód	7.846E-01	3.182E-02	7.552E-01
	g_{mi34}		w przód	9.872E-01	9.061E-02	2.027E+01
	λ_{SmS}		zwrotne	1.423E-01	8.705E-03	5.177E-01
	S_{0mS}		zwrotne	1.273E+00	3.949E-02	4.461E-01
	g_{mS}		zwrotne	1.973E+00	8.490E-02	7.912E-01

Tabela 4.7: Wyniki porównania par parametrów w kontekście średniej wskaźnika wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej

Kandydat	Para parametrów	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)	λ			
	B_0			
	g			
Z- $\rightarrow$ (mZ $\Leftrightarrow$ mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S- $\rightarrow$ (mZ $\Leftrightarrow$ mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)	λ			
	B_0			
	g			
S- $\rightarrow$ (mi34 $\Leftrightarrow$ mS)	λ			
	B_0			
	g			
S- $\rightarrow$ (mS $\Leftrightarrow$ mi34)	λ			
	B_0			
	g			

W kontekście weryfikacji zachowania znalezionych struktur, spośród wskaźników metody częstotliwościowej bardziej istotnym jest średnia indeksu wrażliwościowego, która bardziej wprost odpowiada klasycznej wrażliwości. Dla tego właśnie wskaźnika, dla którego wynik porównania par parametrów przedstawiono w Tabeli 4.7, otrzymane w wyniku automatycznej weryfikacji struktury dzielą się na 2 równoliczne grupy.

Pierwszą tworzą struktury "Z- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)", "S- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)" oraz "S- $\rightarrow$ (mi34 $\Leftrightarrow$ mS)", dla których kryterium zostało spełnione w każdym eksperymencie numerycznym, dla każdego parametru. Porównując ten zestaw struktur z wynikami dla metody w dziedzinie czasu, można zauważyć, że ponownie pojawiają się struktury, dla których wyniki były dosyć jednoznaczne ("S- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)" oraz "S- $\rightarrow$ (mi34 $\Leftrightarrow$ mS)"). Różnicą jest równie jednoznaczny wynik dla "Z- $\rightarrow$ (mi200 $\Leftrightarrow$ mZ)", która przy analizie w dziedzinie czasu osiągnęła niejednoznaczny wynik z uwagi na zachowanie dla progów funkcji Hilla.

Przemawia to za uznaniem tej struktury również za przybliżony odpowiednik technicznej struktury typu feedback-feedforward.

Drugą grupę tworzą struktury, dla których kryterium nie jest spełnione w ponad połowie przypadków. Podobnie jak dla analizy w dziedzinie czasu, pojawiły się w tej grupie "S->(mZ<=>mi200)" oraz "Z->(mZ<=>mi200)". Uzupełnia ją druga ze struktur, dla których wyniki w dziedzinie czasu nie były jednoznaczne - "S->(mS<=>mi34)". Widać, że struktura ta nie spełnia kryterium nie tylko dla ponad połowy wszystkich analizowanych przypadków, ale również dla każdej pary parametrów w co najmniej jednym eksperymencie kryterium nie jest spełnione. W połączeniu z wynikami analizy czasowej przemawia to za uznaniem struktury "S->(mS<=>mi34)" jako niewykazującej działania odpowiadającego technicznej strukturze typu feedback-feedforward.

Tabela 4.8: Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - wariancja indeksu metody częstotliwościowej

Kandydat	Parametr	Wyjście	Sprzężenie	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z->(mi200<=>mZ)	λ_{ZmZ}	mRNA Zeb	w przód	1.211E-07	2.734E-03	8.852E+00
	Z_{0mZ}		w przód	4.725E-09	3.754E-04	3.130E-02
	g_{mZ}		w przód	1.599E-08	2.781E-03	9.021E+00
	λ_{Zmi200}		zwrotne	3.908E-06	1.863E-05	1.330E-02
	Z_{0mi200}		zwrotne	7.912E-05	2.958E-05	5.491E-03
	g_{mi200}		zwrotne	3.501E-06	8.270E-04	1.754E-03
Z->(mZ<=>mi200)	λ_{Zmi200}	miR-200	w przód	9.666E-06	2.336E-03	3.720E-03
	Z_{0mi200}		w przód	9.207E-04	9.297E-03	7.968E-04
	g_{mi200}		w przód	5.014E-05	1.706E-02	4.769E+01
	λ_{ZmZ}		zwrotne	4.205E-04	1.904E-02	8.539E-03
	Z_{0mZ}		zwrotne	2.115E-08	1.264E-03	6.291E-02
	g_{mZ}		zwrotne	1.281E-04	2.073E-02	7.715E-04
S->(mZ<=>mi200)	λ_{SmZ}	mRNA Zeb	w przód	1.829E-05	5.953E-05	4.324E+00
	S_{0mZ}		w przód	3.102E-05	5.558E-03	2.394E-02
	g_{mZ}		w przód	5.014E-05	1.706E-02	4.769E+01
	λ_{Smi200}		zwrotne	1.536E-04	1.917E-02	5.248E-04
	S_{0mi200}		zwrotne	5.020E-06	2.220E-02	3.478E-02
	g_{mi200}		zwrotne	1.281E-04	2.073E-02	7.715E-04

Kontynuacja Tabeli 4.8						
S->(mi200<=>mZ)	λ_{Smi200}	miR-200	w przód	2.698E-08	3.174E-03	7.881E+00
	S_{0mi200}		w przód	2.177E-05	1.351E-03	2.421E-03
	g_{mi200}		w przód	1.599E-08	2.781E-03	9.021E+00
	λ_{SmZ}		zwrotne	1.258E-06	2.166E-05	8.527E-02
	S_{0mZ}		zwrotne	5.136E-07	7.126E-04	1.680E-03
	g_{mZ}		zwrotne	3.501E-06	8.270E-04	1.754E-03
S->(mi34<=>mS)	λ_{SmS}	mRNA Snail	w przód	6.366E-06	1.081E-05	2.935E-01
	S_{0mS}		w przód	1.214E-03	1.090E-04	1.200E-02
	g_{mS}		w przód	1.455E-03	5.027E-04	8.951E-01
	λ_{Smi34}		zwrotne	1.461E-07	1.423E-07	1.255E-05
	S_{0mi34}		zwrotne	7.245E-05	2.274E-06	6.573E-07
	g_{mi34}		zwrotne	6.950E-05	1.104E-05	1.322E-03
S->(mS<=>mi34)	λ_{Smi34}	miR-34	w przód	9.226E-06	1.850E-05	5.563E-02
	S_{0mi34}		w przód	1.045E-03	5.033E-04	1.731E-03
	g_{mi34}		w przód	4.905E-04	3.858E-03	3.943E+01
	λ_{SmS}		zwrotne	5.038E-06	3.913E-05	5.746E-03
	S_{0mS}		zwrotne	8.121E-02	7.033E-04	4.528E-04
	g_{mS}		zwrotne	4.676E-03	2.440E-03	9.560E-04

Tabela 4.9: Wyniki porównania par parametrów w kontekście wariancji wskaźnika wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej

Kandydat	Para parametrów	Znaczne zmniejszenie wartości	Analiza lokalna	Znaczne zwiększenie wartości
Z->(mi200<=>mZ)	λ			
	B_0			
	g			
Z->(mZ<=>mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mZ<=>mi200)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mi200<=>mZ)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mi34<=>mS)	λ			
	B_0			
	g			
S->(mS<=>mi34)	λ			
	B_0			
	g			

Ostatnią analizą jest porównanie wartości dla wskaźnika w postaci wariancji indeksu wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej (Tabela 4.8). Wyniki tego porównania w kontekście kryterium związanego z zachowaniem technicznych struktur sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód, przedstawia Tabela 4.9. Jedyny jednoznacznie pozytywny wynik osiągnęła struktura "S->(mi34<=>mS)", co jest zgodne z dotychczasowymi analizami. Podobnie, jednoznacznie negatywny wynik (niespełnienie kryterium w ponad połowie przypadków) uzyskały struktury "Z->(mZ<=>mi200)" oraz "S->(mZ<=>mi200)", dla których analiza wskaźników opartych o średnią wskazała tak samo.

Spośród pozostałych struktur najlepszy wynik osiągnęła struktura "S->(mi200<=>mZ)", z niezgodnością wskazaną jedynie w jednym eksperymencie numerycznym, lecz dla dwóch par parametrów. Nieco gorzej prezentuje się struktura "Z->(mi200<=>mZ)", dla

której podobnie, niezgodność wykazano jedynie w jednym eksperymencie numerycznym, lecz dla wszystkich par parametrów. Najgorszy wynik w tej grupie uzyskała struktura "S->(mS<=>mi34)", z niezgodnością wykazaną w przypadku dwóch eksperymentów numerycznych, dla dwóch par parametrów w każdym oraz co najmniej jedną niezgodnością dla każdej pary parametrów w przekroju wszystkich eksperymentów numerycznych.

Pamiętać należy jednak, że w kontekście analizowanego kryterium, wskaźnik oparty o wariancję indeksu wrażliwościowego jest najmniej istotny i może służyć bardziej w roli rozstrzygania wątpliwości dotyczących struktur, których nie dały rady rozwiązać wskaźniki oparte o średnią.

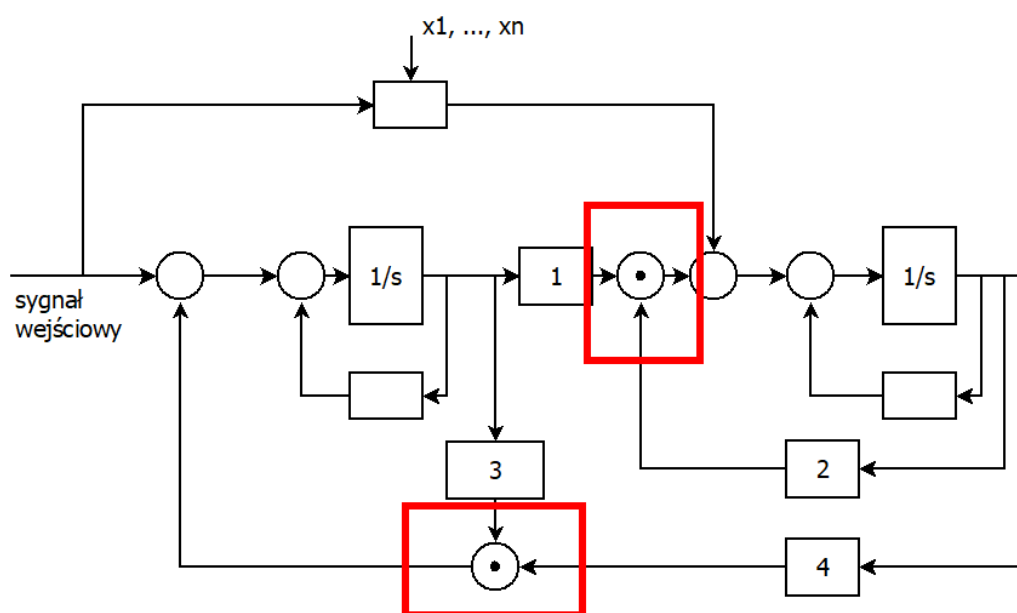
Ostatecznie, na podstawie całości przeprowadzonej analizy wrażliwości, należy uznać, że spośród znalezionych przez algorytm 6 wystąpień struktury typu feedback-feedforward, jedynie 3 z nich spełniały kryterium dotyczące wrażliwości wyjścia w stopniu wystarczającym, aby uznać je za fragmenty odpowiadające funkcjonalnie technicznym układom sterowania opartym o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód.

4.4.5 Dyskusja uzyskanych wyników

Wyznaczone przez algorytm potencjalne struktury były zbudowane w oparciu o 3 różne sprzężenia zwrotne. Na każdej pętli zbudowane były 2 potencjalne struktury typu feedback-feedforward, w których zmianie podlegało przypisanie zmiennej roli wyjścia z obiektu regulacji. Jest to zgodne z idealną strukturą poszukiwanego układu regulacji, gdzie zmieniając interpretację sygnałów - sterowanie staje się wyjściem, a wyjście sterowaniem - po odpowiednich przekształceniach również otrzymujemy strukturę sterowania typu feedback-feedforward.

Jednakże analiza wrażliwości wykazała, że dla każdej takiej pary tylko jeden fragment ścieżki charakteryzował się zachowaniem zgodnym z układami technicznymi. Powodem takiego zachowania jest fakt, że kryteria przyjęte przy określaniu, czy dany zestaw zmiennych tworzy strukturę mogącą być układem sterowania typu feedback-feedforward, były mniej ścisłe i określały jedynie przybliżenie idealnej struktury technicznej. W szczególności, pozwalają na występowanie dodatkowych sprzężeń pomiędzy zmiennymi tworzącymi główną pętlę sprzężenia zwrotnego, definiującą strukturę. Zauważyć należy, że każdorazowo główna pętla sprzężenia zwrotnego zbudowana jest na

interakcji pewnego mRNA i pewnego miRNA. Co więcej, jako struktury wykazujące poszukiwane zachowanie, analiza wskazała te struktury, w których to mRNA jest wyjściem, miRNA zaś sygnałem sterującym. W przypadku wszystkich znalezionych potencjalnych struktur dodatkowe sprzężenie między zmiennymi występuje w dwóch miejscach struktury. Są one zaznaczone na Rys. 4.43, który pokazuje ogólny schemat blokowy reprezentujący wszystkie analizowane struktury.



Rysunek 4.43: Ogólny schemat blokowy znalezionych struktur z zaznaczonymi dodatkowymi sprzężeniami

W zależności od sygnału pełniącego rolę wyjścia w strukturze, bloki oznaczone cyframi od 1 do 4, oznaczają zależność innej postaci, a także inne zachowanie dodatkowych sprzężeń. W równaniach modelu, zaznaczone na Rys. 4.43 węzły mnożące są związane z członami określającymi aktywną degradację mRNA i miRNA. Jeżeli więc jako wyjście zostanie przyjęte miRNA, bloki numer 2 oraz 4 odpowiadać będą funkcjom Y_μ i Y_m , zaś bloki numer 1 i 3 mnożeniu przez stałą wartość równą 1. Z kolei, gdy wyjściem będzie mRNA, bloki 2 i 4 będą wzmocnieniem jednostkowym, a bloki 1 i 3 funkcjami opisującymi aktywną degradację. Jest to istotne z uwagi na charakter funkcji Y_μ i Y_m wykazujący niewielką zmienność w szerokim zakresie wartości miRNA (powyżej wartości μ_0), a także fakt, że układ działa przede wszystkim w tym zakresie wartości.

Takie zachowanie jest szczególnie istotne w przypadku dodatkowego sprzężenia po-

wiązanego z blokami numer 3 i 4, które wpływa na główną pętlę sprzężenia zwrotnego struktury. Wystąpienie funkcji Y_m w bloku 4., a więc miRNA na wyjściu, oznacza, że zmienność na wyjściu (które odpowiada zmienności sygnału związanego z ilością cząsteczek mRNA) zdominuje główne sprzężenie zwrotne. Układ będzie wtedy bardzo słabo reagował na zmiany w sygnale wyjściowym, w momencie kiedy zmiany wystąpią również w sygnale sterującym. W takiej sytuacji założenie o istnieniu głównej pętli sprzężenia zwrotnego łączącego określenie sygnału sterującego z wartością wyjścia nie będzie spełnione, więc analizowana struktura nie będzie układem sterowania typu feedback-feedforward. Natomiast, gdy w bloku 4. wystąpi jednostkowe wzmocnienie, sytuacja się odwróci i wpływ zmienności sygnału sterującego (poprzez funkcję w bloku 3.) na główną pętlę sprzężenia będzie znacznie mniejszy niż wpływ zmienności sygnału wyjściowego.

Inna sytuacja występuje w przypadku sprzężenia związanego z blokami numer 1 i 2. Występowanie miRNA na wyjściu oznacza wystąpienie funkcji Y_μ w bloku 2. Przez analogię z analizą dla głównej pętli sprzężenia zwrotnego, oznacza to mniejszy wpływ dodatkowego sprzężenia i reakcję obiektu zdominowaną przez sygnał sterujący. Jednakże w tym przypadku efekt ten nie jest tak istotny z punktu widzenia całości struktury. Nie jest to bowiem ingerencja w żadne z kluczowych dla struktury sprzężeń (główne zwrotne i w przód), tylko w wyjście regulatora. Oznacza to więc, że regulator musi zrekompensować wpływ nieliniowości funkcji Y_μ , aby zapewnić skuteczne sterowanie, natomiast reakcja nadal jest uzależniona od wyjścia układu oraz, poprzez dwie ścieżki, od sygnału wejściowego.

4.5 Podsumowanie

W rozdziale wykorzystałem dostępne w literaturze modele matematyczne wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, ze szczególnym naciskiem położonym na przejście epitelialno-mezenchymalne. Zaproponowałem metodę poszukiwania określonych struktur regulacji z wykorzystaniem reprezentacji oddziaływań między komponentami modelu w postaci grafu skierowanego. Stworzyłem również wstępne narzędzie pozwalające na automatyzację procesu tworzenia i przeszukiwania grafu. Sprawdziłem jego działanie w oparciu o modele szlaków, w których opisano w literaturze występowanie pętli sprzężenia zwrotnego. Następnie zaproponowałem metodę weryfikacji odnalezio-

nych poprzez analizę grafu kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward, opierającą się o analizę występowania kluczowych węzłów sumacyjnych w równaniach modelu. Procedurę tę zastosowałem do modelu ścieżki EMT. Dla wykrytych kandydatów przeprowadziłem analizę wrażliwości w celu sprawdzenia zgodności zachowania z oczekiwanym dla technicznych układów typu feedback-feedforward, a następnie omówiłem źródła niezgodności w przypadku części odnalezionych wcześniej kandydatów.

Szlak sygnałowy EMT

Analizowany w ramach tego rozdziału model szlaku sygnałowego EMT jest modelem niewielkich rozmiarów, jak na opisy matematyczne szlaków sygnałowych. Mimo tego, zapewnia on odpowiednią złożoność, aby możliwe było odnalezienie powiązań między molekułami, które strukturą oraz zachowaniem przypominają układ sterowania ze sprzężeniem zwrotnym i sprzężeniem w przód.

Wykorzystując zaproponowane podejście algorytmiczne i stworzone oprogramowanie, odnaleziono zostało wstępnie 6 zbiorów połączeń między molekułami, spełniających kryteria podobieństwa strukturalnego. Wszystkie obejmowały po jednym przedstawicielu z grup białek, mRNA oraz miRNA, w różnych konfiguracjach oraz przypisując im różne role w strukturze sterowania.

Ostateczną weryfikację znalezionych struktur stanowiła analiza wrażliwości, która posłużyła do sprawdzenia podobieństwa w zachowaniu znalezionych kandydatów do struktury typu feedback-feedforward. Porównując wartości indeksów wrażliwościowych między odpowiednio sparowanymi parametrami modelu, określono, że jedynie połowa kandydatów, którzy przeszli weryfikację strukturalną, spełniała również kryterium dotyczące wrażliwości. Odrzucenie pozostałych kandydatów związane było z występowaniem dodatkowych powiązań między molekułami, wykraczającymi poza standardową postać poszukiwanej struktury sterowania. W zależności od przypisania roli regulatora do mRNA lub miRNA, te dodatkowe powiązania mogły znacząco modyfikować główną pętlę sprzężenia zwrotnego, powodując jej marginalizację. Z tego też powodu proponowane przez oprogramowanie struktury traktowane powinny być jedynie jako punkt wyjścia dla pogłębionej analizy, wstępną selekcję spośród wszystkich możliwych podzbiorów wielkości tworzących strukturę.

Ciekawą obserwacją jest, że w przypadku wszystkich kandydatów, którzy przeszli

cały proces weryfikacji, każdorazowo rola regulatora w strukturze przypisana była do miRNA. Zgadza się to z badaniami pokazującymi regulatorową funkcję miRNA, mimo że wiedza ta nie była wykorzystywana na żadnym etapie prowadzonej analizy.

Przedstawione w sekcji 4.4 wyniki odnoszą się oczywiście jedynie do jednego modelu matematycznego, jednego szlaku sygnałowego, jednakże metodologia może zostać z powodzeniem zastosowana w przypadku innych modeli innych szlaków sygnałowych. Odnalezienie w modelu matematycznym szlaku sygnałowego struktur typu feedback-feedforward stanowić może istotny krok w celu ograniczenia liczby parametrów uwzględnianych w dalszych analizach wrażliwości. Wiedząc, że wyjście struktury jest bardziej wrażliwe na zmiany parametrów w ścieżce sprzężenia w przód, poprzez identyfikację zbioru parametrów występujących w ścieżce sprzężenia zwrotnego takiej struktury, możemy wyłączyć je z początkowej analizy wrażliwości, redukując czas i nakład obliczeniowy niezbędny do jej przeprowadzenia. Wykorzystując stworzone oprogramowanie do wskazania miejsc mogących stanowić daną strukturę sterowania, znacząco ograniczamy liczbę przypadków, które muszą zostać ręcznie zweryfikowane, przyspieszając proces wstępnej selekcji parametrów o dużej istotności.

Odnalezienie danej struktury w modelu nie jest jednak gwarantowane. Z przykład mogą posłużyć modele wykorzystane do weryfikacji działania algorytmu poszukiwania. W przypadku modelu szlaku p53/Mdm2 ([42]) oraz szlaku odpowiedzi na stan zapalny ([173]) już na etapie zastosowania oprogramowania nie wytypowano żadnego kandydata, który spełniałby kryteria strukturalnego podobieństwa do układu sterowania typu feedback-feedforward. Z kolei dla modelu szlaku NF- κ B wytypowano kilku kandydatów na strukturę sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód, lecz żaden nie przeszedł pozytywnie następnego etapu weryfikacji.

Zaproponowany w rozdziale sposób postępowania może zostać rozszerzony również na inne struktury sterowania znane i stosowane w przemyśle (np. strukturę kaskadową), przy czym cel wykorzystania takiej analizy musi być dostosowany do cech charakterystycznych zachowania poszukiwanej struktury. Dalszy rozwój proponowanego algorytmu powinien również obejmować możliwość poszukiwania pętli sprzężenia zwrotnego opartego o większą liczbę wierzchołków grafu zależności, a następnie próbę odzyskania złożonych struktur regulacji zbudowanych na takich długich pętlach sprzężenia zwrotnego.

Rozdział 5

Podsumowanie

Przedstawione w niniejszej pracy analizy wybranych modeli układów biomedycznych, pokrywających szeroki zakres skal zjawisk biologicznych, z oczywistych względów nie są wyczerpujące. Istnieje wiele zjawisk i wiele modeli, które również mogłyby zostać wykorzystane w miejsce wybranych. Jednakże to różnorodność stanowi najważniejszą cechę wykorzystanego zestawu modeli, nie konkretne przykłady.

Analizowane modele pokrywały sobą trzy różne skale (poziomy) zjawisk biologicznych:

- obejmujących całość organizmu, reprezentujących zjawiska fizjologiczne;
- uwzględniających zachowanie grup komórek, mogące mieć wpływ lokalny lub globalny;
- zachodzących wewnątrz pojedynczej komórki.

Równocześnie wybór modeli w ramach każdej grupy był związany z potencjalnym zastosowaniem medycznym uzyskanych rezultatów. Z tego powodu skoncentrowano się na przykładach reprezentujących choroby (cukrzyca typu 1, nowotwór), lub jak w przypadku zjawisk wewnątrzkomórkowych, na przykładach powiązanych z występowaniem chorób (ścieżka EMT, mogąca prowadzić do przerzutowania).

Istotne jest, że w ramach każdego z analizowanych poziomów można było mówić o sterowaniu i strukturach występującego układu regulacji. Również w tym kontekście objawiała się różnorodność w ramach analizowanych modeli. Zidentyfikować można struktury od układu otwartego, bez sprzężenia zwrotnego, poprzez standardową pętlę zamkniętą wykorzystującą różne algorytmy regulacji, po bardziej złożone struktury, jak

sprężenie zwrotne ze sprężeniem w przód zarówno od zakłócenia, jak i wartości zadanej.

W ramach pierwszego poziomu zjawisk (rozdział 2) analizowano model ludzkiego układu regulacji poziomu glukozy we krwi, w sytuacji całkowitego braku produkcji insuliny przez organizm. Obecnie najmocniej rozwijane podejście terapeutyczne polega na zastąpieniu biologicznej regulacji w trzustce układem technicznym (sztuczną trzustką). Składa się on z czujnika glukozy, pompy insulinowej oraz algorytmu sterowania decydującego o niezbędnej dawce insuliny, co czyni ze sztucznej trzustki typowy układ regulacji w pętli zamkniętej.

Drugi poziom, związany z populacjami komórkowymi, reprezentował model rozwoju nowotworu łitego z uwzględnieniem powstawania przerzutów odległych i działania terapeutycznego (rozdział 3). Brano pod uwagę klasyczne metody leczenia - chemioterapię i radioterapię, a wyniki działania modelu określano względem rzeczywistych danych przeżyciowych pacjentów chorych na raka płuc. W tym przypadku, z uwagi na duży odstęp czasowy między badaniami pozwalającymi na określenie rozmiaru guza, leczenie traktowane jako sterowanie rozmiarem nowotworu stanowi przykład układu otwartego.

Ostatni analizowany poziom zjawisk biologicznych obejmował wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe (rozdział 4). Spośród wielu szlaków występujących w komórkach ludzkich, wybrano przejście epitelialno-mezenchymalne, którego aktywacja może powodować pojawianie się zdolności przerzutowania u komórek nowotworowych. Sieć wzajemnych powiązań między cząsteczkami biorącymi udział w aktywacji ścieżki tworzy strukturę je regulującą, w której można poszukiwać struktur analogicznych do technicznych rozwiązań z zakresu sterowania.

W pracy nacisk został położony na struktury sterowania występujące w modelach układów biomedycznych i ich zachowanie w obecności zakłóceń czy heterogeniczności. Z tego względu podsumowanie wyników zorganizowano według struktur sterowania, poczynając od najprostszej.

5.1 Sterowanie w układzie otwartym

Sterowaniem w najprostszej możliwej strukturze występuje, jak wspomniano wcześniej, w przypadku terapii antynowotworowej, gdzie brak możliwości zmierzenia rozmiaru guza z odpowiednią częstotliwością uniemożliwia skuteczne wprowadzenie sprzężenia zwrotnego (rozdział 3). Cechą charakterystyczną takich układów sterowania, będącą naturalną konsekwencją braku informacji o popełnianym błędzie, jest wysoka wrażliwość na różnice między modelem a rzeczywistym obiektem.

Wielkością wyjściową modelu, która mogła być porównana z rzeczywistymi danymi, była funkcja przeżycia reprezentowana przez krzywe Kaplana-Meiera. Jest to wynik analizy statystycznej dla kohorty pacjentów. Oznacza to, że źródłem różnic między modelowanym wyjściem a rzeczywistym może być nie tylko rozbieżność w opisie matematycznym samego zjawiska, ale również nieodpowiedni skład wirtualnej kohorty, na której są prowadzone badania symulacyjne.

W ramach przeprowadzonych symulacji zbadano, jaki wpływ na różnicę między danymi klinicznymi a rzeczywistymi ma uwzględnienie w budowaniu kohorty wirtualnej kolejnych cech dostępnego zbioru pacjentów rzeczywistych. Cechami tymi były kolejno:

- rozmiar początkowy guza, uzależniony od stadium T pacjenta;
- proporcja stosowania poszczególnych terapii w całości kohorty;
- początkowy rozmiar przerzutu uwzględniający minimalną wykrywalną średnicę guza;
- proporcja stosowania poszczególnych terapii w ramach każdego stadium T.

Zauważyć można, że część wymienionych cech jest dosyć oczywista (jak np. te dotyczące warunków początkowych), jednak uwzględniono je dla pełności analizy. Kluczowe rozróżnienie dotyczy przyporządkowania pacjentom wirtualnym terapii. Poprawa związana z uwzględnieniem w jakikolwiek sposób rzeczywistego podziału jest oczekiwana. Jednakże istotnym pytaniem jest, czy bardziej szczegółowe odwzorowanie podziałów występujących w danych klinicznych powoduje poprawę wartą dodatkowej komplikacji procesu generowania kohorty.

Uzyskane wyniki, zarówno w kontekście wizualnej analizy krzywych Kaplana-Meiera, jak i testu statystycznego log-rank, pozwalającego na porównywanie danych przeżyciowych, wskazały na istotność uwzględnienia wszystkich wymienionych cech. Wyniki testu log-rank dla całości kohorty wykazały zmianę jakościową uzyskiwanych wyników

w przypadku wprowadzenia warunku początkowego zależnego od stadium T pacjenta (Tabela 3.6) oraz przy podstawowym uwzględnieniu podziału terapii (Tabela 3.5), co jest wynikiem spodziewanym.

Dalsze analizy, wykonane przy porównaniu funkcji przeżycia w ramach stadium T, wykazały zmianę jakościową wyników porównania po wprowadzeniu kolejnych cech kohorty rzeczywistej. Jedynie w przypadku kohorty wirtualnej, zawierającej wszystkie wymienione wcześniej cechy, żadna z analiz testem log-rank nie wykazała istotnych statystycznie różnic między funkcjami przeżycia uzyskanymi z modelu i danych klinicznych (Tabele 3.7 i 3.8).

Pamiętać należy, że wyniki te uzyskano bez zmian w samym modelu matematycznym, co oznacza, że drugie ze źródeł rozbieżności między symulacją a rzeczywistością pozostawało niezmiennie. Warto zauważyć również, że wprowadzone cechy kohorty rzeczywistej nie są na tyle szczegółowe, aby spowodować idealne odwzorowanie w kohorcie wirtualnej, co pozwala na utrzymanie uogólniającego charakteru samego modelowania.

Przeprowadzone analizy wykazały, że badany model układu biomedycznego swoim zachowaniem odpowiada spodziewanemu zachowaniu technicznego układu sterowania o strukturze otwartej, a odpowiednie modyfikacje składu kohorty wirtualnej powodowały jakościowe zmiany zgodności wyników modelu z danymi klinicznymi. Potwierdza więc to tezę 2. określoną w 1.2.

Z proponowanego uwzględnienia kluczowych w badanym przypadku cech kohorty rzeczywistej przy tworzeniu kohorty wirtualnej skorzystać mogą wszystkie modele, których wyniki mają charakter populacyjny, a które mogą być traktowane jak zadanie sterowania w układzie otwartym.

5.2 Sterowanie w układzie zamkniętym

Wprowadzenie sprzężenia zwrotnego pozwala reagować na różnice między obserwowanym a pożądanym wyjściem układu poprzez odpowiednie zmiany sygnału sterującego. Sprawia to, że w przeciwieństwie do układu otwartego, struktury ze sprzężeniem zwrotnym są odporne na zmiany i niedokładności modelu używanego do ich syntezy.

Pętle zamknięte w modelach biologicznych analizowanych w niniejszej pracy można

podzielić w zależności od ich źródła pochodzenia na:

- naturalne - obecne w ścieżkach sygnałowych, a nie wynikające z ingerencji człowieka;
- sztuczne - jak sztuczna trzustka, będące wynikiem ingerencji człowieka, najczęściej w celu zastąpienia wadliwie działającego układu naturalnego.

Różnią się one możliwością analizy ze względu na zakres i łatwość wprowadzania modyfikacji. W przypadku pętli sztucznych możliwe jest wiele rodzajów ingerencji, lecz w przypadku pętli naturalnych zakres ten jest ograniczony, a samo wprowadzanie zmian trudniejsze.

W niniejszej pracy, w kontekście naturalnych układów z pętlą sprzężenia zwrotnego, pokazano, że możliwe jest automatyczne wykrycie takich struktur. Choć samo wykrycie pętli sprzężenia zwrotnego nie jest trudnym zagadnieniem, automatyzacja pozwala na przyspieszenie analizy, w szczególności przy większych modelach. Co więcej, pętla sprzężenia zwrotnego jest punktem wyjścia dla wielu bardziej złożonych struktur sterowania, więc automatyzacja jej wykrycia jest krokiem w kierunku wykrywania innych struktur.

Zastosowanie pętli sprzężenia zwrotnego, wraz z jej odpornością, zostało pokazane na przykładzie sztucznej trzustki, a więc w zagadnieniu zastąpienia niedziałającego układu naturalnego technicznym systemem spełniającym tę samą rolę (rozdział 2). Przetestowano w środowisku symulacyjnym dwa algorytmy sterowania, w ramach scenariuszy uwzględniających posiłki oraz wysiłek fizyczny. W każdym przypadku zbadano dwie wartości poziomu glukozy we krwi, do których miał dążyć układ regulacji - $80 \frac{mg}{dl}$ (agresywna) i $100 \frac{mg}{dl}$ (konserwatywna). Sprawdzono również wpływ ograniczenia wartości maksymalnej sygnału sterującego na działanie sztucznej trzustki.

Uzyskane rezultaty wskazały na zachowanie zgodne z oczekiwaniami wynikającymi ze struktury układu. Podniesienie wartości zadanej układu regulacji spowodowało występowanie dłuższych czasów z podwyższonym poziomem glukozy we krwi, ale zarazem znaczące obniżenie liczby epizodów i czasu hipoglikemii. Równocześnie jednak charakter rozkładów wartości obu czasów pozostawał taki sam, niezależnie od wartości zadanej. Oznacza to, że poprzez modyfikację wartości zadanej możliwe jest dopasowanie działania układu regulacji do potrzeb indywidualnego pacjenta bez konieczności ingerencji w sam układ, jak np. ponowne strojenie regulatorów.

Rezultaty uzyskane dla scenariusza 1. (Tabela 2.4 i Rysunki 2.8 - 2.10) pokazały, że

ten sam układ regulacji jest w stanie poradzić sobie z zadaniem utrzymania poziomu glukozy we krwi dla szerokiego zakresu zmian wartości parametrów pacjenta, względem nominalnych, dla których strojony był regulator. Występowanie pojedynczych epizodów hipoglikemii spowodowanych działaniem układu sterowania można skutecznie ograniczyć poprzez modyfikację wartości zadanej. Równocześnie wyniki wskazały na konieczność wprowadzenia ograniczenia wartości sygnału sterującego z powodu możliwych przekroczeń dopuszczalnej dziennej dawki insuliny.

Uzyskane wyniki stanowią potwierdzenie hipotezy 1, określonej w 1.2, gdyż zwiększenie wartości zadanej spowodowało poprawę działania układu regulacji w kwestii liczby i czasu trwania epizodów hipoglikemii, niezależnie od zmian algorytmu regulacji. Choć równocześnie pogorszeniu uległy wskaźniki dotyczące hiperglikemii, zachowanie to dotyczy wszystkich rozważanych modyfikacji układu sztucznej trzustki mających na celu zmniejszenie czasu trwania hipoglikemii, nie jest więc cechą charakterystyczną zmiany wartości zadanej, lecz samego obiektu sterowania.

Wprowadzenie wysiłku fizycznego do scenariuszy testowych wykazało niezdolność układu regulacji do odpowiedniej reakcji, co przekładało się na znaczący wzrost liczby i czasu trwania epizodów hipoglikemii. Należy jednak zauważyć, że zachowanie takie jest w pełni zgodne z oczekiwaniami wobec struktury pętli sprzężenia zwrotnego i ograniczeń wynikających z konkretnego jej zastosowania. Po pierwsze, brak jest w układzie sygnału sterującego, mogącego podnieść poziom glukozy we krwi. Oznacza to, że jeżeli wystąpi hipoglikemia, układ regulacji nie ma możliwości działania. Po drugie, wysiłek fizyczny w tym układzie jest szybkozmiennym zakłóceniem, którego efekt na poziom glukozy jest znaczący. Powoduje to, że reakcja regulatora uzależniona od sprzężenia zwrotnego jest zbyt wolna, by skutecznie zapobiec wystąpieniu hipoglikemii.

5.3 Sterowanie w układzie zamkniętym z dodatkowym sprzężeniem w przód

Podstawowe struktury sterowania są wystarczające w znacznej części problemów wymagających zastosowania automatycznej regulacji. Jednakże istnieją zagadnienia wymagające wykorzystania rozwiązań bardziej złożonych, lecz bazujących nadal na podstawach - sprzężeniu zwrotnym. Przykładem takiej struktury analizowanej w niniejszej

pracy było połączenie sprzężenia zwrotnego z układem otwartym w postaci sprzężenia w przód. Pozwala ona na skorzystanie z zalet obu rozwiązań: szybkości układu otwartego oraz odporności pętli zamkniętej. Jednakże, aby taka struktura działała poprawnie i skutecznie, człon związany ze sprzężeniem w przód musi być określony bardzo uważnie. Błędy w określeniu tej części układu sterowania mogą powodować wystąpienie dodatkowych zaburzeń w sygnale sprzężenia w przód, który oddziałuje na obiekt znacznie szybciej, niż jest w stanie reagować pętla sprzężenia zwrotnego.

Dodatkowe sprzężenie w omawianej strukturze może zostać skonstruowane w oparciu o zakłócenie oddziałujące na układ lub wartość zadaną. Przykładem dla pierwszego wariantu struktury jest proponowane rozwiązanie problemu reakcji na wysiłek w układzie sztucznej trzustki. Choć nie jest ono klasyczne, z uwagi na specyfikę obiektu sterowania, polega na modyfikacji układu opartego o sprzężenie zwrotne i uwzględnieniu informacji o planowanym wysiłku, zanim on nastąpi. Pozwala to układowi sterowania zareagować znacznie szybciej niż w przypadku samego sprzężenia zwrotnego, gdyż nie ma potrzeby czekania na uwidocznienie się efektu wysiłku w sygnale wyjściowym. Pokazuje to kluczowy obszar zastosowania tego rodzaju dodatkowego sprzężenia w przód, a więc układy, w których obiekt sterowania cechuje się wolną dynamiką, a zakłócenie może być szybkozmienne.

Drugi z wariantów dodatkowego sprzężenia w przód polega na propagowaniu wartości wejściowej (zadanej) układu regulacji w kierunku obiektu sterowania dwutorowo: poprzez klasyczne sprzężenie zwrotne z obliczaniem uchybu regulacji i bezpośrednio poprzez równoległą ścieżkę sprzężenia w przód. Celem stosowania takiej struktury jest umożliwienie reakcji bezpośrednio po wystąpieniu zmiany wejścia, która następnie zostanie skorygowana przez sprzężenie zwrotne. Przykłady tego rodzaju struktury pokazano w niniejszej pracy w ramach modelu szlaku sygnałowego przejścia epitelialno-mezenchymalnego (rozdział 4).

Bazując na stworzonym oprogramowaniu do automatycznego wyszukiwania struktur, zidentyfikowano grupę oddziaływań pomiędzy cząsteczkami uwzględnionymi w modelu, które pod względem strukturalnym przypominały układ sterowania w pętli zamkniętej ze sprzężeniem w przód od wartości wejściowej. Funkcjonalną cechą charakterystyczną takiego układu, poza szybkością pierwszej reakcji, jest wspomniana wcześniej wrażliwość na zmiany w ramach toru sprzężenia w przód. Przeprowadzono analizę wrażliwości znalezionych kandydatów, aby zweryfikować, czy podobieństwo struktu-

ralne jest związane z podobieństwem funkcjonalnym do poszukiwanej struktury.

Wyniki analiz (zebrane w Tabelach 4.4 - 4.9) wskazały, że jedynie w połowie przypadków odnalezione podobieństwo strukturalne wiązało się z zachowaniem typowym dla struktury ze sprzężeniem w przód. Związane było to z przybliżonym charakterem znalezionej podobieństwa - weryfikowane było istnienie kluczowych węzłów struktury, lecz nie sprawdzano występowania dodatkowych połączeń. W 4.4.5 przedstawiono, że dodatkowe sprzężenie zwrotne występujące w analizowanych kandydatach wspólnie z nieliniowością części reakcji może powodować efektywne zaburzenie znalezionej struktury, a w efekcie brak funkcjonalnego podobieństwa do technicznej struktury ze sprzężeniem w przód. Równocześnie, dla przypadków, w których potwierdzono zachowanie zgodne z oczekiwanym, te same zjawiska powodowały redukcję wpływu dodatkowych połączeń i zbliżenie struktury do wzorca. Choć proponowane w pracy oprogramowanie nie pozwoliło na pełne automatyczne rozwiązanie kwestii detekcji struktury typu feedback-feedforward, jest to jedynie wynik niedoskonałości narzędzia.

Potwierdzenie występowania funkcjonalnego podobieństwa między fragmentami szlaku sygnałowego a techniczną strukturą sprzężenia zwrotnego ze sprzężeniem w przód oznacza, że możliwe jest jego wykorzystanie w celu redukcji liczby parametrów wymaganych w analizie wrażliwości ukierunkowanej m. in. na odnalezienie nowych celów terapeutycznych. Wiedząc o zwiększonej wrażliwości w torze sprzężenia w przód, można na początkowym etapie pominąć parametry występujące w torze sprzężenia zwrotnego dla fragmentu wykazującego podobieństwo do takiej struktury. Potwierdza to więc hipotezę 3 z opisanych w 1.2.

Bibliografia

- [1] G. Aleppo, T. Battelino, R. Bergenstal, J. Chamberlain, I. Hirsch, A. Peters. *Role of Continuous Glucose Monitoring in Diabetes Treatment*. American Diabetes Association, 2018.
- [2] Frank Allgöwer, Uwe Helmke, Eduardo D. Sontag. Control theory: On the way to new application fields. *Oberwolfach Reports*, 6(1):593–680, 2009.
- [3] KJ Almquist, HT Banks. A theoretical and computational method for determining optimal treatment schedules in fractionated radiation therapy. *Mathematical Biosciences*, 29(1-2):159–179, 1976.
- [4] Abdel-Latif Alshalalfah, Ghaith Bany Hamad, Otmane Ait Mohamed. Towards safe and robust closed-loop artificial pancreas using improved PID-based control strategies. *IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Regular Papers*, 68(8):3147–3157, 2021.
- [5] Stephanie K. Aoki, Gabriele Lillacci, Ankit Gupta, Armin Baumschlager, David Schweingruber, Mustafa Khammash. A universal biomolecular integral feedback controller for robust perfect adaptation. *Nature*, 570(7762):533–537, 2019.
- [6] Marcus Werner Appel, Michael Walther, Ulrich Konigorski. Modeling and control of production networks. *2018 25th International Conference on Mechatronics and Machine Vision in Practice (M2VIP)*, strona 1–6. IEEE, 2018.
- [7] Athanasios Armakolas, Maria Kotsari, John Koskinas. Liquid biopsies, novel approaches and future directions. *Cancers*, 15(5):1579, 2023.

- [8] Khalid M. Arthur, Se Young Yoon. Robust stabilization at uncertain equilibrium by output derivative feedback control. *ISA Transactions*, 107:40–51, 2020.
- [9] American Diabetes Association. 2. classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, 40(Supplement_1):S11–S24, 2016.
- [10] Karl Johan Åström, Tore Hägglund. *PID Controllers: Theory, Design, and Tuning*. ISA - The Instrumentation, Systems and Automation Society, 1995.
- [11] R. Bacci Di Capaci, C. Scali. Performance improvements of cascade and feed-forward control schemes for industrial processes. *Chemical Engineering Transactions*, 57:985–990, 2017.
- [12] R. Bacci Di Capaci, C. Scali, E. Rossi, F. Gomiero, A. Pagano. A system for advanced performance monitoring: Application to complex plants of the chemical industry. *Chemical Engineering Transactions*, 43:1369–1374, 2015.
- [13] D Barbolosi, J Ciccolini, C Meille, X Elharrar, C Faivre, B Lacarelle, N André, F Barlesi. Metronomics chemotherapy: time for computational decision support. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 74:647–652, 2014.
- [14] Dominique Barbolosi, Assia Benabdallah, Florence Hubert, Federico Verga. Mathematical and numerical analysis for a model of growing metastatic tumors. *Mathematical Biosciences*, 218(1):1–14, 2009.
- [15] F Barlesi, L Deyme, DC Imbs, E Cousin, M Barbolosi, S Bonnet, P Tomasini, L Greillier, M Galloux, A Testot-Ferry, A Pelletier, N André’, J Ciccolini, D Barbolosi. Revisiting metronomic vinorelbine with mathematical modelling: a phase i trial in lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 90:149–160, 2022.
- [16] Yazdan Batmani, Shadi Khodakaramzadeh, Parham Moradi. Automatic artificial pancreas systems using an intelligent multiple-model pid strategy. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, 26(4):1708–1717, 2022.
- [17] John Bechhoefer. *Control Theory for Physicists*. Cambridge University Press, 2021.

-
- [18] Anchana P. Belmon, Jeraldin Auxillia. An adaptive technique based blood glucose control in type-1 diabetes mellitus patients. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 36(8), 2020.
- [19] A. Bemporad, M. Morari, V. Dua, E.N Pistikopoulos. The explicit linear quadratic regulator for constrained systems. *Automatica*, 38(1):3–20, 2002.
- [20] S. Bennett. Development of the PID controller. *IEEE Control Systems Magazine*, 13(6):58–62, 1993.
- [21] Sébastien Benzekry. Mathematical analysis of a two-dimensional population model of metastatic growth including angiogenesis. *Journal of Evolution Equations*, 11(1):187–213, 2010.
- [22] B. Wayne Bequette. Algorithms for a closed-loop artificial pancreas: The case for model predictive control. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 7(6):1632–1643, 2013.
- [23] Richard N Bergman. Toward physiological understanding of glucose tolerance: Minimal-model approach. *Diabetes*, 38(12):1512–1527, 1989.
- [24] Arthur Bertachi, Charrise M. Ramkissoon, Jorge Bondia, Josep Vehí. Automated blood glucose control in type 1 diabetes: A review of progress and challenges. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 65(3):172–181, 2018.
- [25] M. Bilous, C. Serdjebi, A. Boyer, P. Tomasini, C. Pouypoudat, D. Barbolosi, F. Barlesi, F. Chomy, S. Benzekry. Quantitative mathematical modeling of clinical brain metastasis dynamics in non-small cell lung cancer. *Scientific Reports*, 9:13018, 2019.
- [26] Jeffery R. Bird, Gary L. Brahm, Christopher Fung, Sunit Sebastian, Iain D. C. Kirkpatrick. Recommendations for the management of incidental hepatobiliary findings in adults: Endorsement and adaptation of the 2017 and 2013 acr incidental findings committee white papers by the canadian association of radiologists incidental findings working group. *Canadian Association of Radiologists Journal*, 71(4):437–447, 2020.

- [27] Helga Blauw, A. Joannet Onvlee, Michel Klaassen, Arianne C. van Bon, J. Hans DeVries. Fully closed loop glucose control with a bihormonal artificial pancreas in adults with type 1 diabetes: An outpatient, randomized, crossover trial. *Diabetes Care*, 44(3):836–838, 2021.
- [28] Marcelo Boareto, Mohit Kumar Jolly, Eshel Ben-Jacob, José N. Onuchic. Jagged mediates differences in normal and tumor angiogenesis by affecting tip-stalk fate decision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(29), 2015.
- [29] Federico Bocci, Mohit K. Jolly, Satyendra C. Tripathi, Mitzi Aguilar, Samir M. Hanash, Herbert Levine, José N. Onuchic. Numb prevents a complete epithelial–mesenchymal transition by modulating Notch signalling. *Journal of The Royal Society Interface*, 14(136):20170512, 2017.
- [30] Onn Brandman, Tobias Meyer. Feedback loops shape cellular signals in space and time. *Science*, 322(5900):390–395, 2008.
- [31] James D Brierley, Elizabeth Van Eycken, Brian Rous, Meredith Giuliani. *TNM classification of malignant tumours*. John wiley & sons, 2025.
- [32] A.E. Bryson. Optimal control-1950 to 1985. *IEEE Control Systems*, 16(3):26–33, 1996.
- [33] Mauricio Burotto, Victoria L. Chiou, Jung-Min Lee, Elise C. Kohn. The MAPK pathway across different malignancies: A new perspective. *Cancer*, 120(22):3446–3456, 2014.
- [34] Ewart R. Carson. *The role of mathematical models in biomedical research*, strona 161–177. Macmillan Education UK, 1983.
- [35] Shan Chai, Liuping Wang, Eric Rogers. A cascade mpc control structure for a pmsm with speed ripple minimization. *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, 60(8):2978–2987, 2013.
- [36] X Chai, E Yinwang, Z Wang, Z Wang, Y Xue, B Li, H Zhou, W Zhang, S Wang, Y Zhang, H Li, H Mou, L Sun, H Qu, F Wang, Z Zhang, T Chen, Z Ye. Predictive

- and prognostic biomarkers for lung cancer bone metastasis and their therapeutic value. *Front Oncol.*, 11:692788, 2021.
- [37] N. Chawankul, H. Budman, P.L. Douglas. The integration of design and control: Imc control and robustness. *Computers & Chemical Engineering*, 29(2):261–271, 2005.
- [38] Jiming Chen, Kejie Cao, Youxian Sun, Yang Xiao, Xu(Kevin) Su. Continuous drug infusion for diabetes therapy: A closed-loop control system design. *EURASIP Journal on Wireless Communications and Networking*, 2008(1), 2007.
- [39] Ting Chen, Hongyu L. HE, George M. Church. Modeling gene expression with differential equations. *Biocomputing '99*. WORLD SCIENTIFIC, 1998.
- [40] Raymond Cheong, Alexander Hoffmann, Andre Levchenko. Understanding NF- κ B signaling via mathematical modeling. *Molecular Systems Biology*, 4(1), 2008.
- [41] Marcin Ciechański, Edyta Witkowska, Agnieszka Ostańska, Adrianna Szafran, Klaudia Wiśniewska, Laura Piasek, Grzegorz Godek, Kacper Więclaw, Katarzyna Stańko, Wiktor Terelak. Pros and cons of continuous glucose monitoring. *Journal of Medical Science*, 2023.
- [42] Andrea Ciliberto, Bela Novak, John J. Tyson. Steady states and oscillations in the p53/Mdm2 network. *Cell Cycle*, 4(3):488–493, 2005.
- [43] Christian Cimander, Carl-Fredrik Mandenius. Bioprocess control from a multivariate process trajectory. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 26(6):401–411, 2003.
- [44] Ali Cinar. Automated insulin delivery algorithms. *Diabetes Spectrum*, 32(3):209–214, 2019.
- [45] Claudio Cobelli, Boris Kovatchev. Developing the uva/padova type 1 diabetes simulator: Modeling, validation, refinements, and utility. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 17(6):1493–1505, Wrzesień 2023.

- [46] Claudio Cobelli, Mauro Ursino. A model approach: Mathematical modeling provides an increasingly clear picture of glucose and neural systems. *IEEE Pulse*, 6(4):33–38, 2015.
- [47] P. H. Colmegna, F. D. Bianchi, R. S. Sanchez-Pena. Automatic glucose control during meals and exercise in type 1 diabetes: Proof-of-concept in silico tests using a switched LPV approach. *IEEE Control Systems Letters*, 5(5):1489–1494, 2021.
- [48] Jeroen H.A. Creemers, Ankur Ankan, Kit C.B. Roes, Gijs Schröder, Niven Mehra, Carl G. Figdor, I. Jolanda M. de Vries, Johannes Textor. In silico cancer immunotherapy trials uncover the consequences of therapy-specific response patterns for clinical trial design and outcome. *Nature Communications*, 14:2348, 2023.
- [49] David Crosby, Sangeeta Bhatia, Kevin M. Brindle, Lisa M. Coussens, Caroline Dive, Mark Emberton, Sadik Esener, Rebecca C. Fitzgerald, Sanjiv S. Gambhir, Peter Kuhn, Timothy R. Rebbeck, Shankar Balasubramanian. Early detection of cancer. *Science*, 375(6586), 2022.
- [50] P Cumsille, M Godoy, ZP Gerdtzen, C Conca. Parameter estimation and mathematical modeling for the quantitative description of therapy failure due to drug resistance in gastrointestinal stromal tumor metastasis to the liver. *PLoS One*, 14:e0217332, 2019.
- [51] J Cunningham, F Thuijsman, R Peeters, Y Viossat, J Brown, R Gatenby, K Staňková. Optimal control to reach eco-evolutionary stability in metastatic castrate-resistant prostate cancer. *PLoS One*, 15:e0243386, 2020.
- [52] Alberto Dalla Libera, Chiara Toffanin, Martina Drecogna, Alfonso Galderisi, Gianluigi Pillonetto, Claudio Cobelli. In silico design and validation of a time-varying pid controller for an artificial pancreas with intraperitoneal insulin delivery and glucose sensing. *APL Bioengineering*, 7(2), 2023.
- [53] P.R. Davidson, R.D. Jones, J.H. Andreae, H.R. Sirisena. Simulating closed- and open-loop voluntary movement: a nonlinear control-systems approach. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 49(11):1242–1252, 2002.

-
- [54] Lisette G de Pillis, K Renee Fister, Weiqing Gu, Tiffany Head, Kenny Maples, Todd Neal, Anand Murugan, Kenji Kozai. Optimal control of mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors. *Journal of Biological systems*, 16(01):51–80, 2008.
- [55] Frank C. Detterbeck, Christopher J. Gibson. Turning gray: The natural history of lung cancer over time. *Journal of Thoracic Oncology*, 3(7):781–792, 2008.
- [56] H Dillekås, MS Rogers, O Straume. Are 90% of deaths from cancer caused by metastases? *Cancer Med*, 8:5574–5576, 2019.
- [57] George Dimitriadis, Anne M.M. Fransen, Eric Maris. Sensory and cognitive neurophysiology in rats. part 2: Validation and demonstration. *Journal of Neuroscience Methods*, 232:47–57, 2014.
- [58] Zhiyong Ding, Nan Wang, Ning Ji, Zhe-Sheng Chen. Proteomics technologies for cancer liquid biopsies. *Molecular Cancer*, 21(1), 2022.
- [59] A.W. Divelbiss, J.T. Wen. Trajectory tracking control of a car-trailer system. *IEEE Transactions on Control Systems Technology*, 5(3):269–278, 1997.
- [60] Ján Eliaš, Cicely K. Macnamara. Mathematical modelling of p53 signalling during DNA damage response: A survey. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19):10590, 2021.
- [61] S.J. Elliott, T.J. Sutton. Performance of feedforward and feedback systems for active control. *IEEE Transactions on Speech and Audio Processing*, 4(3):214–223, 1996.
- [62] Leisha A Emens, Pedro J Romero, Ana Carrizosa Anderson, Tullia C Bruno, Christian M Capitini, Deborah Collyar, James L Gulley, Patrick Hwu, Avery D Posey, Ann W Silk, Jennifer A Wargo. Challenges and opportunities in cancer immunotherapy: a society for immunotherapy of cancer (sitc) strategic vision. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 12(6):e009063, 2024.
- [63] Michael Engelhart, Dirk Lebiedz, Sebastian Sager. Optimal control for selected cancer chemotherapy ode models: A view on the potential of optimal schedules and choice of objective function. *Mathematical Biosciences*, 229(1):123–134, 2011.

- [64] Ayla Ergun, Kevin Camphausen, Lawrence M Wein. Optimal scheduling of radiotherapy and angiogenic inhibitors. *Bulletin of mathematical biology*, 65(3):407–424, 2003.
- [65] Pier Giorgio Fabietti, Valentina Canonico, Marco Orsini-Federici, Eugenio Sarti, Massimo Massi-Benedetti. Clinical validation of a new control-oriented model of insulin and glucose dynamics in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 9(4):327–338, 2007.
- [66] Lihui Fang, Yangyu Li, Meiqi Shao, Aiwen Yu, Bassem F. Felemban, Ayman A. Aly, Shalli Rani, Xiaohong Lyu. Enhancing medical signal processing and diagnosis with ai-generated content techniques. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, strona 1–14, 2024.
- [67] J. Fernandez de Canete, S. Gonzalez-Perez, J.C. Ramos-Diaz. Artificial neural networks for closed loop control of in silico and ad hoc type 1 diabetes. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 106(1):55–66, 2012.
- [68] Maurice Filo, Sant Kumar, Mustafa Khammash. A hierarchy of biomolecular proportional-integral-derivative feedback controllers for robust perfect adaptation and dynamic performance. *Nature Communications*, 13(1), 2022.
- [69] John F. Fowler. The linear-quadratic formula and progress in fractionated radiotherapy. *The British Journal of Radiology*, 62(740):679–694, 1989.
- [70] Brody H. Foy, Bronner P. Gonçalves, John M. Higgins. Unraveling disease pathophysiology with mathematical modeling. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 15(1):371–394, 2020.
- [71] R. G. Franks, C. W. Worley. Quantitative analysis of cascade control. *Industrial & Engineering Chemistry*, 48(6):1074–1079, 1956.
- [72] Timothy Frei, Ching-Hsiang Chang, Maurice Filo, Asterios Arampatzis, Mustafa Khammash. A genetic mammalian proportional–integral feedback control circuit for robust and precise gene regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(24), 2022.

-
- [73] Dongliao Fu, Zhigang Hu, Xinyang Xu, Xiaoyan Dai, Ziyi Liu. Key signal transduction pathways and crosstalk in cancer: Biological and therapeutic opportunities. *Translational Oncology*, 26:101510, 2022.
- [74] Minyue Fu. Robust stabilization of linear uncertain systems via quantized feedback. *42nd IEEE International Conference on Decision and Control (IEEE Cat. No.03CH37475)*, wolumen 1 serii CDC-03, strona 199–203. IEEE, 2003.
- [75] Yoshihisa Fujita, Naoki Komatsu, Michiyuki Matsuda, Kazuhiro Aoki. Fluorescence resonance energy transfer based quantitative analysis of feedforward and feedback loops in epidermal growth factor receptor signaling and the sensitivity to molecular targeting drugs. *The FEBS Journal*, 281(14):3177–3192, 2014.
- [76] V.D. Funtanilla, P. Candidate, T. Caliendo, O. Hilas. Continuous glucose monitoring: A review of available systems. *Pharmacy and Therapeutics*, 44:550–553, 2019.
- [77] R. Gabasov, F. M. Kirillova, N. S. Pavlenok. Optimal control of a dynamic system using perfect measurements of its states. *Doklady Mathematics*, 85(3):436–440, 2012.
- [78] J Gallaher, M Strobl, J West, R Gatenby, J Zhang, M Robertson-Tessi, ARA Anderson. Intermetastatic and intrametastatic heterogeneity shapes adaptive therapy cycling dynamics. *Cancer Res.*, 83:2775–2789, 2023.
- [79] JA Gallaher, PM Enriquez-Navas, KA Luddy, RA Gatenby, ARA Anderson. Spatial heterogeneity and evolutionary dynamics modulate time to recurrence in continuous and adaptive cancer therapies. *Cancer Res.*, 78:2127–2139, 2018.
- [80] Yuanli Gao, Lei Wang, Baojun Wang. Customizing cellular signal processing by synthetic multi-level regulatory circuits. *Nature Communications*, 14(1), 2023.
- [81] Yuval Gazit, James W. Baish, Nina Safabakhsh, Michael Leunig, Laurence T. Baxter, Rakesh K. Jain. Fractal characteristics of tumor vascular architecture during tumor growth and regression. *Microcirculation*, 4(4):395–402, 1997.

- [82] Changran Geng, Harald Paganetti, Clemens Grassberger. Prediction of treatment response for combined chemo- and radiation therapy for non-small cell lung cancer patients using a bio-mathematical model. *Scientific Reports*, 7(1), 2017.
- [83] Ramy Ghanim, Anika Kaushik, Jihoon Park, Alex Abramson. Communication protocols integrating wearables, ingestibles, and implantables for closed-loop therapies. *Device*, 1(3):100092, 2023.
- [84] Daniel T. Gillespie. Stochastic simulation of chemical kinetics. *Annual Review of Physical Chemistry*, 58(1):35–55, 2007.
- [85] Patric Glynn, Sathya D. Unudurthi, Thomas J. Hund. Mathematical modeling of physiological systems: An essential tool for discovery. *Life Sciences*, 111(1–2):1–5, 2014.
- [86] Piotr Gromek, Zuzanna Senkowska, Elżbieta Płuciennik, Zbigniew Pasięka, Lin-Yong Zhao, Adrianna Gielecińska, Mateusz Kciuk, Karol Kłosiński, Żaneta Kałuzińska-Kołat, Damian Kołat. Revisiting the standards of cancer detection and therapy alongside their comparison to modern methods. *World Journal of Methodology*, 14(2), 2024.
- [87] Keqin Gu. Linear feedback stabilization of arbitrary time varying uncertain systems. *1992 American Control Conference*, strona 2893–2894. IEEE, 1992.
- [88] Kaja Gutowska, Daria Kogut, Malgorzata Kardynska, Piotr Formanowicz, Jaroslaw Smieja, Krzysztof Puszyński. Petri nets and ODEs as complementary methods for comprehensive analysis on an example of the ATM–p53–NF- κ B signaling pathways. *Scientific Reports*, 12(1), 2022.
- [89] Juergen Hahn, Thomas Edison, Thomas F. Edgar. Adaptive imc control for drug infusion for biological systems. *Control Engineering Practice*, 10(1):45–56, 2002.
- [90] Douglas Hanahan, Robert A. Weinberg. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5):646–674, 2011.
- [91] John T. Hancock. *Cell Signalling*. Oxford University Press, 2021.

-
- [92] Ejvind Frausing Hansen, Jens Dahlgaard Hove, Charlotte Sandau Bech, Jens-Ulrik Stæhr Jensen, Thomas Kallemose, Jørgen Vestbo. Automated oxygen control with o2matic[®] during admission with exacerbation of copd. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 13:3997–4003, 2018.
- [93] P. Harriott. *Process Control*. McGraw-Hill series in chemical engineering. McGraw-Hill, 1964.
- [94] M Hasegawa, S Sone, S Takashima, F Li, Z G Yang, Y Maruyama, T Watanabe. Growth rate of small lung cancers detected on mass CT screening. *The British Journal of Radiology*, 73(876):1252–1259, 2000.
- [95] E.D. Hay. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Cells Tissues Organs*, 154(1):8–20, 1995.
- [96] Michael Hecker, Sandro Lambeck, Susanne Toepfer, Eugene van Someren, Reinhard Guthke. Gene regulatory network inference: Data integration in dynamic models—a review. *Biosystems*, 96(1):86–103, 2009.
- [97] P. Herrero, P. Georgiou, N. Oliver, J. Reddy, M. and Johnston, C. Toumazou. A composite model of glucagon-glucose dynamics for in silico testing of bihormonal glucose controllers. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 7(4):941–951, 2013.
- [98] Karen Hicklin, Kristen Hassmiller Lich. *Mathematical Modeling in Population Health Research*, strony 157–C11.P88. Oxford University Press New York, 2020.
- [99] I.B. Hirsch. Type 1 diabetes mellitus and the use of flexible insulin regimens. *American family physician*, 60(8):2343–2356, 1999.
- [100] Alexander Hoffmann, Andre Levchenko, Martin L. Scott, David Baltimore. The I κ B-NF- κ B signaling module: Temporal control and selective gene activation. *Science*, 298(5596):1241–1245, 2002.
- [101] B Hoffmann, T Frenzel, R Schmitz, U Schumacher, G Wedemann. Modeling growth of tumors and their spreading behavior using mathematical functions. *Methods Mol Biol.*, 1878:263–277, 2019.

- [102] Stefan G. Hofmann. A network control theory of dynamic systems approach to personalize therapy. *Behavior Therapy*, 56(1):199–212, 2025.
- [103] Isaac M Horowitz. *Synthesis of feedback systems*. Elsevier, 2013.
- [104] R. Hovorka, K. Kumareswaran, J. Harris, J. M. Allen, D. Elleri, D. Xing, C. Kollman, M. Nodale, H. R. Murphy, D. B. Dunger, S. A. Amiel, S. R. Heller, M. E. Wilinska, M. L. Evans. Overnight closed loop insulin delivery (artificial pancreas) in adults with type 1 diabetes: crossover randomised controlled studies. *BMJ*, 342(apr13 5):d1855–d1855, 2011.
- [105] Roman Hovorka, Janet M Allen, Daniela Elleri, Ludovic J Chassin, Julie Harris, Dongyuan Xing, Craig Kollman, Tomas Hovorka, Anne Mette F Larsen, Marianna Nodale, Alessandra De Palma, Malgorzata E Wilinska, Carlo L Acerini, David B Dunger. Manual closed-loop insulin delivery in children and adolescents with type 1 diabetes: a phase 2 randomised crossover trial. *The Lancet*, 375(9716):743–751, 2010.
- [106] Roman Hovorka, Valentina Canonico, Ludovic J Chassin, Ulrich Haueter, Massimo Massi-Benedetti, Marco Orsini Federici, Thomas R Pieber, Helga C Schaller, Lukas Schaupp, Thomas Vering, Malgorzata E Wilinska. Nonlinear model predictive control of glucose concentration in subjects with type 1 diabetes. *Physiological Measurement*, 25(4):905–920, 2004.
- [107] Yen-Che Hsiao, Abhishek Dutta. Network modeling and control of dynamic disease pathways, review and perspectives. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics*, 21(5):1211–1230, 2024.
- [108] Chelsea Y. Hu, Richard M. Murray. Layered feedback control overcomes performance trade-off in synthetic biomolecular networks. *Nature Communications*, 13(1), 2022.
- [109] Weiwei Hu, Jun Liu, Zhu Wang. Bilinear control of convection-cooling: From open-loop to closed-loop. *Applied Mathematics & Optimization*, 86(1), 2022.

-
- [110] Vân Anh Huynh-Thu, Guido Sanguinetti. Combining tree-based and dynamical systems for the inference of gene regulatory networks. *Bioinformatics*, 31(10):1614–1622, 2015.
- [111] Michael D. Intriligator. *The applications of control theory to economics*, strona 605–626. Springer-Verlag, 2005.
- [112] Masayuki Iwano, David Plieth, Theodore M. Danoff, Chengsen Xue, Hirokazu Okada, Eric G. Neilson. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 110(3):341–350, 2002.
- [113] K Iwata, K Kawasaki, N Shigesada. A dynamical model for the growth and size distribution of multiple metastatic tumors. *Journal of Theoretical Biology*, 203(2):177–186, 2000.
- [114] Smieja J. Mathematical modeling support for lung cancer therapy-a short review. *Int J Mol Sci.*, 24:14516, 2023.
- [115] Serge Jabbour, Elizabeth A. Stephens, redaktorzy. *Type 1 Diabetes in Adults*. CRC Press, 2007.
- [116] Wen Jia, Mohit Kumar Jolly, Herbert Levine. NRF2-dependent epigenetic regulation can promote the hybrid epithelial/mesenchymal phenotype. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 2022.
- [117] Kaitlyn E. Johnson, Grant Howard, William Mo, Michael K. Strasser, Ernesto A. B. F. Lima, Sui Huang, Amy Brock. Cancer cell population growth kinetics at low densities deviate from the exponential growth model and suggest an allee effect. *PLOS Biology*, 17(8):e3000399, 2019.
- [118] Mohit Kumar Jolly, Satyendra C. Tripathi, Dongya Jia, Steven M. Mooney, Muge Celiktaş, Samir M. Hanash, Sendurai A. Mani, Kenneth J. Pienta, Eshel Ben-Jacob, Herbert Levine. Stability of the hybrid epithelial/mesenchymal phenotype. *Oncotarget*, 7(19):27067–27084, 2016.
- [119] Raghu Kalluri, Eric G. Neilson. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12):1776–1784, 2003.

- [120] Mohammadreza Kamaldar, Syed Aseem Ul Islam, Sneha Sanjeevini, Ankit Goel, Jesse B. Hoagg, Dennis S. Bernstein. Adaptive digital pid control of first-order-lag-plus-dead-time dynamics with sensor, actuator, and feedback nonlinearities. *Advanced Control for Applications*, 1(1), 2019.
- [121] E. L. Kaplan, Paul Meier. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53(282):457–481, 1958.
- [122] Malgorzata Kardynska, Jaroslaw Smieja, Pawel Paszek, Krzysztof Puszynski. Application of sensitivity analysis to discover potential molecular drug targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12):6604, 2022.
- [123] Malgorzata Kardynska, Jaroslaw Smieja, Krzysztof Puszynski. Application of sensitivity analysis for molecular drug targets searching with regard to the NF- κ B signaling pathway. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 10(2):82–87, 2021.
- [124] Alexandra K Kiemer, Kyoko Takeuchi, Margaret P Quinlan. Identification of genes involved in epithelial-mesenchymal transition and tumor progression. *Oncogene*, 20(46):6679–6688, 2001.
- [125] Jonas Kildegaard, Jette Randløv, Jens Ulrik Poulsen, Ole K. Hejlesen. The impact of non-model-related variability on blood glucose prediction. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 9(4):363–371, 2007.
- [126] D.E. Kirk. *Optimal Control Theory: An Introduction*. Dover Books on Electrical Engineering Series. Dover Publications, 2004.
- [127] E. Kirk, G. Condous, B. Van Calster, S. Van Huffel, D. Timmerman, T. Bourne. Rationalizing the follow-up of pregnancies of unknown location. *Human Reproduction*, 22(6):1744–1750, 2007.
- [128] Tobias Kleinert, Martin Weickgenannt, Bernd Judat, Veit Hagenmeyer. Cascaded two-degree-of-freedom control of seeded batch crystallisations based on explicit system inversion. *Journal of Process Control*, 20(1):29–44, 2010.

-
- [129] U. Klueh, J.T. Frailey, Y. Qiao, O. Antar, D.L. Kreutzer. Cell based metabolic barriers to glucose diffusion: Macrophages and continuous glucose monitoring. *Biomaterials*, 35(10):3145–3153, 2014.
- [130] U. Klueh, Z. Liu, T. Ouyang, B. Cho, B. Feldman, T.P. Henning, D. Kreutzer. Blood-induced interference of glucose sensor function in vitro: Implications for in vivo sensor function. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 1(6):842–849, 2007.
- [131] K.C. Koh, H.S. Cho. Design of a feedforward controller for trajectory tracking based on steady state error analysis: Its application to robotic joint controller. *IFAC Proceedings Volumes*, 23(8):127–132, 1990.
- [132] Kostyantyn Kolisnyk, Viktoriia Kolisnyk, Torsten Wik. Methods for developing effective models of biomedical processes in matlab. *2024 IEEE 17th International Conference on Advanced Trends in Radioelectronics, Telecommunications and Computer Engineering (TCSET)*, strona 499–503. IEEE, 2024.
- [133] H L Kundel. Predictive value and threshold detectability of lung tumors. *Radiology*, 139(1):25–29, 1981.
- [134] J. Kuźnik. *Regulatory i układy regulacji*. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2006.
- [135] Omar Lababede, Moulay A. Meziane. The eighth edition of TNM staging of lung cancer: Reference chart and diagrams. *The Oncologist*, 23(7):844–848, 2018.
- [136] Samy Lamouille, Jian Xu, Rik Derynck. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(3):178–196, 2014.
- [137] Urszula Ledzewicz, Heinz Schättler. Multi-input optimal control problems for combined tumor anti-angiogenic and radiotherapy treatments. *Journal of Optimization Theory and Applications*, 153(1):195–224, 2012.
- [138] Urszula Ledzewicz, Heinz Schättler. An optimal control approach to cancer chemotherapy with tumor–immune system interactions. *Mathematical models of tumor-immune system dynamics*, strony 157–196. Springer, 2014.

- [139] Urszula Ledzewicz, Heinz Schättler, M Reisi Gahrooi, S Mahmoudian Dehkordi. On the mtd paradigm and optimal control for multi-drug cancer chemotherapy. *Math Biosci Eng*, 10(3):803–819, 2013.
- [140] E.D. Lehmann, T. Deutsch. A physiological model of glucose-insulin interaction in type 1 diabetes mellitus. *Journal of Biomedical Engineering*, 14(3):235–242, 1992.
- [141] Chunhe Li, Tian Hong, Qing Nie. Quantifying the landscape and kinetic paths for epithelial–mesenchymal transition from a core circuit. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(27):17949–17956, 2016.
- [142] Chun-Kai Liao, Ya-Ting Kuo, Yueh-Chen Lin, Yih-Jong Chern, Yu-Jen Hsu, Yen-Lin Yu, Jy-Ming Chiang, Pao-Shiu Hsieh, Chien-Yuh Yeh, Jeng-Fu You. Neoadjuvant short-course radiotherapy followed by consolidation chemotherapy before surgery for treating locally advanced rectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Current Oncology*, 29(5):3708–3727, 2022.
- [143] Tomasz Lipniacki, Pawel Paszek, Allan R. Brasier, Bruce Luxon, Marek Kimmel. Mathematical model of NF- κ B regulatory module. *Journal of Theoretical Biology*, 228(2):195–215, 2004.
- [144] Lu Liu, Siyuan Tian, Dingyu Xue, Tao Zhang, YangQuan Chen. Industrial feedforward control technology: a review. *Journal of Intelligent Manufacturing*, 30(8):2819–2833, 2018.
- [145] Lu Liu, Siyuan Tian, Dingyu Xue, Tao Zhang, YangQuan Chen. Industrial feedforward control technology: a review. *Journal of Intelligent Manufacturing*, 30(8):2819–2833, 2018.
- [146] Yikai Liu, Ruozheng Wu, Aimin Yang. Research on medical problems based on mathematical models. *Mathematics*, 11(13):2842, 2023.
- [147] Yiqun Liu, Qi Yu, Li Yang, Yue Cui. Materials and biomedical applications of implantable electronic devices. *Advanced Materials Technologies*, 8(4), 2022.
- [148] Saife N. Lone, Sabah Nisar, Tariq Masoodi, Mayank Singh, Arshi Rizwan, Sheema Hashem, Wael El-Rifai, Davide Bedognetti, Surinder K. Batra, Mohammad Haris,

-
- Ajaz A. Bhat, Muzafar A. Macha. Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Molecular Cancer*, 21(1), 2022.
- [149] Mingyang Lu, Mohit Kumar Jolly, Herbert Levine, José N. Onuchic, Eshel Ben-Jacob. MicroRNA-based regulation of epithelial–hybrid–mesenchymal fate determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(45):18144–18149, 2013.
- [150] William L. Luyben. Parallel cascade control. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, 12(4):463–467, 1973.
- [151] S.M. Lynch, B.W. Bequette. Estimation-based model predictive control of blood glucose in type i diabetics: a simulation study. *Proceedings of the IEEE 27th Annual Northeast Bioengineering Conference (Cat. No.01CH37201)*. IEEE, 2001.
- [152] Liwei Ma, Huiling Guo, Yunxiang Zhao, Zhibo Liu, Chenran Wang, Jiahao Bu, Ting Sun, Jianwei Wei. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 2024.
- [153] L. Magni, D.M. Raimondo, C. Dalla Man, M. Breton, S. Patek, G. De Nicolao, C. Cobelli, B.P. Kovatchev. Evaluating the efficacy of closed-loop glucose regulation via control-variability grid analysis. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 2(4):630–635, 2008.
- [154] Athena Makroglou, Jiaxu Li, Yang Kuang. Mathematical models and software tools for the glucose-insulin regulatory system and diabetes: an overview. *Applied Numerical Mathematics*, 56(3–4):559–573, 2006.
- [155] C.D. Man, M. Camilleri, C. Cobelli. A system model of oral glucose absorption: Validation on gold standard data. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 53(12):2472–2478, 2006.
- [156] Chiara Dalla Man, Francesco Micheletto, Dayu Lv, Marc Breton, Boris Kovatchev, Claudio Cobelli. The uva/padova type 1 diabetes simulator: New features. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 8(1):26–34, Stycze/n 2014.

- [157] Nathan Mantel. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep*, 50(3):163–170, 1966.
- [158] G. Marchetti, M. Barolo, L. Jovanovic, H. Zisser, D.E. Seborg. An improved PID switching control strategy for type 1 diabetes. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 55(3):857–865, 2008.
- [159] Lawrence Markus. Control dynamical systems. *Mathematical Systems Theory*, 3(2):179–185, 1969.
- [160] Dolbniak Marzena, Smieja Jaroslaw, Swierniak Andrzej. Structural sensitivity of control models arising in combined chemo-radiotherapy. *2018 23rd International Conference on Methods & Models in Automation & Robotics (MMAR)*, strony 339–344. IEEE, 2018.
- [161] MA Masud, JY Kim, Kim E. Effective dose window for containing tumor burden under tolerable level. *NPJ Syst Biol Appl.*, 9:17, 2023.
- [162] B Matejko, A. Kukulka, B. Kieć-Wilk, A. Stąpór, T. Klupa, M.T. Malecki. Basal insulin dose in adults with type 1 diabetes mellitus on insulin pumps in real-life clinical practice: A single-center experience. *Advances in Medicine*, 2018:1–5, 2018.
- [163] Massimiliano Mattei. Robust multivariable pid control for linear parameter varying systems. *Automatica*, 37(12):1997–2003, 2001.
- [164] Richard Mauseth, Sandra M. Lord, Irl B. Hirsch, Robert C. Kircher, Don P. Matheson, Carla J. Greenbaum. Stress testing of an artificial pancreas system with pizza and exercise leads to improvements in the system’s fuzzy logic controller. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 9(6):1253–1259, 2015.
- [165] Anca Maxim, Dana Copot, Cosmin Copot, Clara M. Ionescu. The 5w’s for control as part of industry 4.0: Why, what, where, who, and when—a pid and mpc control perspective. *Inventions*, 4(1):10, 2019.
- [166] Minesh Mehta, Rufus Scrimger, Rock Mackie, Bhudatt Paliwal, Rick Chappell, Jack Fowler. A new approach to dose escalation in non–small-cell lung cancer. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 49(1):23–33, 2001.

-
- [167] Lenny H. H. Meijer, Alex Joesaar, Erik Steur, Wouter Engelen, Rutger A. van Santen, Maarten Merkx, Tom F. A. de Greef. Hierarchical control of enzymatic actuators using DNA-based switchable memories. *Nature Communications*, 8(1), 2017.
- [168] Sara Moayedi, Weibo Xia, Liam Lundergan, Heyang Yuan, Jinjia Xu. Zwitterionic polymers for biomedical applications: Antimicrobial and antifouling strategies toward implantable medical devices and drug delivery. *Langmuir*, 40(44):23125–23145, 2024.
- [169] Sun Joon Moon, Inha Jung, Cheol-Young Park. Current advances of artificial pancreas systems: A comprehensive review of the clinical evidence. *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(6):813–839, 2021.
- [170] T. Murata. Petri nets: Properties, analysis and applications. *Proceedings of the IEEE*, 77(4):541–580, 1989.
- [171] Ujjwal Manikya Nath, Chanchal Dey, Rajani K. Mudi. Review on imc-based pid controller design approach with experimental validations. *IETE Journal of Research*, 69(3):1640–1660, 2021.
- [172] National Cancer Institute. NCI Dictionary of Cancer Terms - solid tumor. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/solid-tumor>. Dostęp: 2025-07-28.
- [173] Robert Newton, Suharsh Shah, Mohammed O. Altonsy, Antony N. Gerber. Glucocorticoid and cytokine crosstalk: Feedback, feedforward, and co-regulatory interactions determine repression or resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 292(17):7163–7172, 2017.
- [174] J Ng, YR Stovezky, DJ Brenner, SC Formenti, I Shuryak. Development of a model to estimate the association between delay in cancer treatment and local tumor control and risk of metastases. *JAMA Netw Open.*, 4:e2034065, 2021.
- [175] Lan K. Nguyen, Boris N. Kholodenko. Feedback regulation in cell signalling: Lessons for cancer therapeutics. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 50:85–94, 2016.

- [176] Revital Nimri, Tadej Battelino, Lori M. Laffel, Robert H. Slover, Desmond Schatz, Stuart A. Weinzier, Klemen Dovc, Thomas Danne, Moshe Phillip, Moshe Phillip, Revital Nimri, Shlomit Shalitin, Rachel Bello, Michal Nevo-Shenker, Naama Fisch-Shvalb, Galit Shiovitch-Mantzuri, Orit Chores, Irit Drutz, Yehiel Nava, Alona Hemo, Orna Hermon, Rachel Nave, Tadej Battelino, Klemen Dovc, Natasa Bratina, Darja Smigoe-Schweiger, Brigita Mali, Ana Gianini, Urska Sever, Barbara Murn Berkop, Lori M. Laffel, Michelle Katz, Elvira Isganaitis, Sanjeev Mehta, Heidi Quinn, Nisha Naik, Zijing Guo, Lisa Volkening, Robert H. Slover, Gregory Forlenza, R. Paul Wadwa, G. Todd Alonso, Laurel Messer, Lindsey Towers, Katie Thivener, Cari Berget, Samantha Lange, Emily Jost, Maria Rossick-Solis, Desmond Schatz, Michael Haller, Paul Hiers, Laura Jacobsen, Madison Smith, Anastasia O'Neill, Jennifer Hosford, Alexis Perry, Stuart A. Weinzier, Eda Cengiz, Jennifer Sherr, Kathryn Gibbons, Lori Carria, Melinda Zgorski, Thomas Danne, Torben Biester, Olga Kordonouri, Thekla von dem Berge, Sarah Biester, Kerstin Remus. Insulin dose optimization using an automated artificial intelligence-based decision support system in youths with type 1 diabetes. *Nature Medicine*, 26(9):1380–1384, 2020.
- [177] Revital Nimri, Ido Muller, Eran Atlas, Shahar Miller, Olga Kordonouri, Natasa Bratina, Christiana Tsioli, Magdalena A Stefaniya, Thomas Danne, Tadej Battelino, Moshe Phillip. Night glucose control with md-logic artificial pancreas in home setting: a single blind, randomized crossover trial-interim analysis: Md-logic night control in home-setting. *Pediatric Diabetes*, 15(2):91–99, 2013.
- [178] A.Eli Nisenfeld, Roger K. Miyasaki. Applications of feedforward control to distillation columns. *Automatica*, 9(3):319–327, 1973.
- [179] Munachiso Nwokolo, Roman Hovorka. The artificial pancreas and type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 108(7):1614–1623, 2023.
- [180] World Health Organisation. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (WHO/NCD/NCS/99.2)*. World Health Organisation, Geneva, 1999.

-
- [181] World Health Organisation. *Global Report on Diabetes*. World Health Organisation, Geneva, 2016.
- [182] World Health Organisation. *Guidelines on second- and third-line medicines and type of insulin for the control of blood glucose levels in non-pregnant adults with diabetes mellitus*. World Health Organisation, Geneva, 2018.
- [183] World Health Organisation. *Classification of diabetes mellitus*. World Health Organisation, Geneva, 2019.
- [184] World Health Organisation. *Guidance on global monitoring for diabetes prevention and control: framework, indicators and application*. World Health Organisation, Geneva, 2024.
- [185] Dina Ouardani, Abdoulaye Bodian, Alben Cardenas. Comparative analysis of pid and robust imc control in cascaded processes with time-delay. *IEEE Access*, 12:141999–142014, 2024.
- [186] Henrique Mohallem Paiva, Wagner Souza Keller, Luísa Garcia Ribeiro da Cunha. Blood-glucose regulation using fractional-order PID control. *Journal of Control, Automation and Electrical Systems*, 31(1):1–9, 2019.
- [187] R.S. Parker, F.J. Doyle, N.A. Peppas. A model-based algorithm for blood glucose control in type i diabetic patients. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 46(2):148–157, 1999.
- [188] Ievgenia Pastushenko, Cédric Blanpain. Emt transition states during tumor progression and metastasis. *Trends in Cell Biology*, 29(3):212–226, 2019.
- [189] Héctor Peinado, David Olmeda, Amparo Cano. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nature Reviews Cancer*, 7(6):415–428, 2007.
- [190] Helmut H. Popper. Progression and metastasis of lung cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(1):75–91, 2016.
- [191] George Poste, Isaiah J. Fidler. The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature*, 283(5743):139–146, 1980.

- [192] Laura K. Potter, Frank L. Tobin. Perspectives on mathematical modeling for receptor-mediated processes. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 27(1):1–25, 2007.
- [193] S. Joe Qin, Thomas A. Badgwell. *An Overview of Nonlinear Model Predictive Control Applications*, strona 369–392. Birkhäuser Basel, 2000.
- [194] S. Joe Qin, Thomas A. Badgwell. A survey of industrial model predictive control technology. *Control Engineering Practice*, 11(7):733–764, 2003.
- [195] Gessing R. *Podstawy automatyki*. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2001.
- [196] A Rhodes, T Hillen. A mathematical model for the immune-mediated theory of metastasis. *J Theor Biol.*, 482:109999, 2019.
- [197] Jason T. Rich, J. Gail Neely, Randal C. Paniello, Courtney C. J. Voelker, Brian Nussenbaum, Eric W. Wang. A practical guide to understanding Kaplan-Meier curves. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 143(3):331–336, 2010.
- [198] M. Riihimäki, A. Hemminki, M. Fallah, H. Thomsen, K. Sundquist, J. Sundquist, K. Hemminki. Metastatic sites and survival in lung cancer. *Lung Cancer*, 86(1):78–84, 2014.
- [199] Mohammad Towhidul Islam Rimon, Md Wasif Hasan, Mohammad Fuad Hassan, Sevki Cismeci. Advancements in insulin pumps: A comprehensive exploration of insulin pump systems, technologies, and future directions. *Pharmaceutics*, 16(7):944, 2024.
- [200] Carlos Rodríguez, Julio E. Normey-Rico, José Luis Guzmán, Manuel Berenguel. Robust design methodology for simultaneous feedforward and feedback tuning. *IET Control Theory & Applications*, 10(1):84–94, 2016.
- [201] Ashish Daniel S., Suya Prem Anand P., Jesuarockiam Naveen, Tabrej Khan, Shabir Hussain Khahro. Advancement in biomedical implant materials—a mini review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 2024.

-
- [202] Kamal S. Saini, Chris Twelves. Determining lines of therapy in patients with solid cancers: a proposed new systematic and comprehensive framework. *British Journal of Cancer*, 125(2):155–163, 2021.
- [203] Volker Schirrmacher. *Cancer Metastasis: Experimental Approaches, Theoretical Concepts, and Impacts for Treatment Strategies*, strona 1–73. Elsevier, 1985.
- [204] Heinz Schättler, Urszula Ledzewicz. *Optimal Control for Mathematical Models of Cancer Therapies*. Springer New York, 2015.
- [205] V. Sehgal, P. T. Ram. Network motifs in JNK signaling. *Genes & Cancer*, 4(9–10):409–413, 2013.
- [206] Michela Serresi, Sonia Kertalli, Lifei Li, Matthias Jürgen Schmitt, Yuliia Dramaretska, Jikke Wierikx, Danielle Hulsman, Gaetano Gargiulo. Functional antagonism of chromatin modulators regulates epithelial-mesenchymal transition. *Science Advances*, 7(9), 2021.
- [207] Yutong Sha, Shuxiong Wang, Federico Bocci, Peijie Zhou, Qing Nie. Inference of intercellular communications and multilayer gene-regulations of epithelial–mesenchymal transition from single-cell transcriptomic data. *Frontiers in Genetics*, 11, 2021.
- [208] Yutong Sha, Shuxiong Wang, Peijie Zhou, Qing Nie. Inference and multiscale model of epithelial-to-mesenchymal transition via single-cell transcriptomic data. *Nucleic Acids Research*, 48(17):9505–9520, 2020.
- [209] J.-Y. Shih, P.-C. Yang. The EMT regulator slug and lung carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 32(9):1299–1304, 2011.
- [210] Daner A. Silveira, Shantanu Gupta, José Carlos M. Mombach. Systems biology approach suggests new mirnas as phenotypic stability factors in the epithelial–mesenchymal transition. *Journal of The Royal Society Interface*, 17(171):20200693, 2020.
- [211] HE Skipper. Laboratory models: some historical perspective. *Cancer treatment reports*, 70(1):3–7, 1986.

- [212] Jaroslaw Smieja. An engineering perspective on transcription, translation and their regulation. *Postępy Biochemii*, 70(1):88–94, 2024.
- [213] Jaroslaw Smieja, Andrzej Swierniak, Marek Kimmel. A minimal model of cancer growth, metastasis and treatment. *Recent Challenges in Intelligent Information and Database Systems*, strony 566–577. Springer Nature Singapore, 2022.
- [214] H.W. Smith, E.J. Davison. Design of industrial regulators. Integral feedback and feedforward control. *Proceedings of the Institution of Electrical Engineers*, 119(8):1210, 1972.
- [215] Ilya Meyerovich Sobol. Sensitivity estimates for nonlinear mathematical models. *Math. Model. Comput. Exp.*, 1:407, 1993.
- [216] Garry M. Steil. Algorithms for a closed-loop artificial pancreas: The case for proportional-integral-derivative control. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 7(6):1621–1631, 2013.
- [217] G.M. Steil, K. Rebrin, C. Darwin, F. Hariri, M.F. Saad. Feasibility of automating insulin delivery for the treatment of type 1 diabetes. *Diabetes*, 55(12):3344–3350, 2006.
- [218] F Strutz, H Okada, C W Lo, T Danoff, R L Carone, J E Tomaszewski, E G Neilson. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. *The Journal of cell biology*, 130(2):393–405, 1995.
- [219] Yasir Suhail, Margo P. Cain, Kiran Vanaja, Paul A. Kurywchak, Andre Levchenko, Raghu Kalluri, Kshitiz. Systems biology of cancer metastasis. *Cell Systems*, 9(2):109–127, 2019.
- [220] Gui-Quan Sun, Runzi He, Li-Feng Hou, Xiaofeng Luo, Shupeng Gao, Lili Chang, Yi Wang, Zi-Ke Zhang. Optimal control of spatial diseases spreading in networked reaction–diffusion systems. *Physics Reports*, 1111:1–64, 2025.
- [221] Hyuna Sung, Jacques Ferlay, Rebecca L. Siegel, Mathieu Laversanne, Isabelle Soerjomataram, Ahmedin Jemal, Freddie Bray. Global cancer statistics 2020: Globocan

-
- estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3):209–249, 2021.
- [222] George W Swan, Thomas L Vincent. Optimal control analysis in the chemotherapy of igg multiple myeloma. *Bulletin of mathematical biology*, 39(3):317–337, 1977.
- [223] Kristin R. Swanson, Lawrence D. True, J.D. Murray. On the use of quantitative modeling to help understand prostate-specific antigen dynamics and other medical problems. *American Journal of Clinical Pathology*, 119(1):14–17, 2003.
- [224] Andrzej Świerniak, Marek Kimmel, Jarosław Smieja, Krzysztof Puszynski, Krzysztof Psiuk-Maksymowicz. *System Engineering Approach to Planning Anticancer Therapies*. Springer International Publishing, 2016.
- [225] ANDRZEJ SWIERNIAK, URSZULA LEDZEWICZ, HEINZ SCHÄTTLER. Optimal control for a class of compartmental models in cancer chemotherapy. *Int. J. Appl. Math. Comput. Sci*, 13(3):357–368, 2003.
- [226] Andrzej Swierniak, Jarosław Smieja, Marzena Mura, Piotr Bajger. Modeling and optimization of radio-chemotherapy. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, strony 223–233. Springer International Publishing, 2019.
- [227] P. Switzer, B. Gerstl, J. Greenspoon. Karyometry in the estimation of nuclear population in pulmonary carcinomas². *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 52(6):1699–1704, 1974.
- [228] E Szczurek, T Kr"uger, B Klink, N Beerenwinkel. A mathematical model of the metastatic bottleneck predicts patient outcome and response to cancer treatment. *PLoS Comput Biol*, 16:e1008056, 2020.
- [229] Muhammad Farhan Tabassum, Muhammad Farman, Parvaiz Ahmad Naik, Aqeel Ahmad, Aqsa Shamim Ahmad, Saadia Mahmood ul Hassan. Modeling and simulation of glucose insulin glucagon algorithm for artificial pancreas to control the diabetes mellitus. *Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics*, 10(1), 2021.

- [230] Nadine Taleb, Ali Emami, Corinne Suppere, Virginie Messier, Laurent Legault, Martin Ladouceur, Jean-Louis Chiasson, Ahmad Haidar, Rémi Rabasa-Lhoret. Efficacy of single-hormone and dual-hormone artificial pancreas during continuous and interval exercise in adult patients with type 1 diabetes: randomised controlled crossover trial. *Diabetologia*, 59(12):2561–2571, 2016.
- [231] Kevin ten Haaf, Carlijn M. Aalst, Harry J. Koning, Rudolf Kaaks, Martin C. Tammemägi. Personalising lung cancer screening: An overview of risk-stratification opportunities and challenges. *International Journal of Cancer*, 149(2):250–263, 2021.
- [232] Kevin ten Haaf, Jihyoun Jeon, Martin C. Tammemägi, Summer S. Han, Chung Yin Kong, Sylvia K. Plevritis, Eric J. Feuer, Harry J. de Koning, Ewout W. Steyerberg, Rafael Meza. Risk prediction models for selection of lung cancer screening candidates: A retrospective validation study. *PLOS Medicine*, 14(4):e1002277, 2017.
- [233] Jean Paul Thiery, Hervé Acloque, Ruby Y.J. Huang, M. Angela Nieto. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*, 139(5):871–890, 2009.
- [234] Andreas Thomas, Lutz Heinemann. Algorithms for automated insulin delivery: An overview. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 16(5):1228–1238, 2021.
- [235] Caitlin M. Tilsed, Scott A. Fisher, Anna K. Nowak, Richard A. Lake, W. Joost Lesterhuis. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in Oncology*, 12, 2022.
- [236] N Tsur, Y Kogan, E Avizov-Khodak, D Vaeth, N Vogler, J Utikal, M Lotem, Z Agur. Predicting response to pembrolizumab in metastatic melanoma by a new personalization algorithm. *J Transl Med.*, 17:338, 2019.
- [237] John J. Tyson, Béla Novák. Functional motifs in biochemical reaction networks. *Annual Review of Physical Chemistry*, 61(1):219–240, 2010.
- [238] John J. Tyson, Béla Novák. Time-keeping and decision-making in the cell cycle. *Interface Focus*, 12(4), 2022.
- [239] EY Tyuryumina, AA Neznanov, JL Turumin. A mathematical model to predict diagnostic periods for secondary distant metastases in patients with er/pr/her2/ki-67 subtypes of breast cancer. *Cancers (Basel)*, 12:2344, 2020.

-
- [240] Ramanathan Vaidyanathan, Ren Hao Soon, Pan Zhang, Kuan Jiang, Chwee Teck Lim. Cancer diagnosis: From tumor to liquid biopsy and beyond. *Lab on a Chip*, 2018.
- [241] R. Varin, S. Mirshahi, P. Mirshahi, C. Klein, J. Jamshedov, J. Chidiac, E. Perzborn, M. Mirshahi, C. Soria, J. Soria. Whole blood clots are more resistant to lysis than plasma clots - greater efficacy of rivaroxaban. *Thrombosis Research*, 131(3):e100–e109, 2013.
- [242] Anne Vincent-Salomon, Jean Paul Thiery. Host microenvironment in breast cancer development: Epithelial–mesenchymal transition in breast cancer development. *Breast Cancer Research*, 5(2), 2003.
- [243] Norhaliza A. Wahab, Reza Katebi, Jonas Balderud. Multivariable pid control design for activated sludge process with nitrification and denitrification. *Biochemical Engineering Journal*, 45(3):239–248, 2009.
- [244] Haibo Wang, M Elizabeth Hartnett. Regulation of signaling events involved in the pathophysiology of neovascular AMD. *Molecular vision*, 22:189, 2016.
- [245] J. Wang, D. P. Goodall. Practical stabilization of a cascade connection of two uncertain nonlinear affine control systems. *IMA Journal of Mathematical Control and Information*, 12(2):111–125, 1995.
- [246] Qing-Guo Wang, Biao Zou, Tong-Heng Lee, Qiang Bi. Auto-tuning of multivariable pid controllers from decentralized relay feedback. *Automatica*, 33(3):319–330, 1997.
- [247] Rui-Sheng Wang, Assieh Saadatpour, Réka Albert. Boolean modeling in systems biology: an overview of methodology and applications. *Physical Biology*, 9(5):055001, 2012.
- [248] Shuo Wang, Heinz Schättler. Optimal control of a mathematical model for cancer chemotherapy under tumor heterogeneity. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 13(6):1223–1240, 2016.

- [249] Induni N. Weeraratna, Praveen Kumar, Anurag Luharia, Gaurav Mishra. Engineering with biomedical sciences changing the horizon of healthcare-a review. *Bioengineered*, 15(1), 2024.
- [250] S.L. Wendt, J.K. Møller, A. Haidar, B.V. Bysted, C.B. Knudsen, H. Madsen, J.B. Jørgensen. Model of the glucose-insulin-glucagon dynamics after subcutaneous administration of a glucagon rescue bolus in healthy humans. *Proceedings of The American Diabetes Association's 76th Scientific Sessions*. The American Diabetes Association, New Orleans, Louisiana, United States, 2016.
- [251] Hans-Peter Wiendahl, Jan-Wilhelm Breithaupt. *Production planning and control on the basis of control theory*, strona 351–362. Springer US, 1998.
- [252] AM Wilk, E Kozłowska, D Borys, A D'Amico, K Fujarewicz, I Gorczewska, I Debosz-Suwinska, R Suwinski, J Smieja, A Swierniak. Radiomic signature accurately predicts the risk of metastatic dissemination in late-stage non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.*, 12:1372–1383, 2023.
- [253] Anna N. Wilkinson. Cancer diagnosis in primary care: Six steps to reducing the diagnostic interval. *Canadian Family Physician*, 67(4):265–268, 2021.
- [254] Artur Wycisłok, Jarosław Śmieja. Wysilek fizyczny i szumy pomiarowe w układzie sztucznej trzustki - analiza rozwiązań. 'Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania. T. 2'. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2022. W 'Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania. T. 2' pod redakcją Andrzeja Świerniaka i Jolanty Krystek.
- [255] Artur Wycisłok, Jarosław Śmieja. *Metastasis Modelling Approaches—Comparison of Ideas*, strona 199–214. Springer Nature Switzerland, 2023.
- [256] Artur Wycisłok, Jarosław Śmieja. Robustness of closed-loop glucose control systems. *Archives of Control Sciences*, 2023.
- [257] Ajay Yadav, Vishal Rai, Shekhar Singh, Akanksha Kanojia. Advancements in soft robotic implants for long-term drug delivery and tissue monitoring. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 3(4):28–39, 2024.

-
- [258] Jing Yang, Parker Antin, Geert Berx, Cédric Blanpain, Thomas Brabletz, Marianne Bronner, Kyra Campbell, Amparo Cano, Jordi Casanova, Gerhard Christofori, Shoukat Dedhar, Rik Derynck, Heide L. Ford, Jonas Fuxe, Antonio García de Herreros, Gregory J. Goodall, Anna-Katerina Hadjantonakis, Ruby Y. J. Huang, Chaya Kalcheim, Raghu Kalluri, Yibin Kang, Yeesim Khew-Goodall, Herbert Levine, Jinsong Liu, Gregory D. Longmore, Sendurai A. Mani, Joan Massagué, Roberto Mayor, David McClay, Keith E. Mostov, Donald F. Newgreen, M. Angela Nieto, Alain Puisieux, Raymond Runyan, Pierre Savagner, Ben Stanger, Marc P. Stemmler, Yoshiko Takahashi, Masatoshi Takeichi, Eric Thevenneau, Jean Paul Thiery, Erik W. Thompson, Robert A. Weinberg, Elizabeth D. Williams, Jianhua Xing, Binhua P. Zhou, Guojun Sheng. Guidelines and definitions for research on epithelial–mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(6):341–352, 2020.
- [259] Tony L. Yates, Leslie R. Fletcher. Prediction of a glucose appearance function from foods using deconvolution. *IMA Journal of Mathematical Control and Information*, 17(2):169–184, 2000.
- [260] Yohwan Yeo, Dong Wook Shin, Kyungdo Han, Sang Hyun Park, Keun-Hye Jeon, Jungkwon Lee, Junghyun Kim, Aesun Shin. Individual 5-year lung cancer risk prediction model in korea using a nationwide representative database. *Cancers*, 13(14):3496, 2021.
- [261] L.A. Zadeh. Fuzzy sets. *Information and Control*, 8(3):338–353, 1965.
- [262] Danijel Zadravec, Nenad Ferdelji. Optimal control of uncertain batch processes via koopman expectation-assisted gradient methods. *Computers & Chemical Engineering*, strona 109353, 2025.
- [263] S. Zavitsanou, A. Mantalaris, M.C. Georgiadis, E.N. Pistikopoulos. In silico closed-loop control validation studies for optimal insulin delivery in type 1 diabetes. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 62(10):2369–2378, 2015.
- [264] Boqiang Zhang, Zongjing Li, Haohan Zhao, Xun Zhang, Tenglong Huang, Yuchen Wang, Yahui Zhang. Adaptive mpc control for in-wheel-motor-drive electric vehicles with semi-active suspension based on binocular vision road identification. *IEEE Transactions on Transportation Electrification*, strona 1–1, 2025.

- [265] Ping Zhang, Vladimir Brusic. Mathematical modeling for novel cancer drug discovery and development. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 9(10):1133–1150, 2014.
- [266] X-Y Zhang, MN Trame, LJ Lesko, S Schmidt. Sobol sensitivity analysis: A tool to guide the development and evaluation of systems pharmacology models. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 4(2):69–79, Luty 2015.
- [267] B Zhou, Y Lu, K Hajifathalian, J Bentham, M Di Cesare, G Danaei, H Bixby, MJ Cowan, MK Ali, C Taddei, WC Lo, B Reis-Santos, GA Stevens, LM Riley, JJ Miranda, P Bjerregaard, JA Rivera, HM Fouad, G Ma, JC Mbanya, ST McGarvey, V Mohan, A Onat, A Pilav, A Ramachandran, HB Romdhane, CJ Paciorek, JE Bennett, M Ezzati, ZA Abdeen, K Abdul Kadir, NM Abu-Rmeileh, B Acosta-Cazares, R Adams, W Aekplakorn, CA Aguilar-Salinas, C Agyemang, A Ahmadvand, AR Al-Othman, A Alkerwi, P Amouyel, A Amuzu, LB Andersen, SA Anderssen, RM Anjana, H Aounallah-Skhiri, T Aris, N Arlappa, D Arveiler, FK Assah, M Avdicová, F Azizi, N Balakrishna, P Bandosz, CM Barbagallo, A Barceló, AM Batieha, LA Baur, HB Romdhane, M Benet, A Bernabe-Ortiz, S Bharadwaj, SK Bhargava, Y Bi, P Bjerregaard, E Bjertness, MB Bjertness, C Björkelund, A Blokstra, S Bo, BO Boehm, CP Boissonnet, P Bovet, I Brajkovich, J Breckenkamp, H Brenner, LM Brewster, GR Brian, G Bruno, A Bugge, A Cabrera de León, G Can, AP Cândido, V Capuano, AC Carlsson, MJ Carvalho, FF Casanueva, JP Casas, CA Caserta, K Castetbon, S Chamukuttan, N Chaturvedi, CJ Chen, F Chen, S Chen, CY Cheng, A Chetrit, ST Chiou, Y Cho, J Chudek, R Cifkova, F Claessens, H Concin, C Cooper, R Cooper, S Costanzo, D Cottel, C Cowell, AB Crujeiras, G D’Arrigo, J Dalongeville, R Dankner, L Dauchet, G de Gaetano, S De Henauw, M Deepa, A Dehghan, V Deschamps, K Dhana, AF Di Castelnuovo, S Djalalinia, K Doua, W Drygas, Y Du, V Dzerve, EE Egbagbe, R Eggertsen, J El Ati, R Elosua, RT Erasmus, C Erem, G Ergor, L Eriksen, J Escobedo-de la Peña, CH Fall, F Farzadfar, FJ Felix-Redondo, TS Ferguson, D Fernández-Bergés, M Ferrari, C Ferreccio, EJ Feskens, JD Finn, B Föger, LH Foo, AS Forslund, HM Fouad, DK Francis, C Franco Mdo, OH Franco, G Frontera, T Furusawa, Z Gaciong, SP Garnett, JM Gaspoz, M Gasull, L Gates, JM Geleijnse, A Ghasemian, A Ghimire, S Giampaoli, F Gianfagna, J Giovannelli, A Giwercman, MG Gross, JP González Rivas, MB Gorbea, F Gottrand, D Grafnetter, T Grodzicki, A Grøntved, G Gruden, D Gu, OP Guan, R Guerrero, I Gues-

sous, AL Guimaraes, L Gutierrez, IR Hambleton, R Hardy, R Hari Kumar, J Hata, J He, C Heidemann, S Herrala, IT Hihtaniemi, SY Ho, SC Ho, A Hofman, CM Hormiga, BL Horta, L Houti, C Howitt, TT Htay, AS Htet, MM Htike, Y Hu, AS Husieni, I Huybrechts, N Hwalla, L Iacoviello, AG Iannone, MM Ibrahim, N Ikeda, MA Ikram, VE Irazola, M Islam, M Iwasaki, JM Jacobs, T Jafar, KM Jamil, G Jasien-ska, CQ Jiang, JB Jonas, P Joshi, A Kafatos, O Kalter-Leibovici, A Kasaeian, J Katz, P Kaur, M Kavousi, S Keinänen-Kiukaanniemi, R Kelishadi, AP Kengne, M Kersting, YS Khader, D Khalili, YH Khang, S Kiechl, J Kim, P Kolsteren, P Korrovits, W Kratzer, D Kromhout, UM Kujala, K Kula, C Kyobutungi, T Laatikainen, C Lachat, Y Laid, TH Lam, O Landrove, V Lanska, G Lappas, A Laxmaiah, C Leclercq, J Lee, J Lee, T Lehtimäki, R Lekhraj, LM León-Muñoz, Y Li, WY Lim, MF Lima-Costa, HH Lin, X Lin, L Lissner, R Lorbeer, JE Lozano, D Luksiene, A Lundqvist, P Lytsy, G Ma, GL Machado-Coelho, S Machi, S Maggi, DJ Magliano, M Makdisse, K Mallikharjuna Rao, Y Manios, E Manzato, P Margozzini, P Marques-Vidal, R Martorell, SR Masoodi, EB Mathiesen, TE Matsha, JC Mbanya, SR McFarlane, ST McGarvey, S McLachlan, BA McNulty, S Mediene-Benchekor, A Meirhaeghe, AM Menezes, S Merat, II Meshram, J Mi, JF Miquel, JJ Miranda, MK Mohamed, K Mohammad, N Mohammadifard, V Mohan, MF Mohd Yusoff, NC Møller, D Molnár, CK Mondo, A Morejon, LA Moreno, K Morgan, G Moschonis, M Mossakowska, A Mostafa, J Mota, J Motta, TT Mu, ML Muiesan, M Müller-Nurasyid, J Mursu, G Nagel, J Námesná, EE Nang, VB NangThetia, EM Navarrete-Muñoz, NC Ndiaye, I Nenko, F Nervi, ND Nguyen, QN Nguyen, RE Nieto-Martínez, G Ning, T Nino-miya, M Noale, D Noto, MA Nsour, AM Ochoa-Avilés, K Oh, A Onat, P Ordunez, C Osmond, JA Otero, E Owusu-Dabo, E Pahomova, L Palmieri, S Panda-Jonas, F Panza, M Parsaeian, SV Peixoto, C Pelletier, M Peltonen, A Peters, N Peykari, ST Pham, A Pilav, F Pitakaka, A Piwonska, J Piwonski, P Plans-Rubió, M Porta, ML Portegies, H Poustchi, R Pradeepa, JF Price, M Punab, RF Qasrawi, M Qorbani, R Radisauskas, M Rahman, O Raitakari, SR Rao, A Ramachandran, J Ramke, R Ramos, S Rampal, W Rathmann, J Redon, PF Reganit, F Rigo, SM Robinson, C Robitaille, F Rodríguez-Artalejo, C Rodríguez-Perez Mdel, LA Rodríguez-Villamizar, R Rojas-Martinez, K Ronkainen, A Rosengren, A Rubinstein, O Rui, BS Ruiz-Betancourt, RV Russo Horimoto, M Rutkowski, C Sabanayagam, HS Sachdev, O Saidi, S Sakarya, B Salanave, JT Salonen, M Salvetti, J Sánchez-Abanto, D Santos,

RN dos Santos, R Santos, JL Saramies, LB Sardinha, N Sarrafzadegan, KU Saum, M Scazufca, H Schargrodsky, C Scheidt-Nave, AA Sein, SK Sharma, JE Shaw, K Shibuya, Y Shin, R Shiri, R Siantar, AM Sibai, M Simon, J Simons, LA Simons, M Sjöström, J Slowikowska-Hilczek, P Slusarczyk, L Smeeth, MB Snijder, HK So, E Sobngwi, S Söderberg, V Solfrizzi, E Sonestedt, A Soumare, JA Staessen, MG Stathopoulou, J Steene-Johannessen, P Stehle, AD Stein, J Stessman, D Stöckl, J Stokwiszewski, K Stronks, MW Strufaldi, CA Sun, J Sundström, YT Sung, P Suriyawongpaisal, RG Sy, ES Tai, A Tamosiunas, L Tang, M Tarawneh, CB Tarqui-Mamani, A Taylor, H Theobald, L Thijs, BH Thuesen, HK Tolonen, JS Tolstrup, M Topbas, M Torrent, P Traissac, OT Trinh, MK Tulloch-Reid, TP Tuomainen, ML Turley, C Tzourio, P Ueda, FA Ukoli, H Ulmer, HM Uusitalo, G Valdivia, D Valvi, L van Rossem, IG van Valkengoed, D Vanderschueren, D Vanuzzo, T Vega, G Velasquez-Melendez, G Veronesi, WM Verschuren, R Verstraeten, L Viet, J Vioque, JK Virtanen, S Visvikis-Siest, B Viswanathan, P Vollenweider, S Voutilainen, M Vrijheid, AN Wade, A Wagner, J Walton, WN Wan Mohamud, F Wang, MD Wang, Q Wang, YX Wang, SG Wannamethee, D Weerasekera, PH Whincup, K Widhalm, A Wiecek, AH Wijga, RJ Wilks, J Willeit, T Wilsgaard, B Wojtyniak, TY Wong, J Woo, M Woodward, FC Wu, SL Wu, H Xu, W Yan, X Yang, X Ye, A Yoshihara, NO Younger-Coleman, S Zambon, AH Zargar, T Zdrojewski, W Zhao, Y Zheng, J Zuñiga Cisneros. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. *The Lancet*, 387(10027):1513–1530, 2016.

- [268] Bin Zhou, Archie W Rayner, Edward W Gregg, Kate E Sheffer, Rodrigo M Carrillo-Larco, James E Bennett, Jonathan E Shaw, Christopher J Paciorek, Rosie K Singleton, Ana Barradas Pires, Gretchen A Stevens, Goodarz Danaei, Victor PF Lhoste, Nowell H Phelps, Rachel A Heap, Lakshya Jain, Yse D'Ailhaud De Brisis, Agnese Galeazzi, Andre P Kengne, Anu Mishra, Nayu Ikeda, Hsien-Ho Lin, Carlos A Aguilar-Salinas, Ranjit Mohan Anjana, Habiba Ben Romdhane, Karirat Davletov, Shubash Ganapathy, Christin Heidemann, Yousef Saleh Khader, Young-Ho Khang, Avula Laxmaiah, Jean Claude N Mbanya, Viswanathan Mohan, KM Venkat Narayan, Meda E Pavkov, Eugène Sobngwi, Alisha N Wade, Novie O Younger-Coleman, Tomasz Zdrojewski, Leandra Abarca-Gómez, Moh-

sen Abbasi-Kangevari, Hanan F Abdul Rahim, Niveen M Abu-Rmeileh, Shalkar Adambekov, Robert J Adams, Wichai Aekplakorn, Shoaib Afzal, Imelda A Agdeppa, Javad Aghazadeh-Attari, Charles Agyemang, Noor Ani Ahmad, Ali Ahmadi, Naser Ahmadi, Nastaran Ahmadi, Soheir H Ahmed, Wolfgang Ahrens, Kamel Ajlouni, Sarah F Al-Hamli, Halima Al-Hinai, Jawad A Al-Lawati, Deena Al Asfoor, Monira Alarouj, Fadia AlBuhairan, Shahla AlDhukair, Mohamed M Ali, Mohammed K Ali, Anna V Alieva, Farbod Alinezhad, Abdullah Alkandari, Ala'a Alkerwi, Eman Aly, Deepak N Amarapurkar, Lars Bo Andersen, Sigmund A Andersen, Dolores S Andrade, Alireza Ansari-Moghaddam, Hajer Aounallah-Skhiri, Joana Araújo, Tahir Aris, Raphael E Arku, Nimmathota Arlappa, Krishna K Aryal, Thor Aspelund, Felix K Assah, Batyrbek Assembekov, Shiu Lun Au Yeung, Juha Auvinen, Mária Avdičová, Kishwar Azad, Ana Azevedo, Mohsen Azimi-Nezhad, Fereidoun Azizi, Flora Bacopoulou, Nagalla Balakrishna, Yulia Balanova, Mohammed Bamoshmoosh, Maciej Banach, Piotr Bandosz, José R Banegas, Carlo M Barbagallo, Alberto Barcelo, Maja Baretić, Lena Barrera, Marta Barreto, Abdul Basit, Anwar M Batieha, Aline P Batista, Louise A Baur, Antonisamy Belavendra, Theodora Benedek, Mikhail Benet, Michaela Benzeval, Salim Berkinbayev, Antonio Bernabe-Ortiz, Ximena Berrios Carrasola, Heloísa Bettiol, Augustin F Beybey, Santosh K Bhargava, Yufang Bi, Elysée Claude Bika Lele, Mukharram M Bikbov, Bihungum Bista, Peter Bjerregaard, Espen Bjertness, Marius B Bjertness, Cecilia Björkelund, Katia V Bloch, Anneke Blokstra, Martin Bobak, Bernhard O Boehm, Jose G Boggia, Carlos P Boissonnet, Stig E Bojesen, Marialaura Bonaccio, Alice Bonilla-Vargas, Herman Borghs, Steve Botomba, Pascal Bovet, Imperia Brajkovich, Hermann Brenner, Lizzy M Brewster, Garry R Brian, Yajaira Briceño, Miguel Brito, Gloria Bueno, Anna Bugge, Frank Buntinx, Antonio Cabrera de León, Roberta B Caixeta, Günay Can, Ana Paula C Cândido, Mario V Capanzana, Naděžda Čapková, Eduardo Capuano, Rocco Capuano, Vincenzo Capuano, Viviane C Cardoso, Axel C Carlsson, Felipe F Casanueva, Laura Censi, Marvin Cervantes-Loaiza, Charalambos A Chadjigeorgiou, Parinya Chamnan, Snehalatha Chamukuttan, Queenie Chan, Fadi J Charchar, Nish Chaturvedi, Chien-Jen Chen, Huashuai Chen, Long-Sheng Chen, Ching-Yu Cheng, Bahman Cheraghian, Angela Chetrit, Shu-Ti Chiou, María-Dolores Chirlaque, Jerzy Chudek, Renata Cifkova, Massimo Cirillo, Frank Claessens, Janine Clarke, Emmanuel Cohen, Hans Concin, Cyrus Cooper,

Cojocar R Cosmin, Simona Costanzo, Melanie J Cowan, Chris Cowell, Amelia C Crampin, Ana B Crujeiras, Juan J Cruz, Felipe V Cureau, Sarah Cuschieri, Graziella D'Arrigo, Eleonora d'Orsi, Haroldo da Silva-Ferreira, Jean Dallongeville, Albertino Damasceno, Rachel Dankner, Saeed Dastgiri, Luc Dauchet, Amalia De Curtis, Giovanni de Gaetano, Stefaan De Henauw, David De Ridder, Mohan Deepa, Vincent Jr DeGennaro, Stefaan Demarest, Elaine Dennison, Valérie Deschamps, Meghnath Dhimal, Zivka Dika, Shirin Djalalinia, Chiara Donfrancesco, Maria Dorobantu, Nico Dragano, Wojciech Drygas, Shufa Du, Yong Du, Charmaine A Duante, Priscilla Duboz, Rosemary B Duda, Anar Dushpanova, Vilnis Dzerve, Elzbieta Dziankowska-Zaborszczyk, Narges Ebrahimi, Ricky Eddie, Ebrahim Eftekhari, Vasiliki Efthymiou, Eruke E Egbagbe, Robert Eggertsen, Sareh Eghtesad, Clara Ladi Ejembi, Mohammad El-Khateeb, Jalila El Ati, Denise Eldemire-Shearer, Roberto Elosua, Ofem Enang, Rajiv T Erasmus, Cihangir Erem, Gul Ergor, Louise Eriksen, Johan G Eriksson, Ali Esmaeili, Roger G Evans, Guy Fagherazzi, Noushin Fahimfar, Ildar Fakhradiyev, Albina A Fakhretdinova, Caroline H Fall, Elnaz Faramarzi, Mojtaba Farjam, Farshad Farzadfar, Yosef Farzi, Mohammad Reza Fattahi, Asher Fawwad, Francisco J Felix-Redondo, Trevor S Ferguson, Daniel Fernández-Bergés, Desha R Fernando, Thomas Ferrao, Marika Ferrari, Marco M Ferrario, Catterina Ferreccio, Eldridge Ferrer, Edith JM Feskens, Günther Fink, David Flood, Maria Forsner, Sandrine Fosse-Edorh, Edward F Fottrell, Heba M Fouad, Damian K Francis, Guillermo Frontera, Isti I Fujiati, Matsuda Fumihiko, Takuro Furusawa, Zbigniew Gaciong, Fabio Galvano, Sarah P Garnett, Jean-Michel Gaspoz, Magda Gasull, Andrea Gazzinelli, Ulrike Gehring, Ebrahim Ghaderi, Seyyed-Hadi Ghamari, Ali Ghanbari, Erfan Ghasemi, Oana-Florentina Gheorghe-Fronea, Anup Ghimire, Alessandro Gialluisi, Simona Giampaoli, Francesco Gianfagna, Tiffany K Gill, Jonathan Giovannelli, Glen Gironella, Aleksander Giwerzman, Marcel Goldberg, David Goltzman, Aleksandra Gomula, Helen Gonçalves, Mauer Gonçalves, David A Gonzalez-Chica, Marcela Gonzalez-Gross, Juan P González-Rivas, Angel R Gonzalez, Atsushi Goto, Frederic Gottrand, Dušan Grafnetter, Maria G Grammatikopoulou, Andriene Grant, Anne Sameline Grimsgaard, Tomasz Grodzicki, Anders Grøntved, Giuseppe Grosso, Dongfeng Gu, Vilmundur Gudnason, Ramiro Guerrero, Idris Guessous, Unjali P Gujral, Rajeev Gupta, Laura Gutierrez, Xinyi Gwee, Seongjun Ha, Rosa Haghshenas, Hamid Hakimi, Ian R Hambleton, Behrooz

Hamzeh, Dominique Hange, Sari Hantunen, Jie Hao, Javad Harooni, Seyed Mohammad Hashemi-Shahri, Jun Hata, Alison J Hayes, Jiang He, Rafael dos Santos Henrique, Ana Henriques, Sauli Herrala, Karl-Heinz Herzig, Ramin Heshmat, Allan G Hill, Sai Yin Ho, Michelle Holdsworth, Reza Homayounfar, Wilma M Hopman, Andrea RVR Horimoto, Claudia Hormiga, Bernardo L Horta, Leila Houti, Christina Howitt, Thein Thein Htay, Aung Soe Htet, Maung Maung Than Htike, José María Huerta, Ilpo Tapani Huhtaniemi, Laetitia Huiart, Martijn Huisman, Monica Hunsberger, Abdullatif Hussein, Inge Huybrechts, Licia Iacoviello, Ellina M Iakupova, Anna G Iannone, Norazizah Ibrahim Wong, Chinwuba Ijoma, Vilma E Irazola, Takafumi Ishida, Sheikh Mohammed Shariful Islam, Duygu Islek, Till Ittermann, Masanori Iwasaki, Tuija Jääskeläinen, Jeremy M Jacobs, Hashem Y Jaddou, Michel Jadoul, Bakary Jallow, Kenneth James, Kazi M Jamil, Edward Janus, Marjo-Riitta Jarvelin, Grazyna Jasienska, Ana Jelaković, Bojan Jelaković, Garry Jennings, Anjani Kumar Jha, AM Jibo, Ramon O Jimenez, Karl-Heinz Jöckel, Jari J Jokelainen, Jost B Jonas, Josipa Josipović, Farahnaz Joukar, Jacek Józwiak, Anthony Kafatos, Eero O Kajantie, Zhanna Kalamatayeva, Ofra Kalter-Leibovici, Argyro Karakosta, Khem B Karki, Marzieh Katibeh, Prasad Katulanda, Jussi Kauhanen, Gyulli M Kazakbaeva, François F Kaze, Calvin Ke, Sirkka Keinänen-Kiukaanniemi, Roya Kelishadi, Maryam Keramati, Mathilde Kersting, Kazem Khalagi, Arsalan Khaledifar, Davood Khalili, Bahareh Kheiri, Motahareh Kheradmand, Alireza Khosravi Farsani, Ursula Kiechl-Kohlendorfer, Sophia J Kiechl, Stefan Kiechl, Hyeon Chang Kim, Andrew Kingston, Heidi Klakk, Jana Klanova, Michael Knoflach, Patrick Kolsteren, Jürgen König, Raija Korpelainen, Paul Korrovits, Jelena Kos, Seppo Koskinen, Sudhir Kowlessur, Slawomir Koziel, Wolfgang Kratzer, Susi Kriemler, Peter Lund Kristensen, Steinar Krokstad, Daan Kromhout, Ruzena Kubinova, Urho M Kujala, Mukhtar Kulimbet, Vaitheeswaran Kulothungan, Meena Kumari, Vladimir Kutsenko, Catherine Kyobutungi, Quang Ngoc La, Tiina Laatikainen, Demetre Labadarios, Carl Lachat, Youcef Laid, Lachmie Lall, Anne Langsted, Tiina Lankila, Vera Lanska, Georg Lappas, Bagher Larijani, Tint Swe Latt, Martino Laurenzi, Gwenaëlle Le Coroller, Jeannette Lee, Terho Lehtimäki, Daniel Lemogoum, Gabriel M Leung, Charlie Lim, Wei-Yen Lim, M Fernanda Lima-Costa, Yi-Jing Lin, Lars Lind, Lauren Lissner, Liping Liu, Xiaotian Liu, Wei-Cheng Lo, Helle-Mai Loit, Esther Lopez-Garcia, Tania Lopez, José Eugenio Lozano, Dalia

Luksiene, Annamari Lundqvist, Nuno Lunet, Thomas Lung, Michala Lustigová, Guansheng Ma, George LL Machado-Coelho, Aristides M Machado-Rodrigues, Enguerran Macia, Luisa M Macieira, Ahmed A Madar, Gladys E Maestre, Stefania Maggi, Dianna J Magliano, Emmanuella Magriplis, Gowri Mahasampath, Bernard Maire, Marcia Makdisse, Konstantinos Makrilakis, Mohammad-Reza Malekpour, Fatemeh Malekzadeh, Reza Malekzadeh, Sofia Malyutina, Lynell V Maniego, Yannis Manios, Fariborz Mansour-Ghanaei, Enzo Manzato, Mala Ali Mapatano, Anie Marcil, Francisco Mardones, Paula Margozzini, Pedro Marques-Vidal, Larissa Pruner Marques, Reynaldo Martorell, Luis P Mascarenhas, Mannix Masi-mango Imani, Masoud Masinaei, Shariq R Masoodi, Ellisiv B Mathiesen, Prashant Mathur, Tandi E Matsha, Anselmo J Mc Donald Posso, Shelly R McFarlane, Stephen T McGarvey, Scott B McLean, Breige A McNulty, Sounnia Mediene Benchekor, Kirsten Mehlig, Amir Houshang Mehrparvar, Jesus D Melgarejo, Fabián Méndez, Ana Maria B Menezes, Alibek Mereke, Indrapal I Meshram, Diane T Meto, Nathalie Michels, Cláudia S Minderico, GK Mini, Juan Francisco Miquel, J Jaime Miranda, Mohammad Reza Mirjalili, Daphne Mirkopoulou, Pietro A Modesti, Sahar Saeedi Moghaddam, Kazem Mohammad, Mohammad Reza Mohammadi, Zahra Mohammadi, Noushin Mohammadifard, Reza Mohammadpourhodki, Muhammad Fadhli Mohd Yusoff, Iraj Mohebbi, Niels C Møller, Dénes Molnár, Amirabbas Momenan, Roger A Montenegro Mendoza, Mahmood Moosazadeh, Farhad Moradpour, Alain Morejon, Luis A Moreno, Karen Morgan, Suzanne N Morin, George Moschonis, Alireza Moslem, Mildrey Mosquera, Malgorzata Mossakowska, Aya Mostafa, Seyed-Ali Mostafavi, Eugen Mota, Jorge Mota, Maria Mota, Mohammad Esmaeel Motlagh, Jorge Motta, Kelias P Msyamboza, Thet Thet Mu, Maria L Muiesan, Patricia B Munroe, Jaakko Mursu, Kamarul Imran Musa, Norlaila Mustafa, Muel Telo MC Muyer, Iraj Nabipour, Gabriele Nagel, Balkish M Naidu, Farid Najafi, Jana Námešná, Ei Ei K Nang, Vinay B Nangia, Take Naseri, Ana J Navarro-Ramírez, Nareemarn Neelapaichit, Azim Nejatizadeh, Ilona Nenko, Flavio Nervi, Tze Pin Ng, Chung T Nguyen, Nguyen D Nguyen, Quang Ngoc Nguyen, Michael Y Ni, Peng Nie, Ramfis E Nieto-Martínez, Guang Ning, Toshiharu Nino-miya, Nobuo Nishi, Marianna Noale, Oscar A Noboa, Mitsuhiko Noda, Børge G Nordestgaard, Davide Noto, Mohannad Al Nsour, Irfan Nuhoğlu, Moffat Nyirenda, Terence W O'Neill, Kyungwon Oh, Ryutaro Ohtsuka, Mohd Azahadi Omar, Altan

Onat, Sok King Ong, Obinna Onodugo, Pedro Ordunez, Rui Ornelas, Pedro J Ortiz, Clive Osmond, Afshin Ostovar, Johanna A Otero, Charlotte B Ottendahl, Akani-nyene Otu, Ellis Owusu-Dabo, Elena Pahomova, Luigi Palmieri, Wen-Harn Pan, Demosthenes Panagiotakos, Songhomitra Panda-Jonas, Zengchang Pang, Francesco Panza, Mariela Paoli, Suyeon Park, Mahboubah Parsaeian, Chona F Patalen, Nikhil D Patel, Raimund Pechlaner, Ivan Pećin, João M Pedro, Sergio Viana Peixoto, Markku Peltonen, Alexandre C Pereira, Thaliane Mayara Pessôa dos Prazeres, Niloofar Peykari, Modou Cheyassin Phall, Son Thai Pham, Rafael N Pichardo, Iris Pigeot, Hynek Pikhart, Aida Pilav, Pavel Piler, Freda Pitakaka, Aleksandra Piwonska, Andreia N Pizarro, Pedro Plans-Rubió, Silvia Plata, Barry M Popkin, Miquel Porta, Anil Poudyal, Farhad Pourfarzi, Akram Pourshams, Hossein Poustchi, Dorairaj Prabhakaran, Rajendra Pradeepa, Alison J Price, Jacqueline F Price, Rui Providencia, Jardena J Puder, Soile Puhakka, Margus Punab, Qing Qiao, Mostafa Qorbani, Hedley K Quintana, Tran Quoc Bao, Ricardas Radisauskas, Salar Rahimikazerooni, Olli Raitakari, Ambady Ramachandran, Manuel Ramirez-Zea, Jacqueline Ramke, Elisabete Ramos, Rafel Ramos, Lekhraj Rampal, Sanjay Rampal, Sheena E Ramsay, Daniel A Rangel Reina, Ravindra P Rannan-Eliya, Mohammad-Mahdi Rashidi, Josep Redon, Jane DP Renner, Cézane P Reuter, Luis Revilla, Negar Rezaei, Abbas Rezaianzadeh, Yeunsook Rho, Fernando Rigo, Leanne M Riley, Ulf Risérus, Reina G Roa, Louise Robinson, Wendy E Rodríguez-Anderson, Fernando Rodríguez-Artalejo, María del Cristo Rodríguez-Perez, Laura A Rodríguez-Villamizar, Andrea Y Rodríguez, Ulla Roggenbuck, Peter Rohloff, Rosalba Rojas-Martinez, Elisabetta L Romeo, Annika Rosengren, Joel GR Roy, Adolfo Rubinstein, Maria Ruiz-Castell, Paola Russo, Petra Rust, Marcin Rutkowski, Charumathi Sabanayagam, Hamideh Sabbaghi, Harshpal S Sachdev, Alireza Sadjadi, Ali Reza Safarpour, Sare Safi, Saeid Safiri, Mohammad Hossien Saghi, Olfa Saidi, Satoko Sakata, Nader Saki, Sanja Šalaj, Benoit Salanave, Jukka T Salonen, Massimo Salvetti, Jose Sánchez-Abanto, Diana A Santos, Lèlita C Santos, Maria Paula Santos, Rute Santos, Tamara R Santos, Jouko L Saramies, Luis B Sardinha, Nizal Sarrafzadegan, Yoko Sato, Kai-Uwe Saum, Stefan Savin, Norie Sawada, Mariana Sbaraini, Marcia Scazufca, Beatriz D Schaan, Herman Schargrotsky, Christa Scheidt-Nave, Sabine Schipf, Amand Floriaan Schmidt, Børge Schmidt, Carsten O Schmidt, Peter Schnohr, Catherine Mary Schooling, Ben Schöttker, Sara Schramm, Sy-

Ivain Sebert, Moslem Sedaghattalab, Aye Aye Sein, Abhijit Sen, Sadaf G Sepanlou, Jennifer Servais, Ronel Sewpaul, Svetlana Shalnova, Seyed Morteza Shamshirgaran, Coimbatore Subramaniam Shanthirani, Maryam Sharafkhah, Sanjib K Sharma, Almaz Sharman, Amaneh Shayanrad, Ali Akbar Shayesteh, Kenji Shibuya, Hana Shimizu-Furusawa, Rahman Shiri, Marat Shoranov, Namuna Shrestha, Khairil Si-Ramlee, Alfonso Siani, Mark J Siedner, Diego Augusto Santos Silva, Xueling Sim, Mary Simon, Judith Simons, Leon A Simons, Michael Sjöström, Jolanta Slowikowska-Hilczer, Przemysław Slusarczyk, Liam Smeeth, Stefan Söderberg, Agustinus Soemantri, Vincenzo Solfrizzi, Mohammad Hossein Somi, Aïcha Soumaré, Alfonso Sousa-Poza, Mafalda Sousa-Uva, Karen Sparrenberger, Jan A Staessen, Andreas Stang, Bill Stavreski, Jostein Steene-Johannessen, Peter Stehle, Aryeh D Stein, Jochanan Stessman, Jakub Stokwiszewski, Karien Stronks, Milton F Suarez-Ortegón, Phalakorn Suebsamran, Machi Suka, Chien-An Sun, Jianping Sun, Johan Sundström, Paibul Suriyawongpaisal, René Charles Sylva, E Shyong Tai, Furusawa Takuro, Abdonas Tamosiunas, Eng Joo Tan, Baimakhan Tanabayev, Nikhil Tandon, Mohammed Rasoul Tarawneh, Carolina B Tarqui-Mamani, Anne Taylor, Tania Tello, Yih Chung Tham, KR Thankappan, Holger Theobald, Xenophon Theodoridis, Nihal Thomas, Amanda G Thrift, Erik J Timmermans, Hanna K Tolonen, Janne S Tolstrup, Maciej Tomaszewski, Murat Topbas, Michael J Tornaritis, Maties Torrent, Laura Torres-Collado, Giota Touloumi, Pierre Traissac, Areti Triantafyllou, Oanh TH Trinh, Yu-Hsiang Tsao, Thomas Tsiampalis, Shoichiro Tsugane, John Tuitele, Azaliia M Tuliakova, Marshall K Tulloch-Reid, Tomi-Pekka Tuomainen, Maria L Turley, Evangelia Tzala, Christophe Tzourio, Peter Ueda, Eunice Ugel, Flora AM Ukoli, Hanno Ulmer, Hannu MT Uusitalo, Gonzalo Valdivia, Damaskini Valvi, Rob M van Dam, Bert-Jan van den Born, Johan Van der Heyden, Hoang Van Minh, Lenie van Rossem, Natasja M Van Schoor, Irene GM van Valkengoed, Dirk Vanderschueren, Diego Vanuzzo, Anette Varbo, Senthil K Vasan, Tomas Vega, Toomas Veidebaum, Gustavo Velasquez-Melendez, Charlotte Verdot, Giovanni Veronesi, Roosmarijn Verstraeten, Cesar G Victora, Lucie Viet, Luis Villarroel, Jesus Vioque, Jyrki K Virtanen, Bharathi Viswanathan, Peter Vollenweider, Ari Voutilainen, Martine Vrijheid, Janette Walton, Wan Mohamad Wan Bebakar, Wan Nazaimoon Wan Mohamud, Chongjian Wang, Huijun Wang, Ningli Wang, Qian Wang, Weiqing Wang, Ya Xing Wang, Yi-Ren Wang,

- Ying-Wei Wang, S Goya Wannamethee, Karen Webster-Kerr, Niels Wedderkopp, Wenbin Wei, Leo D Westbury, Peter H Whincup, Kurt Widhalm, Indah S Widyahening, Andrzej Więcek, Nilmini Wijemunige, Rainford J Wilks, Karin Willeit, Peter Willeit, Tom Wilsgaard, Bogdan Wojtyniak, Roy A Wong-McClure, Andrew Wong, Emily B Wong, Mark Woodward, Chao-Chun Wu, Frederick C Wu, Haiquan Xu, Liang Xu, Yu Xu, Nor Azwany Yaacob, Li Yan, Weili Yan, Tabara Yasuharu, Chao-Yu Yeh, Moein Yoosefi, Akihiro Yoshihara, San-Lin You, Yu-Ling Yu, Ahmad Faudzi Yusoff, Ahmad A Zainuddin, Farhad Zamani, Sabina Zambon, Antonis Zampelas, Abdul Hamid Zargar, Ko Ko Zaw, Tajana Zeljkovic Vrkic, Yi Zeng, Bing Zhang, Lei Zhang, Luxia Zhang, Zhen-Yu Zhang, Ming-Hui Zhao, Wenhua Zhao, Bekbolat Zholdin, Paul Zimmet, Marie Zins, Emanuel Zitt, Nada Zoghلامي, Julio Zuñiga Cisneros, Majid Ezzati. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *The Lancet*, 404(10467):2077–2093, 2024.
- [269] K.J. Åström, T. Hägglund. The future of pid control. *Control Engineering Practice*, 9(11):1163–1175, 2001.
- [270] Åström, Karl Johan and Hägglund, Tore. *Advanced PID Control*. ISA - The Instrumentation, Systems and Automation Society, 2006.
- [271] Jarosław Śmieja. *Dynamics, feedback loops and control in biology - from physiological to individual cell models*. Monografia - Politechnika Śląska 319. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2011.
- [272] Jarosław Śmieja, Adam Gałuszka. Rule-based pid control of blood glucose level. 'Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania. T. 2'. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2018. W 'Automatyzacja procesów dyskretnych. Teoria i zastosowania. T. 2' pod redakcją Andrzeja Świerniaka i Jolanty Krystek.
- [273] Jarosław Śmieja, Artur Wyciśłok. *Two-Dimensional vs. Scalar Control of Blood Glucose Level in Diabetic Patients*, strona 510–521. Springer International Publishing, 2022.

Spis rysunków

2.1	Schemat pętli regulacji	20
2.2	Schemat blokowy ogólnej struktury sterowania opartej o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od zakłócenia.	25
2.3	Układ sterowania wykorzystujący sprzężenie w przód od wysiłku.	26
2.4	Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru p_2 : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.	35
2.5	Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru P_{bazowe}^* : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.	37
2.6	Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru V_{max} : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.	38
2.7	Reakcje obu algorytmów regulacji dla odchyień parametru T_{up_max} : (a) sygnał sterujący nieograniczony, (b) sygnał sterujący ograniczony.	40
2.8	Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	42
2.9	Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$	43

- 2.10 Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 1.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną. . 45
- 2.11 Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 47
- 2.12 Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 48
- 2.13 Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną. . 49
- 2.14 Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 51
- 2.15 Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 52

- 2.16 Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3.: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną. 53
- 2.17 Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 55
- 2.18 Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 56
- 2.19 Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 2. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną. 58
- 2.20 Czas trwania epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 59
- 2.21 Czas trwania epizodów hiperglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$ 60

2.22	Użyta dobowo insulina w 1000 symulacji w scenariuszu 3. i strukturą ze sprzężeniem w przód: (a) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (b) sygnał sterujący nieograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$, (c) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $80 \frac{mg}{dl}$, (d) sygnał sterujący ograniczony, wartość zadana $100 \frac{mg}{dl}$. Czarną pionową linią zaznaczono maksymalną dawkę dzienną.	62
3.1	Porównanie liczby komórek przerzutowych po 1 roku, 3 latach i 5 latach w badanych modelach.	80
3.2	Porównanie podziału kohorty klinicznej i symulacyjnej według stadium T przy diagnozie.	93
3.3	Porównanie występowania przerzutu przy diagnozie w kohorcie klinicznej i symulacyjnej z podziałem według stadium T.	94
3.4	Rozkład pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii z podziałem według stadium T.	95
3.5	Porównanie podziału pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii nieuwzględniające stadium T dla kohorty wirtualnej.	96
3.6	Porównanie podziału pacjentów poddanych różnym rodzajom terapii uwzględniające stadium T dla kohorty wirtualnej.	96
3.7	Porównanie krzywych całkowitego przeżycia dla testowanych wariantów symulacji z krzywą kliniczną.	98
3.8	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla testowanych wariantów symulacji z krzywą kliniczną.	99
3.9	Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T1.	101
3.10	Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T2.	102
3.11	Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T3.	103
3.12	Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T4.	103

3.13	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T1.	106
3.14	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T2.	106
3.15	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T3.	107
3.16	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla wybranych wariantów kohorty wirtualnej z krzywą kliniczną - pacjenci w stadium T4.	108
3.17	Porównanie krzywych przeżycia całkowitego dla różnych metod określenia momentu przerzutu.	113
3.18	Porównanie krzywych przeżycia wolnego od przerzutu dla różnych metod określenia momentu przerzutu.	113
4.1	Schemat blokowy idealnej struktury opartej o sprzężenie zwrotne ze sprzężeniem w przód od sygnału wejściowego.	121
4.2	Graf odpowiadający strukturze typu feedback-feedforward	123
4.3	Uproszczenie grafu struktury dla przypadku statycznego sprzężenia w przód.	124
4.4	Schemat blokowy algorytmu określania grafu oddziaływań	126
4.5	Reprezentacja tekstowa przykładowego grafu.	131
4.6	Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy odpowiedzi na stan zapalny w oprogramowaniu.	135
4.7	Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym odpowiedzi na stan zapalny w oprogramowaniu.	135
4.8	Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy NF- κ B - I κ B.	136
4.9	Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym NF- κ B - I κ B.	137
4.10	Wynik weryfikacji kandydatów na struktury typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym NF- κ B - I κ B.	138

4.11	Dane wejściowe reprezentujące szlak sygnałowy p53/Mdm2.	139
4.12	Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym p53/Mdm2.	139
4.13	Wynik poszukiwania struktur typu feedback-feedforward w szlaku sygnałowym p53/Mdm2 - modyfikacja grafu.	140
4.14	Informacje wejściowe dla algorytmu - zmienne i równania	141
4.15	Tekstowa reprezentacja grafu oddziaływań dla modelu szlaku EMT . . .	141
4.16	Odnalezione przez algorytm w modelu pętli sprzężenia zwrotnego . . .	141
4.17	Kandydaci na strukturę typu feedback-feedforward	142
4.18	Wyniki weryfikacji kandydatów na strukturę typu feedback-feedforward	142
4.19	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	145
4.20	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	146
4.21	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	146
4.22	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	147
4.23	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	148
4.24	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	148
4.25	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	148
4.26	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - lokalna analiza wrażliwości.	149
4.27	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	150
4.28	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	150
4.29	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów. . .	151

4.30	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów. .	151
4.31	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	153
4.32	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	153
4.33	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	153
4.34	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zmniejszenie wartości parametrów.	153
4.35	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	155
4.36	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	156
4.37	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów. . .	156
4.38	Wartości średniej i wariancji częstotliwościowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów. . .	157
4.39	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Zeb jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	157
4.40	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla mRNA Snail jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	158
4.41	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-34 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	158
4.42	Wartości średniej całkowego indeksu wrażliwości dla miR-200 jako wyjścia - znaczne zwiększenie wartości parametrów.	158
4.43	Ogólny schemat blokowy znalezionych struktur z zaznaczonymi dodatkowymi sprzężeniami	173

Spis tabel

2.1	Wartości zmienianych parametrów używane w testach pojedynczych . . .	28
2.2	Wartości zmienianych parametrów używane w testach pojedynczych . . .	32
2.3	Wskaźniki jakości wykorzystane do oceny algorytmów regulacji.	33
2.4	Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 1.	41
2.5	Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2.	46
2.6	Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3.	50
2.7	Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 2. układu ze sprzężeniem w przód.	54
2.8	Liczba epizodów hipoglikemii w 1000 symulacji w scenariuszu 3. układu ze sprzężeniem w przód.	58
3.1	Podział kohorty klinicznej według stadiów T i M	86
3.2	Podział kohorty klinicznej według typu terapii	86
3.3	Lista parametrów wspólnych dla kohorty	87
3.4	Lista parametrów różnicujących pacjentów wraz z rozkładami	87
3.5	Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia całkowitego wa- riantów modelu z danymi klinicznymi. Kolorem zaznaczono wyniki ozna- czające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.	99
3.6	Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia wolnego od prze- rzutu wariantów modelu z danymi klinicznymi. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%. . . .	100

3.7	Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia całkowitego wybranych wariantów kohorty wirtualnej z danymi klinicznymi dla danych zgrupowanych według stadium T. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.	104
3.8	Wyniki testu log-rank porównania krzywych przeżycia wolnego od przerzutów wybranych wariantów kohorty wirtualnej z danymi klinicznymi dla danych zgrupowanych według stadium T. Kolorem zaznaczono wyniki oznaczające istotność statystyczną dla poziomu ufności 95%.	109
4.1	Reprezentacje tekstowe struktur i sprzężeń używane przez program . . .	131
4.2	Rozkłady odchyłek wartości parametrów	134
4.3	Parametry modelu wybrane do analizy wrażliwości	144
4.4	Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - średnia indeksu metody w dziedzinie czasu	161
4.5	Wyniki porównania par parametrów w kontekście średniej wskaźnika wrażliwościowego dla metody w dziedzinie czasu	163
4.6	Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - średnia indeksu metody częstotliwościowej	165
4.7	Wyniki porównania par parametrów w kontekście średniej wskaźnika wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej	167
4.8	Zestawienie wyników analizy wrażliwości dla zweryfikowanych kandydatów na strukturę - wariancja indeksu metody częstotliwościowej . . .	169
4.9	Wyniki porównania par parametrów w kontekście wariancji wskaźnika wrażliwościowego dla metody częstotliwościowej	171