

Μαθηματικά ομοιώματα και υπολογιστική
αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης και
αναστολής της μέσω χορήγησης
αντικαρκινογόνων ουσιών

Η Μεταπτυχιακή Εργασία Εξειδίκευσης

υποβάλλεται στην ορισθείσα

από τη Γενική Συνέλευση Ειδικής Σύνθεσης
του Τμήματος Μηχανικών Η/Υ και Πληροφορικής
Εξεταστική Επιτροπή

από την

Παρασκευή Κουτσή

ως μέρος των υποχρεώσεων για την απόκτηση του

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ

ΜΕ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ
ΣΤΙΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ - ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ιούνιος 2018

Εξεταστική Επιτροπή:

- **Γεώργιος Μανής**, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Μηχανικών Η/Υ και Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Επιβλέπων)
- **Σπυρίδων Καρκαμπούνας**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
- **Χριστόφορος Νίκου**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Μηχανικών Η/Υ και Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

ΑΦΙΕΡΩΣΗ

Θα αφιερώσω την εργασία μου στην οικογένειά μου για όλη τη στήριξή τους σε όλο αυτό το διάστημα εκπόνησης της διατριβής αυτής.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες καθηγητές της μεταπτυχιακής αυτής διατριβής, κ.κ. Γεώργιο Μανή Επίκουρο Καθηγητή, Σπυρίδωνα Καρκαμπούνα Αναπληρωτή Καθηγητή για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθειά τους στην εκπόνηση της εργασίας, καθώς για την γνωσιολογική υποστήριξή τους προς εμένα, την διαρκή επιμέλειά των διαφόρων ερευνητικών μου προσπαθειών όπως επίσης για την ευγενική ενθάρρυνση που μου έδωσαν καθ' όλη όλην την διάρκεια της φοίτησής μου. Επίσης, ευχαριστώ τον κ. Χριστόφορο Νίκου Αναπληρωτή Καθηγητή για την ευγενική του προθυμία να συμμετάσχει στην τριμελή εξεταστική επιτροπή της εργασίας του μεταπτυχιακού μου.

Στην συνέχεια θα ήθελα μέσα από την καρδιά μου να ευχαριστήσω όλη μου την οικογένεια καθέναν ξεχωριστά, αγαπημένα μου πρόσωπα για την υποστήριξή τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου αλλά και τον πνευματικό μου Πατέρα, Πατήρ Αγαπίωνα, για την πνευματική βοήθεια που μου προσέφερε όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κατάλογος Σχημάτων	iv
Κατάλογος Πινάκων	viii
Κατάλογος Αλγορίθμων	ix
Γλωσσάρι	x
Περίληψη	xi
Extended Abstract	xii
1 Εισαγωγή	1
1.1 Συνεισφορά της Διατριβής	1
1.2 Στόχοι	4
1.3 Δομή της Διατριβής	4
2 Βιολογικά Δεδομένα	6
2.1 Γενικά	6
2.2 Στοιχεία για τον ποντικό NMRI	8
2.2.1 Ταξινόμηση και χρησιμότητα	8
2.2.2 Εξωτερική μορφολογία	8
2.2.3 Αντιστοιχία με τον άνθρωπο	10
3 Υλικά και Μέθοδος	15
3.1 Πειραματόζωα	15
3.1.1 Τύπος – ποικιλία - ομογενοποίηση	15
3.1.2 Τοποθέτηση των ζώων και φροντίδα αυτών	16
3.1.3 Χειρουργικοί χειρισμοί	17

3.1.4	Παρακολούθηση των πειραματοζώων	17
3.2	Πορεία του πειράματος	18
3.2.1	Εξέταση των ζώων	18
3.2.2	Ομάδες πειραματοζώων	19
4	Βιολογικά αποτελέσματα της χημικής καρκινογένεσης και της αναστολής της	25
5	Μαθηματικά μοντέλα των κακοήθων νεοπλασματικών νόσων	44
5.1	Εισαγωγή	44
5.2	Μοντέλα ανάπτυξης κακοήθων όγκων	46
5.2.1	Εμπειρικά μοντέλα	46
5.2.2	Μηχανιστικά μοντέλα	47
5.3	Μαθηματική περιγραφή της νεοπλασματικής ανάπτυξης	48
5.3.1	Θεωρία ανάπτυξης μοντέλων	48
5.4	Μαθηματικά μοντέλα ανάπτυξης και παραμετρικές σχέσεις	49
5.4.1	Μοντέλο ανάπτυξης Particular Case of Logistic	51
5.4.2	Μοντέλο ανάπτυξης Ludwig Von Bertalanffy	51
5.4.3	Μοντέλο ανάπτυξης Richards	51
5.4.4	Μοντέλο ανάπτυξης Brody	52
5.4.5	Μοντέλο ανάπτυξης Gompertz	52
5.4.6	Μοντέλο ανάπτυξης Monomolecular	53
5.4.7	Μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich	53
5.4.8	Μοντέλο ανάπτυξης Logistic	54
5.4.9	Μοντέλο ανάπτυξης Weibull	54
6	Υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης και της αναστολής της και Πειραματικά αποτελέσματα	56
6.1	Σχεδίαση Αλγορίθμου	56
6.2	Μέθοδοι Gauss-Newton και Levenberg-Marquardt	58
6.2.1	Ορολογία	58
6.2.2	Μη γραμμικό πρόβλημα ελαχίστων τετραγώνων	58
6.2.3	Μέθοδος Gauss-Newton	60
6.2.4	Μέθοδος Levenberg-Marquardt	60
6.3	Ταξινόμηση χημικής καρκινογένεσης	61

6.3.1	SVM Classification	61
7	Παραγωγή Αποτελεσμάτων	64
7.1	Καμπύλες ανάπτυξης μοντέλων	64
7.2	Γραφικές παραστάσεις αναπτυξιακών μοντέλων	65
7.3	Αποτελέσματα SVM Classification	82
8	Συμπεράσματα	84
	Βιβλιογραφία	87
A'	Μαθηματικά μοντέλα ανάπτυξης όγκων-Επίλυση διαφορικών εξισώσεων	91
A'.1	Γενικά	91
A'.2	Το μοντέλο ανάπτυξης Gompertz	92
A'.3	Το μοντέλο ανάπτυξης Von Bertalanffy	93
A'.4	Το μοντέλο ανάπτυξης Particular Case of Logistic	94
A'.5	Το μοντέλο ανάπτυξης Richards	95
A'.6	Το μοντέλο ανάπτυξης Weibull	96
A'.7	Το μοντέλο ανάπτυξης Brody	97
A'.8	Το μοντέλο ανάπτυξης Monomolecular	98
A'.9	Το μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich	98
B'	Εικόνες Διαγραμμάτων ανάπτυξης όγκων	99

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

1.1	3,4-Benzopyrene	4
2.1	Η εξωτερική όψη του <i>Mus musculus domesticus varieta' albinus</i> , NMRI.	9
2.2	Κεφαλή του <i>Mus musculus domesticus varieta' albinus</i> , NMRI. Στοιχεία της κεφαλής: Superciliary άνω βλέφαρο, Mystacial μύστακες, Submental πώγων , γένιο Interramal γενειάδα	9
2.3	Κοιλιακή όψη. Διακρίνονται οι θηλές : Pectoral group : θωρακική ομάς θηλών Inguinal group : Κάτω κοιλιακή ομάς θηλών.	10
2.4	Συσχέτιση βάρους με φύλο ποντικού	11
4.1	Καρκινογόνα δράση 3,4-βενζοπυρένιου. Η υποδόρια ένεση 2,52 mgr B[a]P διαλυμένου σε 0,5 ml τρικαπριλίνης, σε πενήντα ποντικούς, προκαλεί σε όλους δημιουργία κακοήθων όγκων (χημική καρκινογένεση 100% στην συνολική ομάδα των πειραματόζων).	26
4.2	Μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με τρεις διαφορετικές πολυαμίνες : 1 – Καρκινογόνα δράση του B[a]P. 2 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P από 10 mgr αιθυλεν-διαμίνης. 3 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P από 10 mgr πουτρεσκίνης. 4 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, από 10 mgr κανταβερίνης.	31
4.3	Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr βισμούθειόλης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P	33
4.4	Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (mercaptosuccinic acid). Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.	35

4.5	Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr αιθυλεστέρα της L-κυστεΐνης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.	37
4.6	Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr L-κυστεΐνης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.	39
4.7	Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr διθειοθρεϊτόλης (dithiotreitol). Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.	41
4.8	Χειρουργικοί χειρισμοί σε NMRI	41
4.9	Κακοήθης όγκος νεοπλασματικής νόσου σε NMRI	42
4.10	Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI	42
4.11	Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI	42
4.12	Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI	43
4.13	Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI	43
5.1	Τρία στρώματα σε ιδανικό σχήμα του MTS	45
5.2	Διάγραμμα ροής που απεικονίζει τις σχέσεις μεταξύ των γενικευμένων και εξειδικευμένων λειτουργιών ανάπτυξης.	50
7.1	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	66
7.2	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	66
7.3	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	67
7.4	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	67
7.5	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	68
7.6	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	68
7.7	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	69
7.8	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	69
7.9	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	70
7.10	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	70
7.11	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	71
7.12	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	71
7.13	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	72
7.14	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	72
7.15	Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	73

7.16 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	73
7.17 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	74
7.18 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	74
7.19 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	75
7.20 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	75
7.21 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	76
7.22 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	76
7.23 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	77
7.24 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	77
7.25 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	78
7.26 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	78
7.27 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	79
7.28 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	79
7.29 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	80
7.30 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	80
 B'.1 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	 99
B'.2 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	100
B'.3 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	100
B'.4 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	101
B'.5 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	101
B'.6 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	102
B'.7 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	102
B'.8 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	103
B'.9 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	103
B'.10 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	104
B'.11 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	104
B'.12 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	105
B'.13 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	105
B'.14 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	106
B'.15 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	106
B'.16 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	107
B'.17 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	107
B'.18 Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	108

B'.19Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	108
B'.20Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	109
B'.21Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	109
B'.22Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	110
B'.23Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	110
B'.24Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	111
B'.25Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	111
B'.26Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	112
B'.27Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	112
B'.28Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	113
B'.29Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	113
B'.30Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	114
B'.31Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	114
B'.32Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	115
B'.33Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	115
B'.34Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	116
B'.35Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	116
B'.36Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	117
B'.37Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	117
B'.38Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	118
B'.39Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	118
B'.40Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	119
B'.41Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	119
B'.42Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	120
B'.43Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	120
B'.44Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	121
B'.45Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	121
B'.46Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI	122

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

2.1	Πίνακας Παραμέτρων	14
5.1	Λίστα αναπτυξιακών συναρτήσεων με ενσωματωμένες σταθερές . . .	55
7.1	Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM μοντέλων Brody, Monomolecular και Mitscherlich.	82
7.2	Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM του μοντέλου Gompertz.	83
7.3	Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM του μοντέλου Von Bertalanffy.	83

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΛΓΟΡΙΘΜΩΝ

6.1	Υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης του NMRI ποντικού	57
-----	---	----

ΓΛΩΣΣΑΡΙ

Μυς : ποντικός

NMRI : Naval Medical Research Institute είναι μια φυλή του είδους *Mus musculus* L

albino : Αλφικά ζώα

Επίμυς : αρουραίος

Ratus norvegicus : αρουραίος της Νορβηγίας

Rodentia : τρωκτικά

B[a]P : 3,4 - Βενζοπυρένιο, χημική ουσία καρκινογένεσης

ETHDMN-1 : αιθυλενοδιαμίνης, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

CDVRN-2 : κανταβερίνης, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

PTRSCN-3 : πουτρεσκίνης, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

Bismuthiol-I : βισμούθειόλης-I, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

L-Cystein : L-κυστεΐνης, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

L-Cystein-Ethylester : αιθυλικού εστέρος της L-κυστεΐνης, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

Mercaptosuccinic Acid : μερκαπτοηλεκτρικού οξέος, αναστολέας της χημικής καρκινογένεσης

Dithiothreitol : διθειοθρεϊτόλης

Multi Cell Tumor Spheroid ή MTS : συστήματα καλλιέργειας πολυκύτταρων σφαιροειδών όγκων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Παρασκευή Κουτσή, Μ.Δ.Ε. στην Πληροφορική, Τμήμα Μηχανικών Η/Υ και Πληροφορικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιούνιος 2018.

Μαθηματικά ομοιώματα και υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης και αναστολής της μέσω χορήγησης αντικαρκινογόνων ουσιών.

Επιβλέπων: Γεώργιος Μανής, Επίκουρος Καθηγητής.

Ο καρκίνος αποτελεί παγκοσμίως το πιο σημαντικό και ευαίσθητο πρόβλημα υγείας και αφορά εκατομμύρια ανθρώπους. Η μάχη ενάντια στον καρκίνο, τα τελευταία 20 χρόνια, έχει πραγματικά γιγαντωθεί και τα αποτελέσματα είναι εντυπωσιακά. Ο καρκίνος αποτελεί αντικείμενο συνεχούς ιατρικής έρευνας και η πρόοδος που έχει συντελεστεί με την βοήθεια της τεχνολογίας οδηγεί στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών.

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στη μελέτη μαθηματικών μοντέλων τα οποία περιγράφουν κατά τον καλύτερο δυνατό τρόπο την ανάπτυξη κακοήθων όγκων που προκαλούνται σε ένα συγκεκριμένο είδος πειραματόζων κατόπιν χημικής καρκινογένεσης με έναν πλήρως καρκινογόνο παράγοντα γνωστό ως 3,4-βενζοπυρένιο. Σκοπός της εργασίας είναι η μελέτη του φαινομένου της χημικής καρκινογένεσης, της αναστολής της και της ανάπτυξης των κακοήθων όγκων.

Τα δεδομένα μας είναι ενθαρρυντικά και αν η έρευνα συνεχιστεί θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει στην δημιουργία συμπληρωμάτων και φαρμάκων ικανών να αναστέλλουν την χημική καρκινογένεση σε ποσοστό πλήρες.

EXTENDED ABSTRACT

Paraskevi Koutsi, M.Sc. in Computer Science, Department of Computer Science and Engineering, University of Ioannina, Greece, June 2018.

Thesis Title.

Advisor: Georgios Manis, Assistant Professor.

Cancer research has yielded tremendous gains over the last two decades with remarkable results addressing this worldwide major public health problem. Continuous technological developments and persistent research has lead to significant progress in targeted therapies.

This post-graduate thesis focuses on the study of mathematical models that describe in the most optimal way the development of malignant tumours induced in experimental animals of a particular species following chemical carcinogenesis with a complete carcinogen factor known as 3,4-benzopyrene. The purpose of this work is to study the phenomenon of chemical carcinogenesis, inhibition and growth of malignant tumours.

This thesis consists of four major sections: the general part, the materials and methods used, the experimental processes, the results and their commentary, as well as the conclusions that come out of our research.

The second chapter analyses the biological data upon which this work was based, in order to comprehend the following sections. Additionally, the entire theoretical background necessary for our experimental results was examined and explained thoroughly.

The third chapter investigates gradually the biological experiment as well as its course.

Subsequently, the fourth chapter presents the biological outputs that resulted from our work. These biological effects formed the foundation upon which we relied the

creation of the mathematical descriptions in order to theorize regarding chemical carcinogenesis and its inhibition.

Furthermore, the fifth chapter mentions the generally accepted mathematical models of malignant neoplastic diseases found in the international literature and the explanation of the parametric relationships of these models.

The sixth chapter presents the computational representation of the phenomenon of chemical carcinogenesis in detail, its inhibition as well as the growth of tumors. Moreover, the tools of automatic classification of inhibitions of chemical carcinogenesis based on the parameters of our models are outlined.

In the seventh chapter we analyze the pure results of simulation of chemical carcinogenesis, graphical depictions of tumor growth as well as provide a commentary on mathematical-computational results.

In the ninth chapter, we summarize all the conclusions of our study.

Our data are encouraging and further research could potentially lead to the development of supplements and drugs capable of inhibiting chemical carcinogenesis at a full rate.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Συνεισφορά της Διατριβής

1.2 Στόχοι

1.3 Δομή της Διατριβής

1.1 Συνεισφορά της Διατριβής

Η παρούσα μελέτη έλαβε χώρα για να γίνει μια προσπάθεια μαθηματικής περιγραφής της διαδικασίας της χημικής καρκινογένεσης που προκαλείται από έναν ισχυρό καρκινογόνο παράγοντα που είναι ένα ευρύτατα διαδεδομένο περιβαλλοντικό καρκινογόνο και μπορεί να προκαλέσει κακοήγη εξαλλαγή σε κάθε είδους κυττάρου του οργανισμού του ανθρώπου και των ανωτέρων ζώων. Ο παράγοντας αυτός είναι ο πολυκυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας 3,4 – βενζοπυρένιο (B[a]P), ο οποίος αποτελεί προϊόν της ατελούς καύσης των οργανικών ουσιών και αποτελείται εξ ολοκλήρου από άνθρακα και υδρογόνο. Το B[a]P βρίσκεται ευρύτατα διαδεδομένο στην τροφή, στον αέρα, στα νερά και εισέρχεται στο ανθρώπινο σώμα σε καθημερινή βάση. Μπορεί μάλιστα να προκαλέσει νεοπλασματική νόσο σε ποσοστό 100% σε ποσότητες προσεγγίζουσες τα 2,25 gr/kg b.w (χιλιόγραμμα βάρους σώματος). Ο μοριακός τύπος του B[a]P είναι C₂₀H₁₂. Ο συντακτικός τύπος του B[a]P φαίνεται στην εικόνα 1.1. Η πειραματική μέθοδος χημικής καρκινογένεσης που χρησιμοποιείται ως βάση στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί ακριβώς αυτή την αναλογία B[a]P ως προς την μάζα του σώματος των πειραματόζωων (2,52 mgr B[a]P/30 gr b.w). Η

πρώτη προσέγγιση της χημικής καρκινογένεσης έγινε από τον Άγγλο χειρουργό sir Percivall Pott ο οποίος παρατήρησε τα αυξημένα ποσοστά καρκίνου του οσχέου σε νέους καπνοδοχοκαθαριστές, που ασκούσαν αυτό το επάγγελμα από μικρά παιδιά και συσχέτισε την ανάπτυξη της νεοπλασματικής νόσου με την επαφή των γενετικών τους οργάνων με την αιθάλη των καπνοδόχων της βιομηχανικής περιόδου της Αγγλίας [1]. Η απομόνωση του 3,4-βενζοπυρενίου και άλλων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (ΠΑΥ) ικανών να προκαλέσουν καρκίνο έγινε σταδιακά από τις αρχές του 1900 μέχρι τα τέλη του 20ου αιώνα [2] [3]. Σταδιακά πολλοί ΠΑΥ δοκιμάζονται πειραματικά και αποδεικνύεται όλο και με μεγαλύτερη έμφαση ότι είναι σε θέση να προκαλέσουν κακοήγη εξαλλαγή και νεοπλασματική νόσο σε όλα σχεδόν το δοκιμασθέντα είδη πειραματοζώων, υπό τον όρο να χορηγηθούν σε επαρκώς μεγάλες ποσότητες [2] [3] [4] [5] [6] [7]. Τα τέλη της δεκαετίας του 1960 υπάρχουν ήδη εκτεταμένες χημικές, βιολογικές και βιοχημικές μελέτες πειραματικής καρκινογένεσης σε πολλά είδη πειραματοζώων [2] [3] [4] [5] [6] [7]. Την εποχή αυτή οι δημοσιεύσεις οι σχετικές με την καρκινογόνο δράση των ΠΑΥ αριθμούν περί τις 1500 εργασίες διεθνώς.

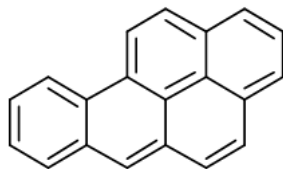
Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια μαθηματικής περιγραφής του αποτελέσματος της χημικής καρκινογένεσης που προκαλεί το 3,4-βενζοπυρένιο στους ποντικούς NMRI. Δηλαδή επιστρατεύσαμε τα διαθέσιμα μαθηματικά μοντέλα ανάπτυξης μονήρων κακοήθων όγκων, προκειμένου να μελετήσουμε αν αυτά είναι σε θέση να περιγράψουν με ακρίβεια και να αναπαράγουν πιστά τα δεδομένα της ανάπτυξης κακοήθους όγκου δημιουργημένου με την ενέσιμη χορήγηση B[a]P σε συγκεκριμένο τύπο πειραματόζωου εξειδικευμένου για την δημιουργία κακοήθων όγκων. Συνεπώς το αντικείμενο της εργασίας μας είναι η μελέτη του κατά πόσον τα επικρατούντα, στην βιβλιογραφία, μοντέλα της ανάπτυξης κακοήθων όγκων είναι σε θέση να περιγράψουν και να αναπαράγουν πειστικά και με ακρίβεια την ανάπτυξη πραγματικών κακοήθων όγκων, δημιουργηθέντων, βάσει συγκεκριμένου και αυστηρώς επαναλήψιμου πειραματικού πρωτοκόλλου με προκλητό και ποσοτικοποιημένο τρόπο, σε ένα είδος ζώου σημαντικού για την μελέτη της κακοήθους νεοπλασματικής νόσου. Το αντικείμενο αυτό είναι απολύτως πρωτότυπο και δεν έχει επιχειρηθεί προηγουμένως από κάποια άλλη πειραματική ομάδα. Δηλαδή δεν έχουν υπάρξει άλλες προσπάθειες μελέτης της ανάπτυξης κακοήθων όγκων προκληθέντων με βενζοπυρένιο σε μύες NMRI με την χρήση των πλέον αποδεκτών διεθνώς μαθηματικών ομοιωμάτων

κακοήθους νεοπλασματικής ανάπτυξης.

Οι σκοποί της επιλογής αυτού του αντικειμένου ήταν οι εξής :

1. Η διαπίστωση αν κάποιο από τα υπάρχοντα μαθηματικά ομοιώματα (μοντέλα) ανάπτυξης όγκων είναι επαρκές για να περιγράψει την κακοήγη νεοπλασματική ανάπτυξη την προκληθείσα με B[a]P στους ποντικούς NMRI.
2. Η διαπίστωση αν κάποιες ουσίες γνωστής δομής και γνωστών χημικών ιδιοτήτων – δηλαδή μόρια προικισμένα με ιδιότητες αντιοξειδωτικές – είναι σε θέση να προκαλέσουν μείωση του ποσοστού χημικής καρκινογένεσης προκληθείσας από B[a]P στον ποντικό NMRI.
3. Η διαπίστωση του κατά πώς συμπεριφέρονται οι κακοήθεις όγκοι οι προκληθέντες από B[a]P σε ζώα στα οποία έχει χορηγηθεί παράλληλα και μια συγκεκριμένη ποσότητα ενός αντιοξειδωτικού μορίου γνωστής χημικής δομής και γνωστών χημικών ιδιοτήτων. Δηλαδή οι όγκοι που αναπτύσσονται σε ποντικούς NMRI, στους οποίους χορηγήθηκε εφ' άπαξ μια δόση αντιοξειδωτικού, έχουν την ίδια ταχύτητα ανάπτυξης με τους όγκους που δημιουργήθηκαν μόνο με την χορήγηση B[a]P και χωρίς προσθήκη αντιοξειδωτικών παραγόντων;
4. Η δημιουργία (ή η υιοθεσία) ενός ενδεδειγμένου μαθηματικού ομοιώματος της ανάπτυξης των κακοήθων όγκων ικανού να χρησιμοποιηθεί για την περαιτέρω μελέτη φαρμάκων, διατροφικών συμπληρωμάτων και γενικά θεραπευτικών μεθόδων αντιμετώπισης των κακοήθων νεοπλασμάτων σε ποντικούς NMRI. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ΔΕΝ υπάρχουν μαθηματικά μοντέλα ικανά να περιγράψουν επακριβώς αυτήν την παθολογική κατάσταση.
5. Το διεθνές αίτημα για την ανάπτυξη μαθηματικών ομοιωμάτων της κακοήθους νεοπλασματικής νόσου, προκειμένου να μειωθεί στο ελάχιστο η χρήση πειραματόζων για την μελέτη αυτής της μεγάλης ομάδας δυσίατων ή και ανίατων νόσων. Όλες οι διεθνείς συμφωνίες για την χρήση των πειραματόζων θέτουν σαν στόχο τους την ελαχιστοποίηση στο έπακρο της χρήσης ζώων για την μελέτη των νόσων.
6. Την προβολή και μεταφορά των δεδομένων των εν λόγω μοντέλων στην ανάπτυξη όγκων στον άνθρωπο, προκειμένου να αριστοποιείται η θεραπευτική γραμμή.

Είναι φυσικό η μελέτη που απαιτείται για τον προσδιορισμό της γραμμής επέμβασης της ιατρικής πράξης στους πάσχοντες από κακοήγη νεοπλασματική νόσο να επεκτείνεται πέραν των ορίων της μεταπτυχιακής εργασίας που αναπτύξαμε αυτά τα δύο χρόνια και να απαιτεί την προσέγγιση ενός διδακτορικού.



Σχήμα 1.1: 3,4-Benzopyrene

1.2 Στόχοι

Στη εργασία αυτή έγινε μια προσπάθεια επισήμανσης εκείνων των μαθηματικών μοντέλων τα οποία περιγράφουν κατά βέλτιστο τρόπο την ανάπτυξη κακοήθων όγκων που προκαλούνται σε ένα συγκεκριμένο είδος πειραματόζων κατόπιν χημικής καρκινογένεσης με έναν πλήρως καρκινογόνο παράγοντα γνωστό ως 3,4-βενζοπυρένιο. Επίσης, έγινε προσπάθεια να υπολογιστούν μαθηματικά με πλήρη θεωρητικό ορθολογισμό οι ποσότητες αντικαρκινογόνων που θα μπορούσαν να εξουδετερώσουν εξ ολοκλήρου την χημική καρκινογένεση στους ίδιους τύπους ζώων. Τα δεδομένα μας είναι ενθαρρυντικά και αν η έρευνα συνεχιστεί θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει στην δημιουργία συμπληρωμάτων και φαρμάκων ικανών να αναστέλλουν την χημική καρκινογένεση σε ποσοστό πλήρες.

1.3 Δομή της Διατριβής

Η ανά χείρας διατριβή περιέχει τέσσερις μεγάλες ενότητες: το γενικό μέρος, τα υλικά και τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, την πειραματική διαδικασία, τα αποτελέσματα και τον σχολιασμό τους καθώς και τέλος τα συμπεράσματα τα οποία προκύπτουν από την όλη έρευνα μας.

Στο δεύτερο κεφάλαιο αναλύουμε τα βιολογικά δεδομένα πάνω στα οποία βασίστηκε η εργασία μας, έτσι ώστε να μπορούμε να κατανοήσουμε τις παρακάτω ενότητες. Θα αναλύσουμε και θα εξηγήσουμε εξονυχιστικά όλο το θεωρητικό υπόβαθρο που είναι απαραίτητο για τα πειραματικά μας αποτελέσματα.

Στο τρίτο κεφάλαιο εξηγούμε βήμα βήμα το βιολογικό πείραμα αλλά και την πορεία του πειράματος, στα αποτελέσματα του οποίου βασίστηκε όλη η διαδικασία της υπολογιστικής μας αναπαράστασης.

Έπειτα στο τέταρτο κεφάλαιο παρουσιάζουμε τα βιολογικά αποτελέσματα που προέκυψαν από την εργασία μας. Επί των βιολογικών αυτών αποτελεσμάτων στηριχθήκαμε για την δημιουργία των μαθηματικών περιγραφών των βιολογικών μας αποτελεσμάτων, προκειμένου να θεωρητικοποιήσουμε την χημική καρκινογένεση και την αναστολή της.

Έπειτα στο πέμπτο κεφάλαιο αναφέρουμε τα γενικώς αποδεκτά υπάρχοντα στην διεθνή βιβλιογραφία μαθηματικά μοντέλα των κακοήθων νεοπλασματικών νόσων αλλά και την εξήγηση των παραμετρικών σχέσεων των μοντέλων αυτών.

Στο έκτο κεφάλαιο παρουσιάζουμε αναλυτικά την υπολογιστική αναπαράσταση του φαινομένου της χημικής καρκινογένεσης, της αναστολής της και της ανάπτυξης όγκων. Επιπλέον, παρουσιάζουμε εργαλείο αυτόματης ταξινόμησης των αναστολών της χημικής καρκινογένεσης με βάση των παραμέτρων των μοντέλων μας.

Στο έβδομο κεφάλαιο αναλύουμε τα αμιγή αποτελέσματα της προσομοίωσης της χημικής καρκινογένεσης, γραφικές παραστάσεις ανάπτυξης όγκων καθώς αλλά και τον σχολιασμό των μαθηματικών-υπολογιστικών αποτελεσμάτων.

Στο όγδοο κεφάλαιο παραθέτουμε αναλυτικά όλα τα συμπεράσματα της μελέτης μας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

2.1 Γενικά

2.2 Στοιχεία για τον ποντικό NMRI

2.1 Γενικά

Ο αλφικός μυς (ποντικός) NMRI (Naval Medical Research Institute) είναι μια φυλή του είδους *Mus musculus* L που καταγράφηκε ταξινομικά από τον Λινναίο (Linnaeus, 1758)[8], ενώ ως ζώο είναι γνωστό στον άνθρωπο από αρχαιοτάτων χρόνων καθώς πολύ συχνά βρίσκεται στο άμεσο οικιακό του περιβάλλον. Ο ποντικός θεωρείται άγριο ζώο και όχι οικόσιτο, παρά το γεγονός ότι πολύ συχνά οι οικολογικοί θώκοι στους οποίους απαντάται συμπεριλαμβάνουν οι κατοικίες των ανθρώπων. Πολλές παραλλαγές ποντικών αποτέλεσαν και αποτελούν ένα ζώο επιλογής για τον πειραματισμό που αφορά την ανάπτυξη φαρμάκων και την εν γένει μελέτη βιολογικών φαινομένων σχετικών με την τοξικολογία, τον καρκίνο, τις λοιμώξεις, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τις μεταμοσχεύσεις, το γήρας κ.α. Ο πειραματισμός με ποντικούς αρχίζει περί τα τέλη του 18ου αιώνα και συνεχίζεται μέχρι σήμερα. Για τις ανάγκες του βιοϊατρικού πειραματισμού έχουν δημιουργηθεί μερικές σημαντικές παραλλαγές του είδους *Mus musculus* μεταξύ των οποίων και ο αλφικός ποντικός NMRI. Ως γνωστόν τα αλφικά ζώα (albino) δεν διαθέτουν γονίδια παραγωγής χρωστικών για την χρώση της δοράς των τριχών και της ίριδος των οφθαλμών. Ως εκ τούτου έχουν απολέσει την προστασία που αποδίδει σε αυτά η παρουσία των εν

λόγω χρωστικών. Ωστόσο είναι πιθανόν ο αλφισμός να προέκυψε και ως προσαρμογή πολλών ειδών ζώων στις συνθήκες των χιονοσκεπών περιοχών του Βορά και του αρκτικού κύκλου. Πολύ χαρακτηριστικά ο επίμυς (αρουραίος) Wistar, ο οποίος χρησιμοποιείται ως πειραματικό μοντέλο για πληθώρα μελετών, ανήκει στο είδος *Ratus norvegicus* (αρουραίος της Νορβηγίας) και συνεπώς η λευκή δορά πιθανόν να οφείλεται σε προσαρμογή στην λευκότητα του εδάφους εξ αιτίας του χιονιού. Ίσως αντίστοιχες προσαρμογές να έγιναν και σε άλλα ζώα των βόρειων περιοχών και του αρκτικού κύκλου, όπως π.χ στην περίπτωση της λευκής πολικής άρκτου. Ενδεχομένως έτσι να προέκυψε το είδος του ποντικού NMRI το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως βιολογικό δοκιμαστικό μοντέλο για την χημική εξουδετέρωση του καρκινογόνου πολυκυκλικού υδρογονάνθρακα 3,4-βενζοπυρένιου.

Η εν λόγω ποικιλία ποντικού αναπτύχθηκε αρχικά στην Λοζάνη (Ελβετία) και από εκεί μια ομάδα εννέα ζώων μεταφέρθηκε στις ΗΠΑ το 1926 από την Clara Lynch. Το 1937 η εν λόγω ποικιλία ζώων ελήφθη από τον Poiley και αναπαρήχθη σε κανονικό και πλήρες εκτροφείο ώστε να τυποποιηθεί γενετικά και να μελετηθεί σε βάθος προκειμένου να χρησιμοποιείται ως τακτικό πειραματόζωο σε πολλούς τύπους πειραμάτων και έγινε γνωστή με την κωδική ονομασία NIH/Pl. Το 1955 εισάγεται στο Ινστιτούτο Ιατρικών Ερευνών του Ναυτικού των Ηνωμένων Πολιτειών όπου χρησιμοποιείται πλέον με τον κωδικό NMRI από την ακροστιχίδα των λέξεων Naval Medical Research Institute. Υπό αυτήν πλέον την κωδική ονομασία άτομα το 1955 θήλεις και άρρενες ποντικοί της συγκεκριμένης ποικιλίας μεταφέρθηκαν στο Bundes – Forschungsanstalt für Viruskrankheiten. Το 1958 η ποικιλία ποντικών NMRI μεταφέρθηκε στο Central Institute for Animal Breeding του Ανόβερου της τότε Δυτικής Γερμανίας. Το 1978 ένας αριθμός των εν λόγω ποντικών NMRI μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και εγκαταστάθηκαν στο Πειραματικό Εκτροφείο Πειραματοζώων της Ιατρικής Σχολής. Στελέχη του εν λόγω μύος χρησιμοποιήθηκαν σταδιακά για την μελέτη της εξουδετέρωσης της χημικής καρκινογένεσης της προκαλούμενης από 3,4-βενζοπυρένιο. Τα δεδομένα αυτών των μελετών αναλύονται μαθηματικά με νέες μεθόδους στην ανά χειρας μεταπτυχιακή διατριβή με σκοπό την δημιουργία ενός μαθηματικού μοντέλου της χημικής καρκινογένεσης για περαιτέρω εξορθολογισμό και μαθηματικοποίηση της σχετικής έρευνας επί των αντικαρκινογόνων και εν γένει επί της ανάπτυξης μεθόδων αντιμετώπισης της νεοπλασματικής νόσου. Η επέκταση της μεταπτυχιακής

αυτής μελέτης ευελπιστούμε ότι θα συνεχιστεί ως διδακτορική διατριβή με σκοπό την εφαρμογή στην πρόληψη του καρκίνου στον ανθρώπινο πληθυσμό.

2.2 Στοιχεία για τον ποντικό NMRI

2.2.1 Ταξινόμηση και χρησιμότητα

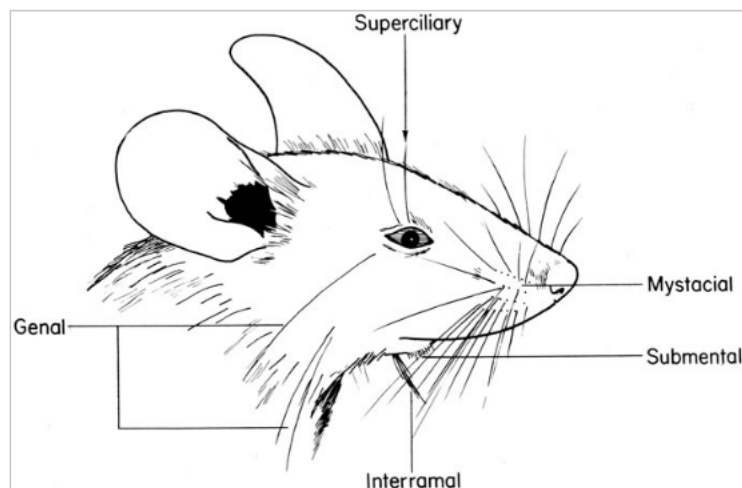
Ο ποντικός NMRI είναι ένα μικρό τρωκτικό θηλαστικό που ανήκει στο είδος *Mus musculus* και μπορεί να θεωρηθεί ότι ανήκει στο υποείδος *Mus musculus domesticus* και στην ποικιλία *Mus musculus domesticus albinus, varieta' NMRI*. Το ζώο αυτό είναι φυλογενετικώς συγγενές προς τα Πρωτεύοντα (Primates) στα οποία ανήκει ο Άνθρωπος ο έμφρων (*Homo sapiens*). Οπωσδήποτε ο μυς NMRI προέκυψε από σκόπιμες αναπαραγωγικές επιλογές ούτως ώστε να αποκτήσει ως πειραματόζωο εξειδικευμένα χαρακτηριστικά καταλληλότητας για την διεξαγωγή πειραμάτων κατάλληλων για την εκμείωση συμπερασμάτων επί των δράσεων ουσιών και άλλων επεμβατικών δράσεων προκειμένου να υπάρξει η δυνατότητα χρήσης τους στο ανθρώπινο είδος προς όφελος των βελτιώσεων της θεραπείας και πρόληψης νόσων των ανθρώπων. Δηλαδή η χρησιμότητα του εν λόγω ποντικού είναι ο τοξικολογικός και φαρμακολογικός πειραματισμός, και εν γένει μελέτες που αφορούν την παθοφυσιολογία με συμπεράσματα που μπορούν κατόπιν να προβληθούν στο ανθρώπινο είδος.

2.2.2 Εξωτερική μορφολογία

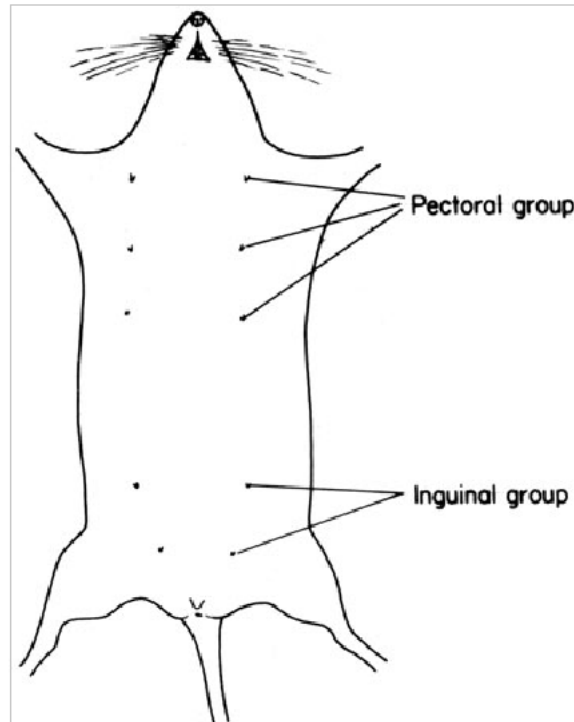
Η μορφολογία του σώματος του ποντικού NMRI φαίνεται στις τρεις παρακάτω εικόνες. Η μορφολογία του κατατάσσει το ζώο αυτό στην τάξη των Rodentia (τρωκτικά), στο είδος *Mus musculus*, στο υποείδος *Mus musculus domesticus varieta' albinus, NMRI*.



Σχήμα 2.1: Η εξωτερική όψη του *Mus musculus domesticus varietal albinus*, NMRI.



Σχήμα 2.2: Κεφαλή του *Mus musculus domesticus varietal albinus*, NMRI. Στοιχεία της κεφαλής: Superciliary άνω βλέφαρο, Mystacial μύστακες, Submental πώγων , γένιο Interramal γενειάδα



Σχήμα 2.3: Κοιλιακή όψη. Διακρίνονται οι θηλές : Pectoral group : θωρακική ομάδα θηλών Inguinal group : Κάτω κοιλιακή ομάδα θηλών.

2.2.3 Αντιστοιχία με τον άνθρωπο

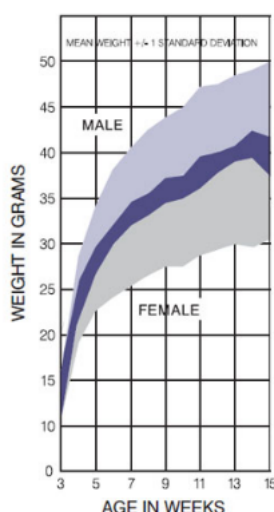
Υπάρχει πλήρης ανατομική αναλογία των οργάνων και των ιστών του ποντικού με τα όργανα του ανθρώπου, ανεξαρτήτως βεβαίως του μεγέθους και της μορφολογίας. Το ίδιο ισχύει επίσης με τις φυσιολογικές λειτουργίες τηρουμένων των αναλογιών μεταξύ του συγκεκριμένου ποντικού και του ανθρώπου. Μια γενική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών ειδών είναι:

1. Οι μεγαλύτεροι λειτουργικοί ρυθμοί του επίμυος (π.χ ταχυκαρδικό και ταχυπνοϊκό ζώο) οι οποίοι αφορούν όλες τις λειτουργίες αυτού. Είναι πιθανόν οι αυξημένοι αυτοί ρυθμοί να σχετίζονται και με το μικρό προσδόκιμο επιβίωσης που παρουσιάζουν τα εν λόγω μικρόσωμα τρωκτικά.
2. Η διάρκεια ζωής (προσδόκιμο επιβίωσης) γενικά του είδους *Mus musculus* είναι για τα μεν άγρια ζώα (wild type) τα οποία ζουν ελεύθερα στο περιβάλλον γύρω στους 12 μήνες, ενώ τα ζώα που διαβιούν σε συνθήκες αιχμαλωσίας ή εκτροφής παρουσιάζουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής που κυμαίνεται μεταξύ

ενός – δύο ετών. Το υποείδος NMRI είναι απόλυτα αναπτυγμένο με σκόπιμες διασταυρώσεις και επιλεγμένο από τον άνθρωπο, οπότε η μη γενετικά τροποποιημένες παραλλαγές του επιβιώνουν πάντα στο εσωτερικό εκτροφείων και η διάρκεια ζωής τους είναι επίσης από ενός έως δύο ετών.

Διμορφισμός ως προς το φύλο εν σχέσει με την ανάπτυξη του σώματος

Η ποικιλία ποντικών (μυών) NMRI εμφανίζει φυλετικό διμορφισμό, σε ό,τι αφορά το μέγεθος του σώματος και την διάρκεια ζωής. Ο άρρεν ποντικός αναπτύσσει σώμα μεγαλύτερων διαστάσεων και βάρους, ενώ ο θήλυς ποντικός έχει μικρότερες σωματικές διαστάσεις και μικρότερο βάρος. Το βάρος του ώριμου άρρενος (15 εβδομάδων ηλικίας από την γέννηση) κυμαίνεται μεταξύ 41 – 50 γραμμάρια αντιστοίχως στα μικρόσωμα και στα μεγαλόσωμα άτομα.



Σχήμα 2.4: Συσχέτιση βάρους με φύλο ποντικού

Ο ποντικός NMRI είναι ένα μικρό τρωκτικό θηλαστικό που ανήκει στο είδος *Mus musculus* και μπορεί να θεωρηθεί ότι ανήκει στο υποείδος *Mus musculus domesticus* και οπωσδήποτε προέκυψε από σκόπιμες αναπαραγωγικές επιλογές ούτως ώστε να αποκτήσει ως πειραματόζωο εξειδικευμένα χαρακτηριστικά καταλληλότητας για την διεξαγωγή πειραμάτων κατάλληλων για την εκμαίευση συμπερασμάτων επί των δράσεων ουσιών και άλλων επεμβατικών δράσεων προκειμένου να υπάρξει η δυνατότητα χρήσης τους στο ανθρώπινο είδος προς όφελος των βελτιώσεων

της θεραπείας και πρόληψης νόσων των ανθρώπων. Υπάρχει πλήρης ανατομική αντιστοιχία των οργάνων και των ιστών του ποντικού με τα όργανα του ανθρώπου, ανεξαρτήτως βεβαίως του μεγέθους και της μορφολογίας. Το ίδιο ισχύει επίσης με τις φυσιολογικές λειτουργίες τηρουμένων των αναλογιών μεταξύ του συγκεκριμένου ποντικού και του ανθρώπου. Μια γενική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών ειδών είναι[9]:

1. Οι μεγαλύτεροι λειτουργικοί ρυθμοί του επίμυος (π.χ ταχυκαρδικό και ταχυπνοϊκό ζώο) οι οποίοι αφορούν όλες τις λειτουργίες αυτού. Είναι πιθανόν οι αυξημένοι αυτοί ρυθμοί να αντικατοπτρίζουν έναν ταχύτερο ενεργειακό μεταβολισμό, ο οποίος είναι απαραίτητος διότι τα εν λόγω ζώα χάνουν εύκολα θερμότητα εκ του γεγονότος ότι είναι μικρόσωμα. Σημειωτέον ότι στον *Mus musculus* δεν έχουμε την παρουσία λίπους στον υποδόριο ιστό.
2. Το μέγεθος του σώματος και των οργάνων. Ο ποντικός μπορεί να φτάσει τα 40 – 50 γραμμ. ενώ ο άνθρωπος έχει ένα μέσο βάρος σώματος 70 kgr, δηλαδή μεγαλύτερο κατά 1550 περίπου φορές. Η διαφορά αυτή του μεγέθους συνοδεύει όλα τα όργανα του ανθρώπου και του μύος.
3. Οι κινήσεις, η νευρική αγωγιμότητα είναι πολύ ταχύτερες στον ποντικό από ό,τι στον άνθρωπο.
4. Οι κύησεις στον ποντικό είναι πολύδυμες (>4 – 8 εμβρύων ανά κύηση), ενώ στον άνθρωπο οι πολυδυμίες είναι σπάνια.

Μεταβολισμός

Ο μεταβολισμός των ποντικών NMRI έχει πολλές αναλογίες με αυτόν του ανθρώπου, ωστόσο το αναβολικό και το καταβολικό του σκέλος εμφανίζει μεγαλύτερες ταχύτητες με αποτέλεσμα τα ζώα αυτά να διαβιούν σε μια κατάσταση μεγάλης μεταβολικής ταχύτητας, πράγμα το οποίο ερμηνεύει τους ταχείς χρόνους αναπλήρωσης που εμφανίζουν οι μεταβολίτες τους όταν απομακρύνονται μέσω αιμοληψιών και γενικότερα τους μικρούς χρόνους επούλωσης τραυμάτων ή αναπλήρωσης του αίματος σε περιπτώσεις μαζικής απώλειας αυτού για λόγους πειραματικούς. Οι κιρκαδιανοί ρυθμοί ακολουθούν το πρότυπο της εποχιακής διαδοχής ημέρας και νύχτας, ωστόσο τα εν λόγω ζώα είναι συχνά ενεργά και κατά την περίοδο του σκότους.

Συμπεριφορά

Η συμπεριφορά των ποντικών NMRI σε λαβύρινθο Skinner χαρακτηρίζεται από αποφυγή του κινδύνου (Schwegler and Lipp, 1983)[10]. Αλλαγές της συμπεριφοράς τους με την πάροδο της ηλικίας παρατηρούνται δείχνοντας ότι τα ζώα έχουν ικανό βαθμό μάθησης (Lamberty and Gower 1992)[11]. Θεωρείται ότι οι συμπεριφορά τους είναι ένα μείγμα διαφόρων στερεοτύπων τα οποία υιοθετούνται ανάλογα με τις λειτουργικές ανάγκες του ζώου όπως επίσης και τις δράσεις συγκεκριμένων ουσιών.

Παράμετρος Βάρος	Μονάδα	Άρρενα 6 εβδομάδων	Άρρενα 12 εβδομάδων	Θήλεα 6 εβδομάδων	Θήλεα 12 εβδομάδων
Μέσος όρος ± SD	γραμμάρια (grams)	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD
Μέσος όρος Βάρος Σώματος	gr	29,9 ± 1,8	41 ± 1,6	23 ± 1,9	32,8 ± 2,7
Καρδιά	gr	0,167 ± 0,022	0,225 ± 0,038	0,127 ± 0,015	0,189 ± 0,030
Ήπαρ	gr	1,182 ± 0,174	2,027 ± 0,122	1,145 ± 0,126	1,443 ± 0,151
Πνεύμονες	gr	0,184 ± 0,016	0,220 ± 0,025	0,160 ± 0,009	0,203 ± 0,026
Νεφρός	gr	0,419 ± 0,042	0,575 ± 0,043	0,257 ± 0,027	0,363 ± 0,033
Παράμετρος Αιματολογικά	Αριθμός/ml	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD
Ερυθρά	10 ¹² /L	8,08 ± 0,25	8,36 ± 0,45	7,93 ± 0,33	8,8 ± 0,45
Αιμοπετάλια	10 ⁹ /L	1115 ± 166	1123 ± 284	864 ± 220	820 ± 127
Λευκοκύτταρα	10 ⁹ /L	6,3 ± 1,7	7,3 ± 3	6 ± 1,3	6,1 ± 2,5
Λευμοκύτταρα	%	85 ± 2,9	73,5 ± 11,4	81,7 ± 7,3	85 ± 4,9
Ουδετερόφιλα	%	9,5 ± 4,1	16,4 ± 13	6,9 ± 2,2	7,2 ± 1,3
Μονοκύτταρα	%	3,3 ± 3,4	7,5 ± 4,4	8 ± 6,4	4,8 ± 2,7
Ηωσινόφιλα	%	2 ± 1,6	2 ± 1,1	2,8 ± 2,7	3 ± 2,9
Βασεόφιλα	%	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Παράμετρος Βιοχημικά		Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD	Μέσος όρος ± SD
Νάτριο	mmol/L	148 ± 1	148 ± 2	148 ± 1	149 ± 1
Κάλιο	mmol/L	3,8 ± 1,1	3,8 ± 0,3	3,2 ± 0,2	3,7 ± 0,6

Ασβέστιο	mmol/L	2,59 ± 0,23	2,46 ± 0,04	2,62 ± 0,07	2,56 ± 0,05
Φωσφορικά	mmol/L	2,19 ± 0,14	1,5 ± 0,2	2,16 ± 0,1	1,31 ± 0,3
Ουρία	mmol/L	7,7 ± 0,7	9,4 ± 1,5	6,3 ± 0,9	6,7 ± 0,9
Κρεατινίνη	mmol/L	27 ± 2	28 ± 2	28 ± 2	32 ± 2
Χολερυθρίνη	mmol/L	<10	<10	<10	<10
Χοληστερίνη	mmol/L	4,3 ± 0,5	3,9 ± 0,5	3,2 ± 0,5	3,8 ± 0,5
Τριγλυκερίδια	mmol/L	1,7 ± 0,16	1,67 ± 0,22	1,46 ± 0,43	2,58 ± 1,16
Γλυκόζη	U/L	12,8 ± 1,3	11 ± 1,2	11,3 ± 1,2	11,4 ± 1,1
AP	U/L	193 ± 20	71 ± 13	211 ± 45	125 ± 24
ASAT	U/L	73 ± 21	76 ± 13	80 ± 19	82 ± 18
ALAT	U/L	40 ± 5	43 ± 15	38 ± 20	38 ± 5
LD	U/L	532 ± 130	568 ± 139	485 ± 62	518 ± 170
Αιμοσφαιρίνη	mmol/L	8,5 ± 0,2	8,3 ± 0,4	8,3 ± 0,3	8,9 ± 0,5
Αιματοκρίτης	%	46 ± 1	46 ± 1	45 ± 2	46 ± 2

Πίνακας 2.1: Πίνακας Παραμέτρων

Στον παραπάνω πίνακα φαίνονται μερικές χρήσιμες παράμετροι που χαρακτηρίζουν τα σωματομετρικά δεδομένα, τα αιματολογικά στοιχεία, όπως επίσης τις φυσιολογικές τιμές μερικών βιοχημικών μεταβλητών του ποντικού NMRI. Τα βάρη του σώματος, όπως επίσης και των αναφερόμενων σπλάχνων αντιστοιχούν στο νεαρό ζώο που έχει περατώσει φυσιολογικά την ανάπτυξή του και είναι ώριμο για αναπαραγωγή. Όλες οι τιμές των παραμέτρων που φαίνονται στον πίνακα αφορούν τα εν λόγω ζώα, υπό φυσιολογικές συνθήκες και υπό απουσία κακουχιών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

3.1 Πειραματόζωα

3.2 Πορεία του πειράματος

3.1 Πειραματόζωα

3.1.1 Τύπος – ποικιλία - ομογενοποίηση

Για την πραγματοποίηση των εν λόγω πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν 260 πειραματόζωα του μυός NMRI (Naval Medical Research Institute). Ειδικά για τα συγκεκριμένα πειράματα επιλέχθηκαν τα θήλεα ζώα, σύμφωνα με το ακολουθούμενο μοντέλο (Kallistratos and Fasske, 1980) [12]. Τέσσερα ζεύγη ποντικών NMRI ελήφθησαν από το Εκτροφείο Πειραματοζώων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και εγκαταστάθηκαν σε κατάλληλο χώρο του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας, ο οποίος είχε προδιαγραφεί έτσι ώστε να λειτουργεί ως εκτροφείο μικρών πειραματοζώων, υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες. Από τα εν λόγω τέσσερα ζεύγη ζώων προέκυψε, μέσω κατάλληλων διασταυρώσεων, αιμομικτικού χαρακτήρα, όλος ο πληθυσμός των ποντικών NMRI, που χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων μας. Τα προκύψαντα πειραματόζωα ήσαν ομοιογενή από την πλευρά της γενετικής τους δομής, και συνεπώς ο εν λόγω πληθυσμός παρουσίαζε μεγάλη ομοιομορφία ως προς το προσδόκιμο επιβίωσης (διάρκεια ζωής), την αυθόρμητη παθολογία, τις αιτίες θανάτου, τα σωματικά μεγέθη (μήκος – βάρος), το

μέγεθος των οργάνων, τις βιοχημικές παραμέτρους, τις αιματολογικές παραμέτρους και εν τα εν γένει βιολογικά χαρακτηριστικά των ποντικών. Συνεπώς χρησιμοποιήσαμε έναν γενετικά ομοιόμορφο πληθυσμό που εμφάνιζε όμοιες αντιδράσεις στον μεταβολισμό του χημικού καρκινογόνου.[13]

3.1.2 Τοποθέτηση των ζώων και φροντίδα αυτών

Τα ποντικοί NMRI, μετά την γέννηση και τον απογαλακτισμό τους, τοποθετούντο σε μεγάλους κλωβούς που περιείχαν συνολικά δέκα άτομα εξ αυτών, πάντα του ιδίου φύλου (άρρενα ή θήλεα). Τα νεαρά ζώα εκτρεφόταν σε αυτούς τους μεγάλους κλωβούς των δέκα ατόμων μέχρις ότου κλείσουν την ηλικία των 60 ημερών. Τα ζώα που χρησιμοποιούνται για τον εκάστοτε πειραματισμό ήταν της αυτής ηλικίας (ημερομηνίες γέννησης περιλαμβανόμενες σε χρονικό διάστημα λίγων ημερών). Οι ποντικοί NMRI ζυγίζονταν και ανά τρία άτομα του ιδίου φύλου τοποθετούνταν σε κλωβούς από πλεξιγκλάς μεγεθών 40 cm x 30 cm x 15 cm. Οι κλωβοί εντός των οποίων διέμεναν τα πειραματόζωα περιείχαν στο εσωτερικό τους μια στρωμνή από αδρά ροκανίδια με υψηλή απορροφητική ικανότητα ώστε τα απεκκρινόμενα ούρα να μην δημιουργούν στρώμα υγρασίας. Η αλλαγή της στρωμνής των πειραματόζωων γινόταν ανά τέσσερες ημέρες. Η πλύση κάθε κλωβού και η θερμική του απολύμανση γινόταν μία φορά ανά δύο εβδομάδες. Οι κλωβοί καλυπτόταν από μεταλλική γρίλια αποτελούμενη από κυλινδρικούς ανοξείδωτους χαλύβδινους ράβδους διαμέτρου 3 mm, με διάκενα μεταξύ τους ίσα προς 9 mm, ώστε να μην είναι δυνατή η έξοδος του ζώου από τον κλωβό. Επίσης η γρίλια του κλωβού περιείχε κατάλληλη εκβάθυνση στην οποία τοποθετούταν η τροφή τους, υπό την μορφή συμπιεσμένων ξηρών βόλων. Τα ζώα μπορούσαν να παίρνουν την τροφή τους, δαγκώνοντας και τραβώντας με τα άνω άκρα και τις σιαγόνες τους τον κάθε βόλο. Η τροφή κάθε τριμελούς κλωβού ζυγίζονταν πριν την τοποθέτησή της και μετά από τρεις ημέρες ζυγίζονταν εκ νέου και καταγραφόταν η κατανάλωση της. Επίσης γινόταν συμπλήρωση της ώστε ανά τρεις ημέρες να υπάρχει σταθερό στοκ βάρους 200 γραμμαρίων βρώσιμων βόλων ανά κλωβό. Η ημερήσια κατανάλωση ανά πειραματόζωο ήταν περί τα 10±0,5 gr. Το καταναλισκόμενο ύδωρ λαμβανόταν από τον αστρικό αγωγό υδροδότησης και προστίθετο ελάχιστη ποσότητα αιθανολικού διαλύματος θυμόλης ώστε να μην δημιουργούνται αποικίες μικροβίων στην φιάλη του ύδατος. Σε κάθε κλωβό τοποθετούνταν δύο θήλαστρα με ύδωρ, ώστε να μην υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ των

ζώων για την λήψη ύδατος. Η ημερήσια κατανάλωση νερού ανά πειραματόζωο ήταν ίση προς $18 \pm 0,9$ ml/ημέρα. Γινόταν ζύγιση των ζώων ανά εβδομάδα και έλεγχος του σώματός τους οπτικά και διά ψηλάφησης. Επίσης στην έναρξη του πειράματος έγινε αιμοληψία για αιματολογικούς και βιοχημικούς ελέγχους. Αιμοληψία έγινε επίσης σε μεγάλη ηλικία (6 μηνών) για επανάληψη του αιματολογικού και βιοχημικού ελέγχου. Η αιμοληψία έγινε με ήπιο τρόπο και η ποσότητα αίματος ήταν πολύ μικρή, ώστε να μην διαταραχθεί η κυκλοφορική ισορροπία του κάθε ζώου, ούτε αυτό να υποστεί ισχυρό stress.

3.1.3 Χειρουργικοί χειρισμοί

Για την χορήγηση του καρκινογόνου ακολουθήσαμε το εξής πρωτόκολλο : Η χορήγηση του καρκινογόνου στα πειραματόζωα γινόταν χειρουργικά, υπό αναισθησία. Η αναισθητοποίηση του ζώου γινόταν μέσω ενδοπεριτοναϊκής, εφ' άπαξ, χορήγησης ενός ηρεμιστικού (μιδαζολάμη 3 mgr/kg b.w) και ενός αναισθητικού (κεταμίνη 3 mgr/kg b.w). Εφ' όσον το πειραματόζωο είχε αναισθητοποιηθεί γινόταν τοπική αντισηψία με βάμμα ιωδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου (οξυζενέ) και κατόπιν μικρή τομή ολικού πάχους δέρματος, ώστε να αποκαλυφθούν οι υποκείμενες μυϊκές μάζες στην περιοχή της δεξιάς ωμοπλάτης. Εν συνεχεία ενιόταν σταθερή ποσότητα 3,4-βενζοπυρενίου (2,52 mgr/ml), διαλυμένου σε τρικαπριλίνη, σε τρόπο ώστε να εισαχθεί κάτω από την μυϊκή περιτοναία εξ ολοκλήρου. Κατόπιν γινόταν πολύ βραδεία απόσυρση της βελόνας, ώστε να μην εκδιωχθεί προς τα έξω το ενεθέν διάλυμα του καρκινογόνου, αλλά να διαχυθεί στην περιοχή των ραχιαίων μυών της ωμοπλάτης. Η τομή συρράπτετο ταχέως και στεγανοποιείτο ισχυρώς ώστε να μην υπάρχει διαρροή του καρκινογόνου διαλύματος εκτός του σώματος του ζώου. Μετά την χορήγηση του καρκινογόνου το πειραματόζωο ετίθετο μονήρες σε κλωβό, υπό παρακολούθηση, προκειμένου να ανανήψει πλήρως. Μετά την ανάνηψη του τοποθετείτο ξανά στον κλωβό από τον οποίον είχε ληφθεί.

3.1.4 Παρακολούθηση των πειραματοζώων

Η παρακολούθηση των πειραματοζώων γινόταν τρεις φορές την ημέρα καθημερινά. Το πρωί στις 8 π.μ, το μεσημέρι στις 16:00 και το βράδυ στις 20:00. Τα πειραματόζωα επιβλεπόταν ένα προς ένα στους κλωβούς τους. Κάθε πειραματόζωο είχε ένα διακριτικό σημείο στην ουρά του, προκειμένου να γνωρίζουμε ποια είναι η ταυ-

τότητά του ως κωδικός αριθμός. Το σύστημα κωδικοποίησης των πειραματοζώων περιλάμβανε τον αριθμό του κλωβού και τον αριθμό του ζώου προς παρακολούθηση. Ο αριθμός του ζώου σημειωνόταν με τον σχεδιασμό ενός κύκλου στην ουρά (αριθμός 1), δύο κύκλων (αριθμός 2), ενώ το τρίτο ζώο δεν έφερε κανένα σημείο, πράγμα που αντιστοιχούσε στον αριθμό 3. Π.χ για τον κλωβό K1 οι κωδικοί των ζώων του ήσαν KZ1, KZ2, KZ3, που σήμαινε αντίστοιχα «Κλωβός 1 – ζώο 1ο, Κλωβός 1 – ζώο 2, Κλωβός 1 – ζώο 3, ενώ για τον κλωβό K2, οι κωδικοί ήσαν K2Z1, K2Z2, K2Z3. Το ίδιο για τους υπόλοιπους κλωβούς.

3.2 Πορεία του πειράματος

3.2.1 Εξέταση των ζώων

Τα πειραματόζωα σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές, από την χορήγηση του καρκινογόνου, αναισθητοποιούνταν και πραγματοποιούσαμε υπερηχογραφικό τομογραφικό έλεγχο της περιοχής της ωμοπλάτης με δυνατότητα υπολογισμού του μεγέθους ενός όγκου και της αναγωγής του σε μονάδες βάρους (mgr, gr). Όταν το μέγεθος του όγκου αυξανόταν σημαντικά και η κατάσταση του πειραματόζωου επιβαρυνόταν, τότε γινόταν αλλαγή κλωβού λίγο πριν τον επικείμενο θάνατο, ώστε να μην κανιβαλιστεί το πτώμα, από τα άλλα ζώα που συγκατοικούσαν στον κλωβό. Με την επέλευση του θανάτου γινόταν ζύγιση και νεκροτομή. Ο όγκος παρασκευαζόταν ώστε να αφαιρεθεί πλήρως, ενώ όλα τα εσωτερικά όργανα αφαιρούνταν, ζυγίζονται, παρατηρούνταν με μεγεθυντικό φακό ή στερεοσκόπιο, και φωτογραφιζόταν. Ο όγκος και τα όργανα τυλιγόταν σε ένα τμήμα απορροφητικού χάρτου και κατόπιν τοποθετούνταν σε διάλυμα φορμαλδεΰδης 8 τοις εκατό, προκειμένου να μονιμοποιηθούν και κατόπιν να φτιαχτούν παρασκευάσματα διαφόρων τομών για μικροσκοπική ιστοπαθολογική διάγνωση. Η μικροσκόπηση και η ιστοπαθολογική διάγνωση, όπως επίσης η καταγραφή των μεταστάσεων, γινόταν με λεπτομερή μικροσκοπική παρατήρηση από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο. Η επισκόπηση του πτώματος και οι τομές ήσαν σταθερές ώστε να μπορούν να συγκριθούν μεταξύ τους, ως προς την ένταση και την έκταση της νεοπλασματικής νόσου. Η παθολογοανατομική μελέτη και ο χαρακτηρισμός των βιολογικών ευρημάτων (πρωτοπαθής όγκος, μέγεθος, βάρος αυτού, υφή, δομή, μεταστάσεις) ήσαν κρίσιμης σημασίας για τον έλεγχο της

αποτελεσματικότητας των αντικαρκινογόνων ουσιών.

Στην ανά χειράς μελέτη οι κρίσιμες παράμετροι που ελήφθησαν υπ όψιν ήσαν :

1. Η ανάπτυξη ή όχι κακοήθους όγκου.
2. Το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου.
3. Ο ρυθμός ανάπτυξης του πρωτοπαθούς όγκου.

Η ποσότητα της αντικαρκινογόνου ουσίας που επωαζόταν με συγκεκριμένη ποσότητα βενζοπυρενίου και προκαλούσε συγκεκριμένα επίπεδα αναστολής, ήταν μια παράμετρος που ελήφθη υπ' όψιν, προκειμένου να βρεθεί αιτιακή συσχέτιση αναστολής με γνώμονα την σχέση βαρών καρκινογόνου και αντικαρκινογόνου (αναστέλλουσα ουσία).

3.2.2 Ομάδες πειραματοζώων

Η χημική καρκινογένεση με το 3,4-βενζοπυρένιο πραγματοποιήθηκε με το εξής πρωτόκολλο : Ποσότητα 3,4-βενζοπυρενίου ίση προς 2,52 mgr διαλυόταν σε 0,5 ml τρικαπριλίνης. Η εν λόγω ποσότητα προκαλούσε καρκινογένεση στο 100 τοις εκατό των πειραματοζώων. Τα πειραματόζωα (μύες NMRI) ανέπτυσαν όγκο μέσα σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα μικρότερο των 60 ημερών. Σε αρκετές περιπτώσεις υπήρξαν κακοήγη μορφώματα σε χρόνο 20 ημερών από την έγχυση του βενζοπυρενίου. Οι όγκοι, μετά την εμφάνισή τους, αναπτυσσόταν ραγδαία, και μετά την προσέγγιση ενός οριακού μεγέθους προκαλούσαν τον θάνατο του ασθενούς ποντικού. Το χρονικό διάστημα όπου απέθνησκε το σύνολο των ζώων κυμαινόταν από 120 ημέρες έως 190 ημέρες – εξαιρουμένων ελάχιστων (δύο) περιπτώσεων. Το μοντέλο αυτό επιβεβαιώθηκε σε μεγάλους αριθμούς ζώων (συνολικά 6.000), ωστόσο εδώ χρησιμοποιούμε έναν αριθμό 50 ζώων ως ομάδα ελέγχου. Βάσει αυτών των δεδομένων τα πειράματα σχεδιάστηκαν ως εξής :

1. Ως διαλύτης του 3,4-βενζοπυρενίου χρησιμοποιήθηκε η τρικαπριλίνη. Ο όγκος διασποράς του διαλύτη ήταν μικρός (2,52 mgr διαλυόμενα σε 0,5 – 1,0 ml τρικαπριλίνης.
2. Το διάλυμα του 3,4-βενζοπυρενίου στην τρικαπριλίνη παρέμενε σε ένα ποτήρι ζέσεως στεγανό επί 12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (20°C) σε εν λειτουργία απαγωγό εστία χημικής προστασίας και κατόπιν αναρροφείτο με γυάλινη

σύριγγα και ενιόταν στο πειραματόζωο υπό νάρκωση, όπως περιγράψαμε ανωτέρω.

3. Η προετοιμασία της εξουδετέρωσης του 3,4 – βενζοπυρενίου (συντομογραφικά B[a]P) γινόταν ως εξής : ποσότητα 2,52 mgr B[a]P (και ακέραια πολλαπλάσιά της, ίσα με τον εκάστοτε χρησιμοποιούμενο αριθμό πειραματόζωων, που επιλεγόταν ως απαραίτητα για την στατιστική αξιοπιστία κάθε πειραματισμού), ετίθετο με συγκεκριμένη ποσότητα της ουσίας, της οποίας μελετούσαμε την ενδεχόμενη αντικαρκινογόνα δράση της. Οι ποσότητες του καρκινογόνου και του αντικαρκινογόνου διαλυόταν επιμελώς σε γυάλινο ποτήριο ζέσεως και γινόταν μαγνητική ανάδευση επί δωδεκάωρο (over night), υπό κανονικές συνθήκες (θερμοκρασία 20°C, δωδεκάωρη φωτοπερίοδος, φωτισμός ηλιακού φωτός, καθαρή ατμόσφαιρα απουσία οξειδωτικών και διαβρωτικών ατμιζόντων ουσιών και διαλυτών). Το ποτήριο ζέσεως ήταν αεροστεγώς πωματισμένο και μη ατμίζον, καθ όλη την διάρκεια του πειραματισμού, για την προστασία του προσωπικού και την μη ρύπανση των πειραματικών χώρων. Η επιμελής ανάμιξη και ανάδευση του καρκινογόνου με το υπό μελέτη αντικαρκινογόνο ήταν δυνατόν να δημιουργήσει αντιδράσεις μεταξύ αυτών ώστε η καρκινογόνος ισχύς του B[a]P να μειωθεί. Αυτό ήταν αναμενόμενο, αλλά πειράματα χημικού χαρακτήρα – που δεν περιλαμβάνονται στο ανά χείρας κείμενο – έδειξαν ότι δεν υπήρχαν τέτοιου είδους ποσοτικές αντιδράσεις ικανές να αποικοδομήσουν χημικά το 3,4-βενζοπυρένιο. Οπότε μπορούμε να θεωρήσουμε ότι το μείγμα των δύο ουσιών (βενζοπυρένιο + μελετούμενο αντικαρκινογόνο) λειτουργούσε σε βιολογικό επίπεδο στο εσωτερικό του πειραματόζωου, μετά την χειρουργική έγχυση του μείγματός τους

Διευκρινίζουμε ότι στην παρούσα μελέτη ερευνήσαμε αντικαρκινογόνες δράσεις και όχι δράσεις αντικαρκινικές. Ως αντικαρκινογόνες ονομάζονται οι δράσεις εκείνες οι οποίες αναστέλλουν την καρκινογένεση. Αντιθέτως ως αντικαρκινικές θεωρούνται οι δράσεις εκείνες οι οποίες καταστέλλουν ή αναστέλλουν την κακοήγη νεοπλασματική νόσο. Ο όρος «καρκίνος» είναι εσφαλμένα γενικευμένος διότι ως καρκίνοι θεωρούνται τα κακοήγη νεοπλάσματα που προκύπτουν από επιθηλιακούς ιστούς, ενώ τα κακοήγη νεοπλάσματα τα προκύπτοντα από μεσεγχυματικούς ιστούς ονομάζονται «σαρκώματα».

Οι ομάδες που χρησιμοποιήθηκαν για την εν λόγω μελέτη ήσαν οι εξής :

1. Ομάδα Ελέγχου

Η ομάδα ελέγχου αποτελείτο από πενήντα (50) μύες NMRI. Η ομάδα αυτή ήταν κοινή για όλες τις λοιπές πειραματικές ομάδες. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν 2,52 mgr B[a]P (συνολικά 126 mgr για τους 50 μύες). Στην εν λόγω ομάδα ενέθηκε η δόση του B[a]P, με την χειρουργική μέθοδο που προαναφέραμε. Τα ζώα παρακολουθούντο όπως περιγράψαμε ανωτέρω μέχρι τον θάνατό τους και αμέσως κατόπιν ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, μακροσκοπική επισκόπηση, ζύγιση του νεοπλάσματος και των σπλάχνων κάθε ζώου, μονιμοποίηση και ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των οργάνων τους (έλεγχος μεταστάσεων).

2. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω αιθυλενοδιαμίνης (ETHDMN-1)

Η ομάδα αυτή αποτελείτο από τριάντα δύο μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο 10 mgr ETHDMN-1 ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας (μέχρι τέταρτου δεκαδικού ψηφίου του χιλιοστογραμμαρίου - mgr), διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 320 mgr αιθυλενοδιαμίνης και 80,64 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 32 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο όπως περιγράψαμε ανωτέρω μέχρι τον θάνατό τους και αμέσως κατόπιν ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλάσματος και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των οργάνων τους (έλεγχος μεταστάσεων).

3. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω κανταβερίνης (CDVRN-2)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε πενήντα (50) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο 10 mgr κανταβερίνης (πτωμαΐνης, CDVRN-2) ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας (μέχρι τέταρτου δεκαδικού ψηφίου του χιλιοστογραμμαρίου - mgr), διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 500 mgr κανταβερίνης και 126 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 50 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1

ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και αμέσως κατόπιν ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλάσματος και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των οργάνων τους (έλεγχος μεταστάσεων).

4. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω πουτρεσκίνης (PTRSCN-3)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε σαράντα (40) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο 10 mgr πουτρεσκίνης (PTRSCN-3) ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας (μέχρι τέταρτου δεκαδικού ψηφίου του χιλιοστογραμμαρίου - mgr), διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 400 mgr πουτρεσκίνης και 100,8 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 40 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε, ad arte medica, 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και αμέσως κατόπιν ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση του νεοπλασματικού όγκου, εκτομή όλων των σπλάχνων ζύγιση του νεοπλάσματος και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και μικροσκοπική ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των οργάνων τους (έλεγχος μεταστάσεων).

5. Ομάδα βισμούθειόλης-I (Bismuthiol-I)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε τριάντα (30) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας 10 mgr βισμούθειόλης-I, διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 300 mgr βισμούθειόλης-I και 75,6 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 30 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και όταν αυτός επήλθε, αμέσως ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν,

έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλασματικού όγκου καθώς και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και ιστολογική διάγνωση τομών του νεοπλάσματος και των εσωτερικών οργάνων του κάθε πειραματόζωου (έλεγχος μεταστάσεων).

6. Ομάδα L-κυστεΐνης (L-Cystein)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε τριάντα (30) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας 10 mgr L-κυστεΐνης, διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 300 mgr L-κυστεΐνης και 75,6 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 30 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον *ad arte medica* χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και όταν αυτός επήλθε, αμέσως ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλασματικού όγκου καθώς και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και ιστολογική διάγνωση τομών του νεοπλάσματος και των εσωτερικών οργάνων του κάθε πειραματόζωου (έλεγχος μεταστάσεων).

7. Ομάδα αιθυλικού εστέρος της L-κυστεΐνης (L-Cystein-Ethylester)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε είκοσι οχτώ (28) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας 10 mgr αιθυλικού εστέρα της L-κυστεΐνης, διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 280 mgr αιθυλικού εστέρα της L-κυστεΐνης και 70,56 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 28 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον *ad arte medica* χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και όταν αυτός επήλθε, αμέσως ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλασματικού όγκου καθώς και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και, στο μικροσκόπιο, ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των εσωτερικών οργάνων του κάθε πειραματόζωου (έλεγχος μεταστάσεων).

8. Ομάδα μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (Mercaptosuccinic Acid)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε τριάντα (30) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας 10 mgr μερκαπτοηλεκτρικού οξέος, διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 300 mgr μερκαπτοηλεκτρικού οξέος και 75,6 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 30 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον *ad arte medica* χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως ήδη περιγράψαμε, μέχρι τον θάνατό τους και όταν αυτός επήλθε, αμέσως ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλασματικού όγκου καθώς και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και, στο μικροσκόπιο, ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των εσωτερικών οργάνων του κάθε πειραματόζωου (έλεγχος μεταστάσεων).

9. Ομάδα διθειοθρεϊτόλης (Dithiothreitol)

Η ομάδα αυτή περιλάμβανε τριάντα (30) μύες NMRI. Για κάθε πειραματόζωο ζυγίστηκαν με ζυγό ακριβείας 10 mgr διθειοθρεϊτόλης, διαλύθηκαν σε τρικαπριλίνη μαζί με 2,52 mgr B[a]P και επώαστηκαν επί 12 ώρες, όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Η διάλυση για κάθε πειραματόζωο έγινε σε 1 ml τρικαπριλίνης. Συνολικά ζυγίσαμε 300 mgr διθειοθρεϊτόλης και 75, 6 mgr B[a]P, τα οποία διαλύθηκαν σε 30 ml τρικαπριλίνης. Μετά την επώαση ενέθηκε 1 ml διαλύματος σε κάθε πειραματόζωο, με τον *ad arte medica* χειρουργικό τρόπο που περιγράψαμε ανωτέρω. Τα ζώα παρακολουθούντο, όπως περιγράψαμε ανωτέρω, μέχρι τον θάνατό τους και όταν αυτός επήλθε, αμέσως ζυγίστηκαν, νεκροτομήθηκαν, έγινε απομόνωση, ζύγιση του νεοπλασματικού όγκου καθώς και των σπλάχνων κάθε ζώου, μακροσκοπική επισκόπηση όγκου και σπλάχνων, μονιμοποίηση και, στο μικροσκόπιο, ιστολογική διάγνωση επιλεγμένων τομών του νεοπλάσματος και των εσωτερικών οργάνων του κάθε πειραματόζωου (έλεγχος μεταστάσεων).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ

Τα βιολογικά αποτελέσματα τα οποία εντάχθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη, είτε ως παλαιότερα, είτε ως de novo δεδομένα, ήσαν τα εξής :

1. Χημική καρκινογένεση στην ομάδα των μαρτύρων

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Το 100% των πειραματόζων (50 θήλεις ποντικοί NMRI) αναπτύσσουν κακοήγη όγκο και αποθνήσκουν από τις συνέπειες της νεοπλασματικής νόσου σε χρονικό διάστημα μικρότερο του ενός έτους. Συνεπώς η αναστολή της καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιο είναι μηδενική και η χημική καρκινογένεση είναι πλήρης, οδηγώντας όλα τα ζώα στον θάνατο από κακοήγη νεοπλασματική νόσο.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Οι ποντικοί, μετά την έγχυση του καρκινογόνου επιβιώνουν κατά μέσο όρο για την ομάδα ελέγχου $148,58 \pm 34,09$ ημέρες. Ο ελάχιστος χρόνος επιβίωσης μετά την χορήγηση του βενζοπυρένιου είναι 96 ημέρες, ενώ ο μέγιστος χρόνος επιβίωσης είναι 315 ημέρες.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

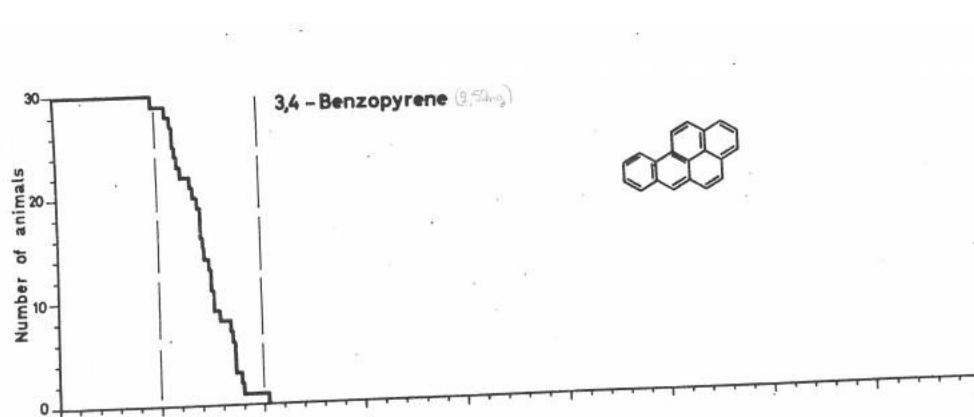
Οι αναπτυχθέντες κακοήθεις όγκοι παρουσιάζουν μέσο βάρος ίσο προς $8,077 \pm 2,46$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Οι ποντικοί NMRI κατά την στιγμή του θανάτου τους εμφανίζουν μέσο βάρος σώματος ίσο προς $37,516 \pm 2,13$ γραμμάρια, συμπεριλαμβανομένου του κακοήθους όγκου στο συνολικό βάρος του σώματος.

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το μέσο βάρος των όγκων, εκφραζόμενο ως εκατοστιαίο ποσοστό επί του συνολικού βάρους του σώματος των ζώων είναι ίσο προς $29,7 \pm 0,87\%$. Δηλαδή το μέγεθος των όγκων αποτελεί προσεγγιστικά κατά μέσον όρο το 30% της σωματικής μάζας κατά την επιθανάτια στιγμή.



Σχήμα 4.1: Καρκινογόνα δράση 3,4-βενζοπυρένιου. Η υποδόρια ένεση 2,52 mgr B[a]P διαλυμένου σε 0,5 ml τρικαπριλίνης, σε πενήντα ποντικούς, προκαλεί σε όλους δημιουργία κακοήθων όγκων (χημική καρκινογένεση 100% στην συνολική ομάδα των πειραματόζων).

2. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr αιθυλενοδιαμίνης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω αιθυλενοδιαμίνης).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η αιθυλενοδιαμίνη είχαμε μεγάλη αναστολή της καρκινογόνου δράσης του

B[a]P. Επί μιας ομάδας 32 ποντικών NMRI ανέπτυξαν όγκους μόνον δύο εξ αυτών, δηλαδή μόνο το 6,25%. Στο μοντέλο αναστολής της καρκινογόνου δράσης του B[a]P με αιθυλενοδιαμίνη έχουμε αναστολή ίση προς 93,75%. Συνεπώς η αιθυλενοδιαμίνη λειτουργεί ως ένας πολύ ισχυρός αντικαρκινογόνος παράγοντας.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Οι ποντικοί, μετά την έγχυση του κοκτέιλ B[a]P – αιθυλενοδιαμίνης επιβιώνουν κατά μέσο όρο 348,161 ημέρες. Ωστόσο τα δύο ζώα που αναπτύσσουν όγκο επιβιώνουν 128 και 147 ημέρες. Τα υπόλοιπα αποθνήσκουν χωρίς να εμφανίσουν στοιχεία ανάπτυξης όγκων. Τα 30 ζώα δεν αναπτύσσουν όγκο καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους. Η ελάχιστη διάρκεια ζωής που σημειώνεται είναι 128 ημέρες – και ο θάνατος επέρχεται λόγω κακοήθους όγκου. Η μέγιστη διάρκεια ζωής είναι 860 ημέρες και ο θάνατος επέρχεται λόγω γήρατος.

- Βάρος όγκων επιθανάτιως:

Οι αναπτυχθέντες κακοήθεις όγκοι παρουσιάζουν μέσο βάρος ίσο προς $6,38 \pm 0,59$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανάτιως:

I Οι καρκινοπαθείς ποντικοί NMRI κατά την στιγμή του θανάτου τους εμφανίζουν μέσο βάρος σώματος ίσο προς $38 \pm 1,41$ γραμμάρια, συμπεριλαμβανομένου του κακοήθους όγκου στο συνολικό βάρος του σώματος. Δεδομένου ότι οι κακοήθεις όγκοι έχουν μέσο βάρος ίσο προς $6,38 \pm 0,59$, αυτό σημαίνει ότι το χωρίς κακοήγη όγκο βάρος σώματος των ποντικών είναι μικρότερο από το συνολικό βάρος και συγκεκριμένα για τον με πρώτο ζώο είναι ίσο προς $39 - 6,8 = 32,2$ γραμμάρια, ενώ για το δεύτερο ζώο είναι ίσο προς $37 - 5,96 = 31,04$ γραμμάρια. Ο μέσος όρος των επιθανάτιων σωματικών βαρών των δύο καρκινοπαθών ζώων, μετά την πλήρη εκτομή του κακοήθους όγκου, είναι ίσος προς 31,62 γραμμάρια. Το βάρος αυτό είναι σαφώς μικρότερο από τα 38,9 γραμμάρια του μέσου βάρους των ζώων. Συνεπώς τα ζώα που αποθνήσκουν για άλλες αιτίες (ή λόγω γήρατος) διατηρούν το σωματικό τους βάρος ενώ τα καρκινοπαθή ζώα απισχνούνται. Η βιολογία που χάνεται από τους φυσιολογικούς ιστούς πηγαίνει στο βάρος

του κακοήθους όγκου. Συνεπώς ο όγκος λειτουργεί ως «μεταβολικό παράσιτο» που τρέφεται από την ωφέλιμη βιομάζα του ζώου του πάσχοντος από κακοήγη νεοπλασματική νόσο. Πράγματι η διαφορά $38 - 6,38 = 31,62$ γραμμάρια, δηλαδή η διαφορά του μέσου όρου βάρους επιθανάτιου σώματος των καρκινοπαθών ζώων μείον το μέσο βάρος των δύο όγκων είναι ίση προς 31,62 γραμμάρια, που αποτελεί και το μέσο επιθανάτιο βάρος των ζώων αμέσως μετά την πλήρη εκτομή νεκροτομικώς των όγκων.

II Οι μη καρκινοπαθείς ποντικοί NMRI (οι αποθνήσκοντες για άλλες αιτίες πλην της νεοπλασματικής κακοήθους νόσου) εμφανίζουν επιθανάτιο σωματικό βάρος ίσο προς $38,9 \pm 2,02$ γραμμάρια.

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό του όγκου στο ολικό βάρος επιθανάτιο βάρος του ζώου είναι για το μεν πρώτο καρκινοπαθές ζώο ίσο προς 16,6%, για το δε δεύτερο είναι ίσο προς 15,1%.

3. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr πουτρεσκίνης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω πουτρεσκίνης ή (B[a]P + PTRSCN-3).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η πολυαμίνη πουτρεσκίνη είχαμε μεγάλη αναστολή της καρκινογόνος δράσης του B[a]P. Επί μιας ομάδας 40 ποντικών NMRI ανέπτυξαν όγκους μόνον δύο εξ αυτών, δηλαδή μόνο το 5%. Στο μοντέλο αναστολής της καρκινογόνου δράσης του B[a]P με πουτρεσκίνη έχουμε αναστολή ίση προς 95%. Συνεπώς η πουτρεσκίνη λειτουργεί ως ένας πολύ ισχυρός αντικαρκινογόνος παράγοντας.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Οι ποντικοί, μετά την έγχυση του κοκτέιλ B[a]P – πουτρεσκίνης επιβιώνουν κατά μέσο όρο 464,68, ημέρες. Για την ακρίβεια η καταγραφείσα μέση επιβίωση του πληθυσμιακού δείγματος των 40 ποντικών NMRI είναι ίση προς $464,68 \pm 178,45$ ημέρες. Οι θάνατοι που σημειώθηκαν την 4η

και 9η ημέρα δεν θεωρείται ότι σχετίστηκαν με την δράση του B[a]P αλλά την κακουχία των δύο ζώων, λόγω των αναισθησιολογικών και χειρουργικών χειρισμών. Ενδεχομένως και μιας επιδημίας που αναπτύχθηκε στο πειραματικό εκτροφείο, σημειώνοντας θανατηφόρα κρούσματα και σε άλλους θαλάμους όπου σταυλιζόταν ζώα διαφορετικών πειραμάτων. Πέραν αυτών των δύο αρχικών θανάτων – λόγω χειρουργικού & αναισθησιολογικού χειρισμού, η ελάχιστη μακροπρόθεσμη επιβίωση ζώου διήρκησε 120 ημέρες. Τα δύο ζώα που αναπτύσσουν όγκο επιβιώνουν 3 62 και 562 ημέρες. Τα υπόλοιπα αποθνήσκουν χωρίς να εμφανίσουν στοιχεία ανάπτυξης όγκων. 37 ζώα δεν αναπτύσσουν όγκο καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους. Η ελάχιστη διάρκεια ζωής που σημειώνεται είναι, συνεπώς 120 ημέρες – και ο θάνατος επέρχεται για μη ογκολογικές αιτίες. Η μέγιστη διάρκεια ζωής είναι 880 ημέρες και ο θάνατος επέρχεται λόγω γήρατος. Η αναστολή της χημικής καρκινογένεσης στα 38 επιβιώσαντα ζώα είναι ίση προς 94,73% και το ποσοστό καρκινογένεσης είναι συρρικνωμένο στο 5,26%. Είναι σαφές ότι η πουτρεσκίνη έχει ισχυρή αντικαρκινογόνο δράση.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

Οι αναπτυχθέντες κακοήθεις όγκοι επιθανατίως παρουσιάζουν μέσο βάρος ίσο προς $6,239 \pm 0,33$ γραμμάρια. Ο πρώτος όγκος έχει βάρος 6, 478 και ο δεύτερος 2 γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Το μέσο βάρος των δύο καρκινοπαθών ζώων είναι ίσο προς $39,5 \pm 2,12$ γραμμάρια (41 και 38 γραμμάρια αντιστοίχως των δύο πειραματόζωων που ανέπτυξαν όγκους). Το μέσο επιθανάτιο βάρος των ζώων που κατέληξαν χωρίς να αναπτύξουν όγκους ήταν $37,44 \pm 1,73$ γραμμάρια. Τα επιθανάτια βάρη των ζώων αφαιρεθέντων των όγκων είναι αντιστοίχως 34,522 και 32 γραμμάρια. Ο μέσος όρος τους είναι $33,261 \pm 1,78$ γραμμάρια. Και πάλι τα βάρη των σωμάτων των καρκινοπαθών ζώων, μετά την αφαίρεση των όγκων, είναι μικρότερα ως προς το μέσο επιθανάτιο σωματικό βάρος των ποντικών NMRI που κατέληξαν χωρίς να αναπτύξουν κακοήθεις όγκους, αποδεικνύοντας ότι οι κακοήθη όγκοι λειτουργούν ως επιθετικά μεταβολικά παράσιτα που αποστερούν δομικούς και φυσιολο-

γικούς πόρους από τον οργανισμό του εκάστοτε ζώου.

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανάτιως:

Το ποσοστό του όγκου που αντιστοιχεί στο συνολικό βάρος σώματος του πρώτου καρκινοπαθούς πειραματόζωο είναι 15,8% και του δευτέρου ζώου 15,9%.

4. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr κανταβερίνης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω κανταβερίνης ή (B[a]P + CDVRN-2).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η πολυαμίνη κανταβερίνη (πτωμαΐνη) είχαμε μεγάλη αναστολή της καρκινογόνου δράσης του B[a]P. Επί μιας ομάδας 50 ποντικών NMRI ανέπτυξαν όγκους 12 εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό επιτυχίας στην χημική καρκινογένεση ήταν 24%. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνου δράσης του B[a]P ήταν 76%. Στο μοντέλο αναστολής της καρκινογόνου δράσης του B[a]P με κανταβερίνη έχουμε αναστολή ίση προς 76%. Συνεπώς η κανταβερίνη λειτουργεί ως ένας ισχυρός αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Η συνολική ομάδα των πενήντα (50) μυών NMRI, που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της αντικαρκινογόνου δράσης της κανταβερίνης (πτωμαΐνης) επί της καρκινογόνου δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $342,098 \pm 216,88$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 50 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P + κανταβερίνη 12 πειραματόζωα αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $287,27 \pm 238,4$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $359,411 \pm 210,027$ ημέρες. Το

μέσο βάρος των κακοήθων νόσων είναι ίσο προς $6,28 \pm 1,26$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματόζων ανέρχεται στο $15,875 \pm 2,67\%$

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

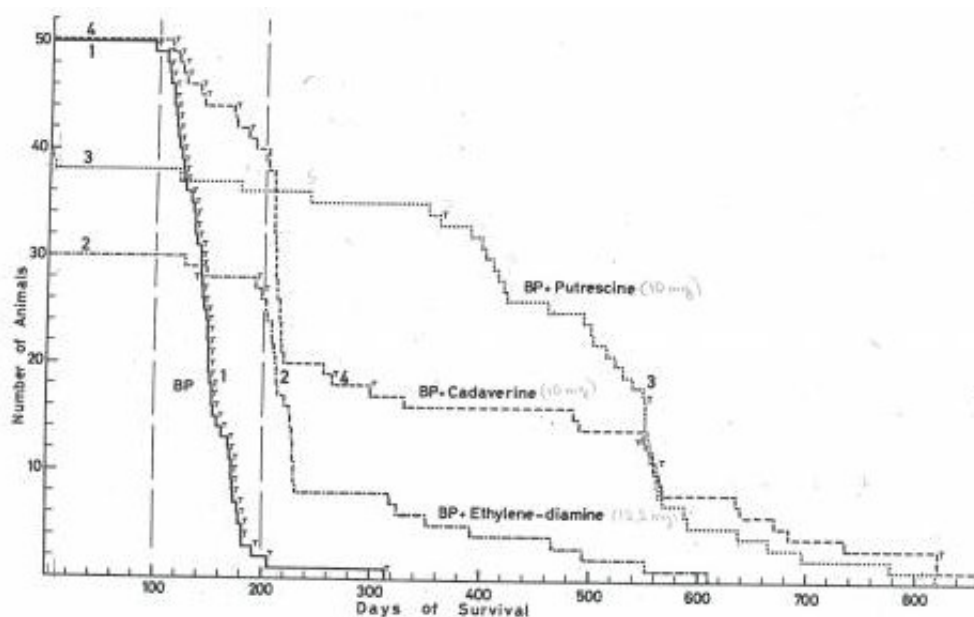
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $6,28 \pm 1,26$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώνων επιθανατίως:

Το βάρος του σώματος όλων των ζώνων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $39,34 \pm 2,17$

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματόζων ανέρχεται στο $15,875 \pm 2,67\%$.



Σχήμα 4.2: Μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με τρεις διαφορετικές πολυαμίνες : 1 – Καρκινογόνα δράση του B[a]P. 2 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P από 10 mgr αιθυλεν-διαμίνης. 3 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P από 10 mgr πουτρε-σκίνης. 4 – Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, από 10 mgr κανταβερίνης.

5. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr Βισμούθειόλης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω κανταβερίνης ή (B[a]P + Bismouthiol).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η αντιοξειδωτική θειούχα ένωση βισμούθειόλη είχαμε μεγάλη αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P. Επί μιας ομάδας 30 ποντικών NMRI ανέπτυξαν όγκους 21 εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό επιτυχίας στην χημική καρκινογένεση ήταν 70%. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνας δράσης του B[a]P ήταν 30% στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αναστολής της καρκινογένεσης. Συνεπώς η βισμούθειόλη λειτουργεί ως ένας μέτριας ισχύος αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Η συνολική ομάδα των τριάντα (30) ποντικών NMRI, που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της αντικαρκινογόνας δράσης της βισμούθειόλης επί της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $367,75 \pm 245,9$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 30 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P + βισμούθειόλη) 21 πειραματόζωα αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $235,94 \pm 134,81$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $675,3 \pm 147,7$ ημέρες. Το μέσο βάρος των κακοήθων όγκων είναι ίσο προς $4,76 \pm 1,46$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που αντιπροσωπεύουν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου σωματικού επιθανάτιου βάρους των καρκινοπαθών πειραματοζώων ανέρχεται στο $13,25 \pm 4,13\%$.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

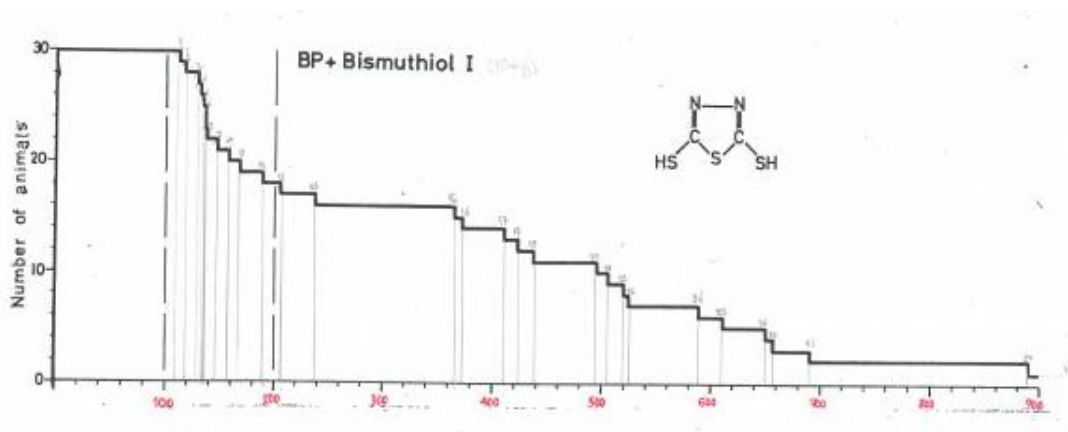
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $4,76 \pm 1,46$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως :

Το βάρος του σώματος όλων των ζώων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $36,26 \pm 1,58$

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματόζώων ανέρχεται στο $13,25 \pm 4,13\%$.



Σχήμα 4.3: Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr βισμούθειόλης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P

6. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω μερκαπτοηλεκτρικού οξέος ή (B[a]P + mercaptosuccinic acid).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα, στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η αντιοξειδωτική θειούχα (σουλφωδρυλική) ένωση μερκαπτοηλεκτρικό οξύ, είχαμε αξιόλογη αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P. Επί μιας ομάδας 30 ποντικών NMRI ανέπτυξαν όγκους 12 εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό επιτυχίας στην χημική καρκινογένεση ήταν 40%. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνας δράσης

του B[a]P ήταν 60% στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αναστολής της καρκινογένεσης. Συνεπώς το μερκαπτοηλεκτρικό οξύ λειτουργεί ως ένας αξιόλογος ισχύος αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες :

Η συνολική ομάδα των τριάντα (30) ποντικών NMRI, που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της αντικαρκινογόνου δράσης του μερκαπτοηλεκτρικού οξέος επί της καρκινογόνου δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $464,325 \pm 316$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 30 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P + μερκαπτοηλεκτρικό οξύ) 12 πειραματόζωα αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $155,54 \pm 40,32$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $670,18 \pm 239$ ημέρες. Το μέσο βάρος των κακοήγων όγκων είναι ίσο προς $5,47 \pm 0,54$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που αντιπροσωπεύουν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου σωματικού επιθανάτιου βάρους των καρκινοπαθών πειραματοζώων ανέρχεται στο $14,73 \pm 1,42\%$.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

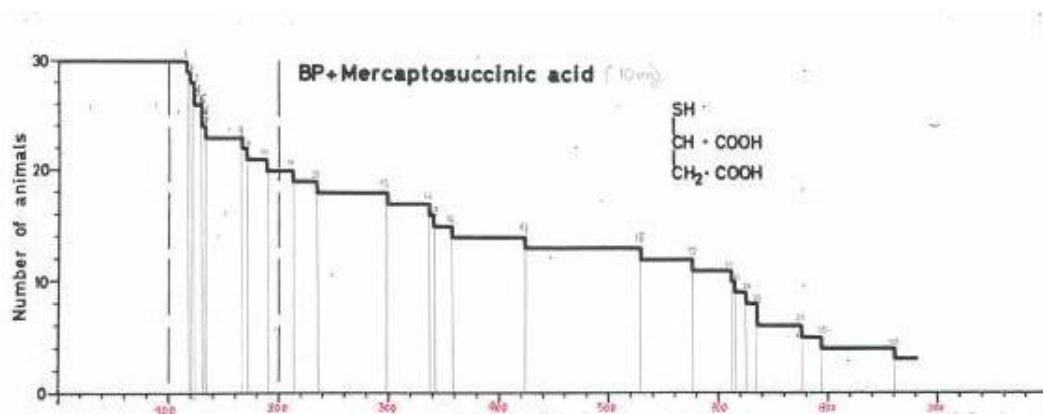
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $5,47 \pm 0,54$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Το βάρος του σώματος όλων των ζώων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $36,96 \pm 1,97$

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματοζώων ανέρχεται στο $14,73 \pm 1,42\%$.



Σχήμα 4.4: Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (mercaptosuccinic acid). Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.

7. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr αιθυλικού εστέρα της L-κυστεΐνης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω ή (B[a]P +L-cysteine-Ethylester).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην ομάδα, στην οποία δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας η αντιοξειδωτική θειούχα (σουλφυδρυλική) ένωση αιθυλικός εστέρας της L-κυστεΐνης, η οποία επώαστηκε με την ενδεδειγμένη ποσότητα B[a]P , και ενέθηκε σε ποντικούς NMRI. Τα δεδομένα έδειξαν ότι υπήρξε σημαντική αναστολή της καρκινογόνου δράσης του B[a]P. είχαμε αξιόλογη αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P. Έτσι επί μιας ομάδας 28 ποντικών ανέπτυξαν όγκους επτά (7) εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό της χημικής καρκινογένεσης ήταν 25 %, καθόσον από το σύνολο των 28 ζώων τα επτά ανέπτυξαν όγκους. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνας δράσης του B[a]P ήταν 75 % στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αναστολής της καρκινογένεσης. Συνεπώς το μερκαπτοηλεκτρικό οξύ λειτουργεί ως ένας αξιόλογης ισχύος αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες :

Η συνολική ομάδα των είκοσι οχτώ (28) ποντικών NMRI, που χρησιμοποι-

ήθηκε για την μελέτη της αντικαρκινογόνας δράσης του αιθυλεστέρα της L- κυστεΐνης επί της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $381,3 \pm 255$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 28 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P + αιθυλεστέρα της L-κυστεΐνης) 7 πειραματόζωα αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $127,28 \pm 12,5$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $465,97 \pm 240,7$ ημέρες. Το μέσο βάρος των κακοήθων όγκων είναι ίσο προς $\pm$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που αντιπροσωπεύουν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου σωματικού επιθανάτιου βάρους των καρκινοπαθών πειραματοζώων ανέρχεται στο $5,28 \pm 0,54\%$.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

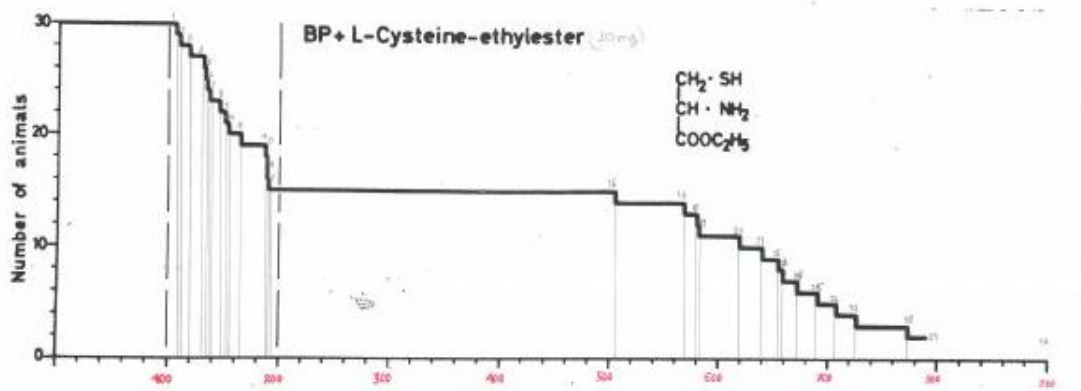
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $5,28 \pm 0,54$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Το βάρος του σώματος όλων των ζώων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $36,2 \pm 2,19$

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματοζώων ανέρχεται στο $14,4 \pm 1,66\%$.



Σχήμα 4.5: Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr αιθυλεστέρα της L-κυστεΐνης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.

8. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr L-κυστεΐνης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω B[a]P + L-κυστεΐνη).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην παρούσα πειραματική ομάδα δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας το αντιοξειδωτικό σουλφυδρυλικό αμινοξύ L-κυστεΐνη, το οποίο επώαστηκε με την ενδεδειγμένη ποσότητα B[a]P, και ενέθηκε σε ποντικούς NMRI. Τα δεδομένα έδειξαν ότι υπήρξε σημαντική αναστολή της καρκινογόνου δράσης του B[a]P. Είχαμε αξιόλογη αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P. Έτσι επί μιας ομάδας 30 ποντικών ανέπτυξαν όγκους () εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό της χημικής καρκινογένεσης ήταν%, καθόσον από το σύνολο των 28 ζώων τα επτά ανέπτυξαν όγκους. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνας δράσης του B[a]P ήταν% στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αναστολής της καρκινογένεσης. Συνεπώς η L - κυστεΐνη λειτουργεί ως ένας χαμηλής ισχύος αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες:

Η συνολική ομάδα των τριάντα (30) ποντικών NMRI, που χρησιμοποιήθη-

κε για την μελέτη της αντικαρκινογόνας δράσης του L- κυστεΐνης επί της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $169,75 \pm 71,89$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 30 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P+L-κυστεΐνης) πειραματόζωα αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $146,62 \pm 15$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $286,6 \pm 125,3$ ημέρες. Το μέσο βάρος των κακοήθων όγκων είναι ίσο προς $5,05 \pm 1,69$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που αντιπροσωπεύουν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου σωματικού επιθανάτιου βάρους των καρκινοπαθών πειραματοζώων ανέρχεται στο $14 \pm 3,1\%$.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

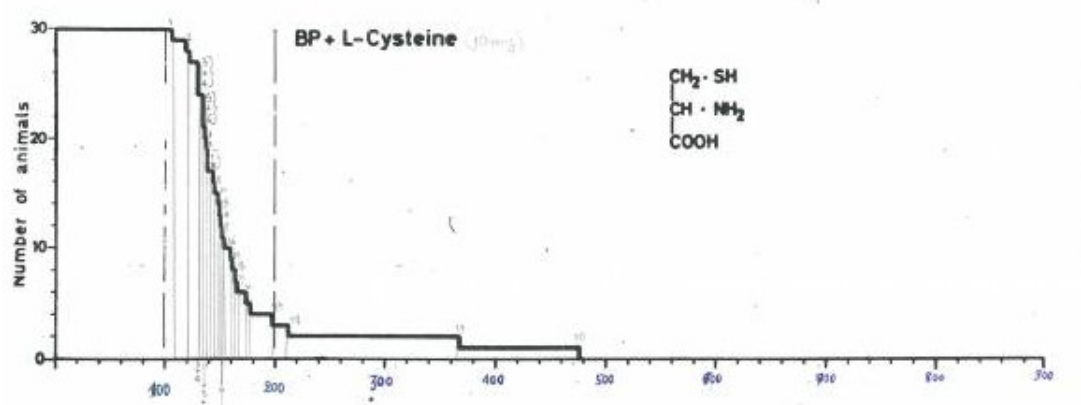
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $5,05 \pm 1,69$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Το βάρος του σώματος όλων των ζώων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $36,16 \pm 1,83$

- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματοζώων ανέρχεται στο $14 \pm 3,1\%$.



Σχήμα 4.6: Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr L-κυστεΐνης. Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.

9. Αναστολή της χημικής καρκινογόνου δράσης του 3,4-βενζοπυρένιου μέσω χορήγησης 10 mgr διθειοθρεϊτόλης (αναστολή χημικής καρκινογένεσης μέσω B[a]P + διθειοθρεϊτόλης).

- Ποσοστό καρκινογένεσης:

Στην παρούσα πειραματική ομάδα δοκιμάστηκε ως αντικαρκινογόνος παράγοντας το αντιοξειδωτικό σουλφυδρυλικό παράγωγο διθειοθρεϊτόλη, το οποίο ποσότητα 10 mgr επώαστηκε με την ενδεδειγμένη ποσότητα B[a]P (2,52 mgr), και κατόπιν ενέθηκε σε ποντικούς NMRI. Τα δεδομένα έδειξαν ότι υπήρξε σημαντική αναστολή της καρκινογόνου δράσης του B[a]P. Έτσι επί μιας ομάδας 30 ποντικών ανέπτυξαν όγκους 8 (26,6%) εξ αυτών και απεβίωσαν από την νεοπλασματική νόσο. Το ποσοστό της χημικής καρκινογένεσης ήταν (26,6%), καθόσον από το σύνολο των 30 ζώων τα 8 ανέπτυξαν όγκους. Το ποσοστό αναστολής της καρκινογόνας δράσης του B[a]P ήταν 73,3% στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο αναστολής της καρκινογένεσης. Συνεπώς η διθειοθρεϊτόλη λειτουργεί ως ένας σημαντικής ισχύος αντικαρκινογόνος παράγοντας ενάντια στην χημική καρκινογένεση που προκαλεί το B[a]P.

- Διάρκεια επιβίωσης σε ημέρες :

Η συνολική ομάδα των τριάντα (30) ποντικών NMRI, που χρησιμοποι-

ήθηκε για την μελέτη της αντικαρκινογόνας δράσης της διθειοθρεϊτόλης επί της καρκινογόνας δράσης του B[a]P, επιβίωσε κατά μέσο όρο $508,68 \pm 299,53$ ημέρες, επί του συνόλου των ζώων, τόσο των αποβιωσάντων από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, όσο και από τις λοιπές αιτίες θανάτου, συμπεριλαμβανομένου και του γήρατος. Από το σύνολο των 30 ποντικών NMRI που έλαβαν το διάλυμα (cocktail) B[a]P+διθειοθρεϊτόλης) αναπτύσσουν όγκους και καταλήγουν από νεοπλασματική νόσο οχτώ άτομα, επιβιώνοντας κατά μέσο όρο $154,68 \pm 35$ ημέρες. Τα ζώα που αποθνήσκουν από άλλες αιτίες, αλλά όχι από κακοήγη νεοπλασματική νόσο, επιβιώνουν συνολικά κατά μέσον όρο $637,4 \pm 241,6$ ημέρες. Το μέσο βάρος των κακοήγων όγκων είναι ίσο προς $5,38 \pm 0,46$ γραμμάρια. Το ποσοστό βάρους που αντιπροσωπεύουν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου σωματικού επιθανάτιου βάρους των καρκινοπαθών πειραματοζώων ανέρχεται στο $15,075 \pm 1,34\%$.

- Βάρος όγκων επιθανατίως:

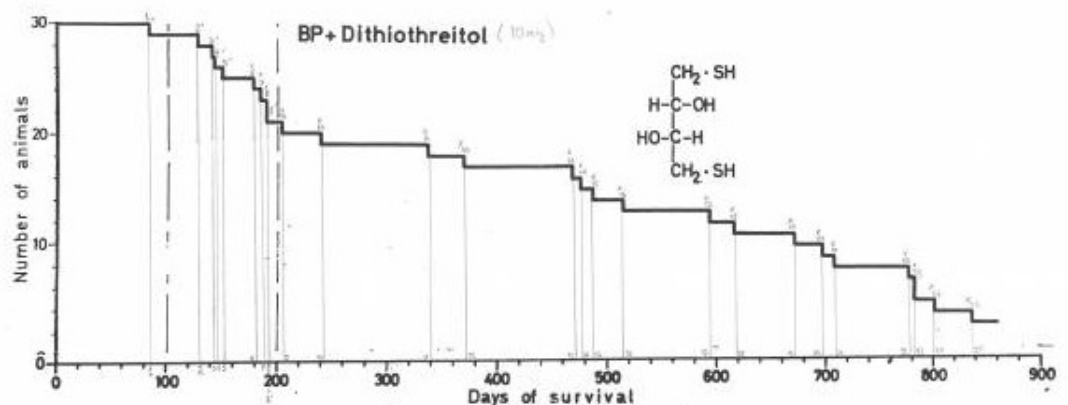
Ο μέσος όρος του βάρους των όγκων επιθανατίως είναι ίσος προς $5,38 \pm 0,46$ γραμμάρια.

- Βάρος σώματος ζώων επιθανατίως:

Το βάρος του σώματος όλων των ζώων επιθανατίως ήταν κατά μέσον όρο ίσο προς $508,68 \pm 299,53$

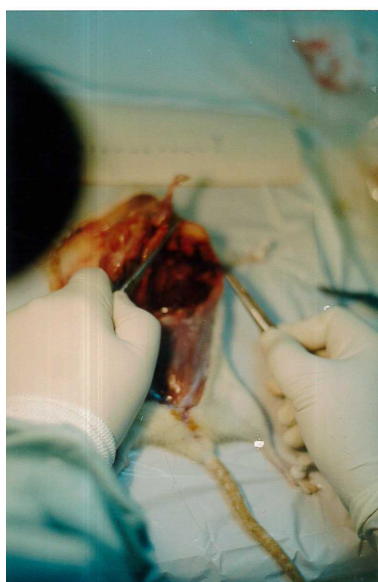
- Ποσοστό της συμμετοχής του όγκου στο βάρος του σώματος του ζώου επιθανατίως:

Το ποσοστό βάρους που εκπροσωπούν οι κακοήθεις όγκοι στο σύνολο του μέσου βάρους των πειραματοζώων ανέρχεται στο $15,075 \pm 1,34$

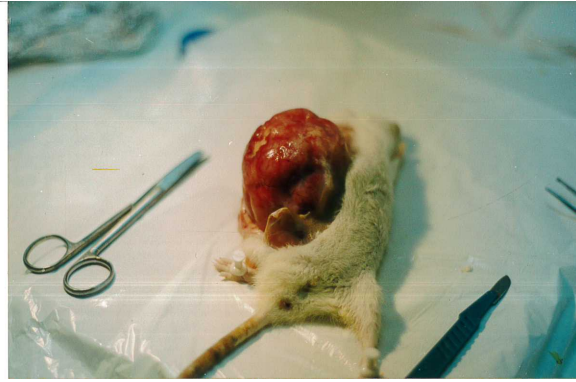


Σχήμα 4.7: Αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P μέσω επώασης 2,52 mgr αυτού με 10 mgr διθειοθρεϊτόλης (dithiothreitol). Παρατηρείται μερική αναστολή της καρκινογόνας δράσης του B[a]P.

Ενδεικτικά παραθέτουμε κάποιες εικόνες από τα πειράματα και τους χειρουργικούς χειρισμούς που διεξήχθησαν ώστε να μπορέσουμε να καταλήξουμε στα πειραματικά μας αποτελέσματα και κατόπιν να μοντελοποιήσουμε την χημική καρκινογένεσης.



Σχήμα 4.8: Χειρουργικοί χειρισμοί σε NMRI



Σχήμα 4.9: Κακοήθης όγκος νεοπλασματικής νόσου σε NMRI



Σχήμα 4.10: Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI



Σχήμα 4.11: Μέτρηση κακοήθη όγκου σε NMRI



Σχήμα 4.12: Μέτρηση κακοήγη όγκου σε NMRI



Σχήμα 4.13: Μέτρηση κακοήγη όγκου σε NMRI

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΤΩΝ ΚΑΚΟΗΘΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΝΟΣΩΝ

5.1 Εισαγωγή

5.2 Μοντέλα ανάπτυξης κακοήθων όγκων

5.3 Μαθηματική περιγραφή της νεοπλασματικής ανάπτυξης

5.4 Μαθηματικά μοντέλα ανάπτυξης και παραμετρικές σχέσεις

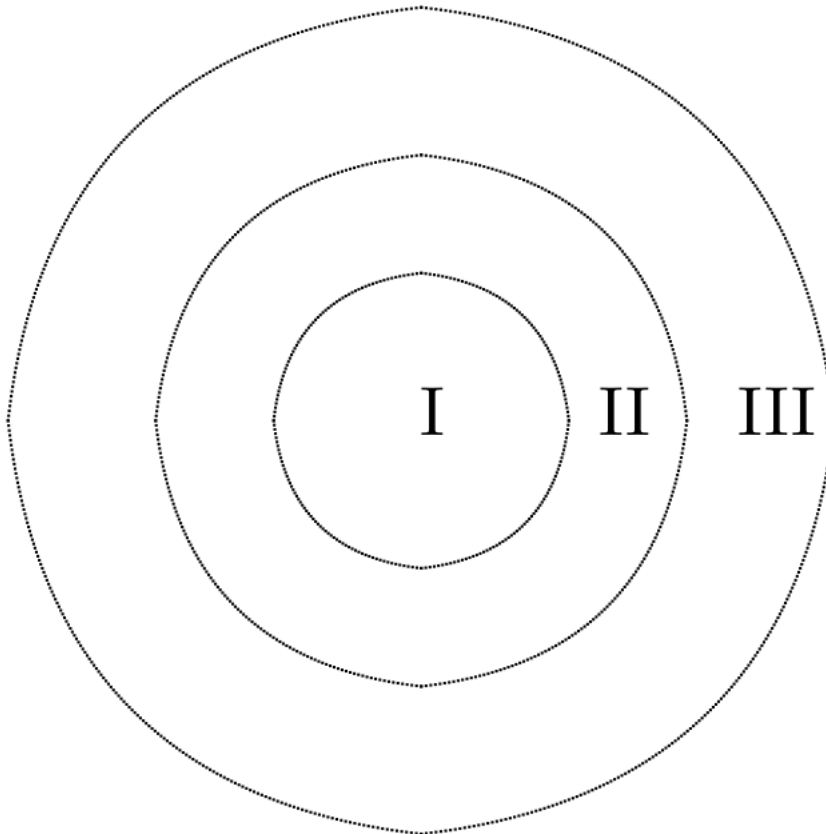
5.1 Εισαγωγή

Ένα μαθηματικό μοντέλο ανάπτυξης κακοήθων όγκων είναι μια μαθηματική δομή που εξαρτάται από το μέγεθος του όγκου στον χρόνο, δηλαδή από το ρυθμό (ταχύτητα) με την οποία ο όγκος αναπτύσσεται, ή και μειώνεται. Σε αυτή την εργασία θα παρουσιάσουμε αποτελέσματα στο πεδίο των ντετερμινιστικών μαθηματικών μοντέλων της ανάπτυξης του όγκου. Κυρίως υπάρχουν τρία κύρια βήματα στη διαδικασία της μαθηματικής μοντελοποίησης[14]:

1. Ο ορισμός του μοντέλου που βασίζεται σε βιολογικές υποθέσεις.
2. Η δοκιμή του μοντέλου σε πειραματικά δεδομένα.
3. Η αποδοχή μοντέλου ή απόρριψή του και αλλαγή των υποθέσεων.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ένα μοντέλο μπορεί να απορριφθεί λόγω λάθους υπόθεσης ή ανεπαρκούς αριθμού υποθέσεων.

Ένα ιδιαίτερα κατάλληλο παράδειγμα πειραματικού όγκου παρέχεται από το σύστημα καλλιέργειας πολυκύτταρων σφαιροειδών όγκων (Multi Cell Tumor Spheroid ή MTS). Τα σφαιροειδή παρέχουν ένα σύστημα για τη μελέτη της προαγγειακής φάσης της ανάπτυξης ενός όγκου με απουσία των αλληλεπιδράσεων όγκου-ξενιστή.



Σχήμα 5.1: Τρία στρώματα σε ιδανικό σχήμα του MTS

Η εικόνα του σφαιροειδούς δείχνει τρία στρώματα σε ιδανικό σχήμα του MTS: νεκρωτικός πυρήνας (I), αδρανή (μη πολλαπλασιαζόμενα) κύτταρα (II) και πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα (III). Επιπλέον, η καμπύλη ανάπτυξης για σφαιροειδείς όγκους μπορεί εύκολα να προσδιοριστεί με συχνές και εξατομικευμένες, κάθε φορά, μετρήσεις και υψηλή ακρίβεια.

5.2 Μοντέλα ανάπτυξης κακοήθων όγκων

5.2.1 Εμπειρικά μοντέλα

Τα εμπειρικά μοντέλα, είναι ρεαλιστικά – αντικειμενικά και απλά περιγράφουν, με κατάλληλη μαθηματική σχέση ένα σύνολο δεδομένων. Περιγράφουν, δηλαδή, με έναν απλό τρόπο τα δεδομένα υπό τη μορφή μιας αποδεκτής μαθηματικής σχέσης και βασίζονται σε δεδομένα – προσεγγίσεις, όπως πολυωνυμικές συναρτήσεις και ανάλυση συνιστωσών αρχών. Τα εμπειρικά μοντέλα χρησιμοποιούνται για να ταξινομηθούν τα δεδομένα. Οι πολυωνυμικές εξισώσεις αποτελούν τα πιο κοινά εμπειρικά μοντέλα. [15]Ωστόσο, τα πολυώνυμα συχνά δεν έχουν θεωρητική βάση, είναι μη γραμμικά και έχουν παραμέτρους χωρίς βιολογικό χαρακτήρα. Πραγματικές προβλέψεις με αυτό το είδος μοντέλων είναι δύσκολο να γίνουν γιατί δεν μπορούν να δημιουργήσουν εικασίες, πέρα από τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του μοντέλου. Παρόλα αυτά, τα εμπειρικά μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα με μεγάλη επιτυχία στη ιατρική πρόβλεψη. Τα μοντέλα αυτά είναι εύκολα στη χρήση και για την εφαρμογή τους και δεν απαιτούνται γνώσεις βιοχημικών ή άλλων διεργασιών. Συνεπώς, αυτά βασίζονται στη θεμελιώδη εμπειρική αντίληψη ότι δηλαδή η ανάπτυξη είναι αποτέλεσμα αύξησης μεγέθους του όγκου παράλληλα με τις διαδικασίες που περιορίζουν το μέγεθος αυτού, ως συστήματος.

Ένα σύνολο μοντέλων βασίζεται στην αρχή ότι για το μέγεθος όγκου V (Volume), το ποσοστό της μεταβολής του μεγέθους V' είναι η διαφορά μεταξύ του ρυθμού ανάπτυξης και του ρυθμού της αποσάρθρωσης (νέκρωση τμήματός του). Δηλαδή σε κάθε κακοήγη όγκο συνυπάρχουν ταυτοχρόνως διεργασίες ανάπτυξης και διεργασίες νέκρωσης. Όταν αυτές οι δύο "αντιθέτου φοράς" διεργασίες είναι απόλυτα ισοτιμες τότε ο όγκος μένει στατικός (δυναμική ισορροπία ανάπτυξης-νέκρωσης). Όταν η διεργασία της ανάπτυξης υπερέχει της νέκρωσης ο όγκος αυξάνεται. Όταν η διεργασία της νέκρωσης υπερέχει της ανάπτυξης ο όγκος συρρικνώνεται. Η μελέτη αυτών των δυναμικών ισορροπιών και η μαθηματική τους αναπαράσταση και επίλυση είναι κρίσιμης σημασίας για την θεραπεία του καρκίνου τόσο σε πειραματικό όσο και σε κλινικό επίπεδο. Σύμφωνα με τον Ludwig Von Bertalanffy, [15] και οι δύο προαναφερθείσες παράμετροι (ανάπτυξη-νέκρωση) ακολουθούν το νόμο της αλλομετρίας δηλαδή κυριαρχούνται από την αναπτυξιακή ισχύ της αύξησης κατά όγκον του κακοήθους όγκου, οπότε η εξίσωση ανάπτυξης είναι της μορφής

$$V' = aV^a - bV^b$$

Αυτά τα μοντέλα ονομάζονται "γενικευμένα μοντέλα δύο παραμέτρων"

5.2.2 Μηχανιστικά μοντέλα

Τα μοντέλα της βιολογικής πρόβλεψης που έχουν παραμέτρους που συσχετίζονται με το παρατηρούμενο φαινόμενο, ονομάζονται μηχανιστικά. Τα μηχανιστικά μοντέλα είναι φτιαγμένα από θεωρητικά δεδομένα, και αν αυτά είναι σωστά διατυπωμένα, επιτρέπουν την ερμηνεία της συμπεριφοράς των μικροοργανισμών με εκφράσεις φυσικών, χημικών και βιολογικών φαινομένων. Βέβαια τα κύτταρα του σώματος-συμπεριλαμβανομένων και των κακοήθων κυττάρων- μπορούν διασταλτικά να θεωρηθούν ως μικροοργανισμοί καθόσον είναι μικροσκοπικών διαστάσεων. Συνεπώς τα μηχανιστικά μοντέλα καταφέρνουν να συνδέουν τα δεδομένα με τις θεμελιώδεις επιστημονικές αρχές ή τουλάχιστον με τις μετρήσιμες φυσιολογικές επεξεργασίες. Τέτοια μοντέλα είναι ,ενδεχομένως, να εκφράσουν τις διεργασίες των κυττάρων με μεγαλύτερη ακρίβεια και να χρησιμοποιηθούν ως οχήματα για την παραγωγή προβλέψεων από υποθέσεις(Bazin and Prosser, 1992)[16].

Ένα δυνητικό πλεονέκτημα των μηχανιστικών μοντέλων είναι η διαπίστωση ότι έχουν την τάση να παρέχουν καλύτερη θεωρητική υποδομή για μεταγενέστερη ανάπτυξη και επέκταση των διαδικασιών προσομοίωσης και συνεπώς της ανάπτυξης καλύτερων μοντέλων. Η διαδικασία ανάπτυξης μοντέλων ικανών να ενσωματωθούν ή να ενωθούν εύκολα με άλλα, ώστε να τα προκύπτουν μοντέλα να είναι αποτελεσματικά στην περιγραφή συνθετότερων φαινομένων ονομάστηκε, "nesting" ή "embedding". Μια ερμηνεία των πλεονεκτημάτων αυτής της προσέγγισης δίνεται από τους Baranyi και Roberts (1995)[17]. Για να είναι πραγματικά μηχανιστικό, εν τούτοις, ένα μοντέλο δημιουργεί νέα ερωτήματα καθώς και νέες υποθέσεις προς εξέταση. Αυτό με συγκεκριμένες εξισώσεις, δεν είναι εύκολο γιατί είναι δύσκολη η ανάπτυξη τέτοιων συναρτήσεων υπό δυναμικές συνθήκες όπως επίσης και η προσθήκη επιπλέον βήματα ήδη υπάρχον μοντέλο.

Για τους παραπάνω λόγους, είναι γενικώς αποδεκτό από τους περισσότερους ερευνητές ότι τα μηχανιστικά μοντέλα είναι ανώτερα από τα εμπειρικά (Van Impe

et al., 1995/1995; Zwietering et al., 1992). Η ανάπτυξη των μηχανιστικών μοντέλων δεν είναι αυτονόητη αλλά όπως κάθε επιστημονική περιγραφή της πραγματικότητας εμφανίζει διάφορα προβλήματα τα οποία, ωστόσο, σταδιακά επιλύονται επιτυχώς. Συνολικά ο τομέας αυτός φαίνεται χρήσιμος για την δημιουργία ακριβών και ρεαλιστικών επιστημονικών προβλέψεων στο χώρο της βιολογίας και μάλιστα υπερβαίνοντας την μικροβιολογία στην οποία είχε την πρώτη του εφαρμογή.

5.3 Μαθηματική περιγραφή της νεοπλασματικής ανάπτυξης

Η μαθηματική περιγραφή της ανάπτυξης του όγκου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση της ποσότητας δεδομένων, την εξήγηση των παρατηρούμενων προτύπων, τη σύγκριση των ρυθμών ανάπτυξης και των προτύπων (Patterns) και την πρόβλεψη της μελλοντικής ανάπτυξης αυτών των τύπων όγκου τους οποίους μελετάμε και στην εργασία μας. Συγκεκριμένα έχουν χρησιμοποιηθεί δύο προσεγγίσεις, περιγραφικές καμπύλες ανάπτυξης και μοντέλα βασισμένα σε θεωρίες ανάπτυξης, όπου αναφέρονται ως εμπειρικά και μηχανιστικά μοντέλα που δίνουν περιγραφή με κατανόηση αλλά και περιγραφή με την παραγωγή προβλέψεων και υποθέσεων.

5.3.1 Θεωρία ανάπτυξης μοντέλων

Τα μηχανιστικά μοντέλα και οι θεωρίες ανάπτυξης παρουσιάζουν μια δεύτερη, διαφορετική προσέγγιση που λαμβάνει χώρα σε ένα οργανικό σύστημα. Τα μοντέλα ανάπτυξης μπορούν να είναι απλά και αφηρημένα, με απλοϊκή περιγραφή της συσσώρευσης και της αποσύνθεσης των οργανικών ενώσεων και των ιστών. Τα λεπτομερή μοντέλα μπορούν να λάβουν υπόψη τις λεπτές διαδικασίες όπως οι αλλαγές στο σχήμα, η αραίωση, οι αναλογίες σωματικών αποθεμάτων στον σωματικό ιστό και οι ιδιαιτερότητες του σχεδιασμού και της φυσιολογίας του οργανισμού, όπως στη θεωρία Dynamic Energy Budgets (Kooijman, 2000).

Ένα μηχανιστικό μοντέλο συνήθως προέρχεται από μια διαφορική εξίσωση που σχετίζεται με τον ρυθμό ανάπτυξης (dy/dt) στο μέγεθος y . Αυτή η μαθηματική σχέση αντιπροσωπεύει τον μηχανισμό που διέπει τη διαδικασία ανάπτυξης. Αυτή η προσέγγιση έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την σωματική ανάπτυξη όπου έχει προκύψει ένας μεγάλος αριθμός λειτουργιών ανάπτυξης (Turner et al., 1976, France and

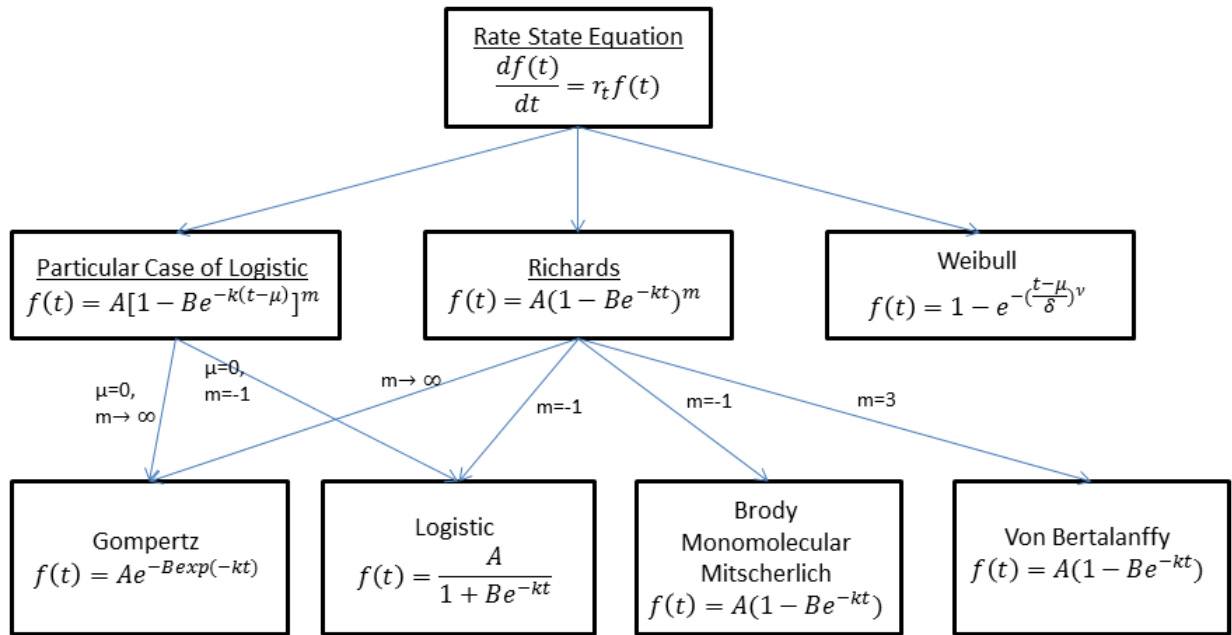
Thornley, 1984)[18].

Ο σκοπός των μηχανιστικών μοντέλων και θεωριών είναι να κατανοήσουν τις ομοιότητες και τις διαφορές στην ανάπτυξη των διαφόρων ειδών και να εξηγήσουν αυτές τις διαφορές μέσα από ένα μηχανιστικό πλαίσιο. Οι εξισώσεις ανάπτυξης μπορούν να προκύψουν από αυτά τα μοντέλα. Μάλλον μια γενικότερη προσέγγιση της ανάπτυξης και γενικά οι αλλαγές στο μέγεθος θα μπορούσε να το λάβουμε υπόψη μας ως το μέγεθος του οργανισμού με αποτέλεσμα μια δυναμική ισορροπία μεταξύ της συσσώρευσης και της αποσύνθεσης της βιομάζας. Τέτοιες έννοιες δυναμικού κύκλου εργασιών αποτελούν τη βάση του μοντέλου von Bertalanffy και της θεωρίας Dynamic Energy Budget.[19]

5.4 Μαθηματικά μοντέλα ανάπτυξης και παραμετρικές σχέσεις

Σε αυτή την ενότητα μελετήσαμε τις παραμετρικές σχέσεις μεταξύ όλων των μοντέλων βιολογικής ανάπτυξης που εξετάζουμε, δηλαδή το μοντέλο βιολογικής ανάπτυξης Particular Case Of Logistic (Ειδική περίπτωση Γενικευμένης Λογιστικής), Richards, Von Bertalanffy, Brody, Logistic, Gompertz, Weibull, Monomolecular και Mitscherlich. [19] [20]

Οι σχέσεις που μελετήθηκαν παρουσιάζονται μέσω ενός διαγράμματος ροής[21].



Σχήμα 5.2: Διάγραμμα ροής που απεικονίζει τις σχέσεις μεταξύ των γενικευμένων και εξειδικευμένων λειτουργιών ανάπτυξης.

Το βασικό μαθηματικό μοντέλο για τη μέτρηση της ανάπτυξης βιολογικών φαινομένων ως προς το χρόνο αποτελεί η κλάση των συνήθων διαφορικών εξισώσεων της μορφής:

$$\frac{df(x)}{dt} = r_t f(t) \quad (5.1)$$

όπου $f(t)$ είναι η συνάρτηση που περιγράφει το μέγεθος του φαινομένου τη χρονική στιγμή t και $r(t)$ η συνάρτηση που περιγράφει το σχετικό ρυθμό ανάπτυξης τη χρονική στιγμή t .

Με άλλα λόγια, ο ρυθμός ανάπτυξης $\frac{df}{dt}$ είναι ανάλογος με τη τιμή της ανάπτυξης τη χρονική στιγμή t επί μια ποσότητα $r(t)$ που εξαρτάται από το $f(t)$.

Ειδικές μορφές έχουν μέχρι τώρα επιλυθεί και μελετηθεί. Κάποιες από αυτές θα παρουσιάσουμε εδώ, όπου και επιλύονται στο Appendix A.

5.4.1 Μοντέλο ανάπτυξης Particular Case of Logistic

Το μοντέλο ανάπτυξης που λέγεται Ειδικό γενικευμένο λογιστικό μοντέλο (Particular Case of Logistic) ορίζεται από την παρακάτω παράσταση:

$$f(t) = A(1 - Be^{-kt})^m$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Particular Case of Logistic.

5.4.2 Μοντέλο ανάπτυξης Ludwig Von Bertalanffy

Ο Bertalanffy (1941) πρότεινε το πρώτο μοντέλο ανάπτυξης των ζώων με βάση τις μεταβολικές διεργασίες. Το μοντέλο αυτό εμπεριέχει λύσεις που παραπέμπουν σε ασυμπτωτικές καμπύλες ανάπτυξης και είναι της μορφής:

$$f(t) = A(1 - e^{-kt})^3$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = 3k \left(\frac{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)}{f^{\frac{1}{3}}(t)} \right)$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Von Bertalanffy.

5.4.3 Μοντέλο ανάπτυξης Richards

Ο Richards (1959) ήταν ο πρώτος που εφάρμοσε μια εξίσωση ανάπτυξης που επινοήθηκε από τον von Bertalanffy για να περιγράψει την ανάπτυξη των ζώων (France and Thornley, 1984)[22]. Ωστόσο, η καμπύλη του Richards έχει μια πολύ γενικευμένη διατύπωση. Πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν διάφοροι τρόποι γραφής των καμπυλών ανάπτυξης. Ένας από τους τρόπους διατύπωσης είναι [23]:

$$f = A(1 - Be^{-kt})^m$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$$

προκύπτει γενική εξίσωση του μοντέλου Richards.

5.4.4 Μοντέλο ανάπτυξης Brody

Τα σιγμοειδή πρότυπα ανάπτυξης παρατηρούνται συχνά σε ζώα που είναι καθορισμένου αναπτυξιακού προτύπου. Ο Brody (1945) πρότεινε την ανάπτυξη να εκφράζεται από μια συνεχή καμπύλη με ασυνεχή κλίση στο σημείο καμπής, συχνά αναφερόμενη ως καμπύλη του Brody.

Το μοντέλο Brody ορίζεται (Brody, 1945) από την παρακάτω παράσταση:

$$f(t) = A(1 - Be^{kt})$$

Είναι μια ειδική περίπτωση του μοντέλου Richards με $m = 1$.

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Brody.

5.4.5 Μοντέλο ανάπτυξης Gompertz

Η εξίσωση Gompertz προκύπτει από μοντέλα αυτοπεριοριζόμενης ανάπτυξης όπου ο ρυθμός μειώνεται εκθετικά με το χρόνο. Το μοντέλο εισήχθη για πρώτη φορά για να περιγράψει την αύξηση του αριθμού των καρκινικών κυττάρων που συνήθως ακολουθεί ένα σιγμοειδές μοτίβο ανάπτυξης. Η διατύπωση της εξίσωσης έχει ως εξής:

$$f(t) = Ae^{-Be^{-kt}}$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = k \log\left(\frac{A}{f(t)}\right)$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Gompertz.

5.4.6 Μοντέλο ανάπτυξης Monomolecular

Στο μοντέλο αυτό παρατηρούμε μια από της πιο απλές υποθέσεις που οδηγούν σε καμπύλη ανάπτυξης, οι οποίες προσεγγίζουν εν τέλει μια περιοριστική τιμή. Η διατύπωση της εξίσωσης έχει ως εξής, όμοια με την εξίσωση του αναπτυξιακού μοντέλου Brody:

$$f(t) = A(1 - Be^{kt})$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Monomolecular.

5.4.7 Μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich

Το μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich, όμοιο με το μοντέλο ανάπτυξης Brody ορίζεται από την παρακάτω παράσταση:

$$f(t) = A(1 - Be^{kt})$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Mitscherlich.

Τα μοντέλα Brody, Monomolecular, Mitscherlich και Weibull συμπεριφέρονται το ίδιο και αποτελούν μαθηματικά εργαλεία λογισμού των διαδικασιών ομοιοστασίας και συνεπώς φαίνεται ότι έχουν μεγάλη αξία για την μαθηματική περιγραφή των

φυσιολογικών λειτουργιών και των διαταραχών τους στις παθολογικές διεργασίες των νόσων.

5.4.8 Μοντέλο ανάπτυξης Logistic

Το μοντέλο ανάπτυξης Logistic, ορίζεται από την παρακάτω παράσταση:

$$f(t) = \frac{A}{1 + Be^{-kt}}$$

και είναι μια γενική περίπτωση αναπτυξιακού μοντέλου.

5.4.9 Μοντέλο ανάπτυξης Weibull

Το μοντέλο ανάπτυξης Weibull, ορίζεται από την παρακάτω παράσταση:

$$f(t) = 1 - e^{-\left(\frac{t-\mu}{\delta}\right)^\nu}$$

Αντικαθιστώντας στην γενική εξίσωση 5.1 την r_t του μοντέλου με την παρακάτω διατύπωση:

$$r_t = \left(\frac{\nu}{\delta}\right) \left(\frac{t-\mu}{\delta}\right)^{\nu-1} \left[\frac{1}{f(t)} - 1\right]$$

προκύπτει η γενική εξίσωση του μοντέλου Weibull.

Όνομα μοντέλων	Σχετική συνάρτηση ρυθμού ανάπτυξης r_t	Συνάρτηση ανάπτυξης $f(t)$
Particular Case of Logistic	$r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$	$f(t) = A(1 - Be^{-kt})^m$
Richards	$r_t = r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$	$f(t) = A(1 - Be^{-kt})^m$
Von Bertalanffy	$r_t = 3k \left(\frac{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)}{f^{\frac{1}{3}}(t)} \right)$	$f(t) = A(1 - e^{-kt})^3$
Brody	$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$	$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$
Logistic	$r_t = k \left(\frac{A - f(t)}{A} \right)$	$f(t) = \frac{A}{1 + Be^{-kt}}$
Gompertz	$r_t = k \log\left(\frac{A}{f(t)}\right)$	$f(t) = Ae^{-Be^{-kt}}$
Weibull	$r_t = \left(\frac{\nu}{\delta}\right) \left(\frac{t-\mu}{\delta}\right)^{\nu-1} \left[\frac{1}{f(t)} - 1 \right]$	$f(t) = 1 - e^{-\left(\frac{t-\mu}{\delta}\right)^\nu}$
Monomolecular	$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$	$f(t) = A(1 - Be^{kt})$
Mitscherlich	$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$	$f(t) = A(1 - Be^{kt})$

Πίνακας 5.1: Λίστα αναπτυξιακών συναρτήσεων με ενσωματωμένες σταθερές

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΗΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Σχεδίαση Αλγορίθμου

6.2 Μέθοδοι Gauss-Newton και Levenberg-Marquardt

6.3 Ταξινόμηση χημικής καρκινογένεσης

6.1 Σχεδίαση Αλγορίθμου

Η μοντελοποίηση της βιολογικής ανάπτυξης της νεοπλασματικής νόσου που προκαλείται από το καρκινογόνο 3,4-βενζοπυρένιο σχετίζεται με αρκετά επίπεδα ιεραρχικής τάξης πολυπλοκότητας όπως τα κύτταρα, οι οργανισμοί και οι πληθυσμοί. Οι προσεγγίσεις για την κατανόηση των προτύπων των όγκων των πειραματοζώων μας ήταν αρκετά δύσκολη ώστε να καταλήξουμε σε συμπεράσματα με βάση τα μοντέλα ανάπτυξης Particular Case of Logistic, Richards, Von Bertalanffy, Brody, Logistic, Gompertz, Weibull, Monomolecular, Mitscherlich και Linear, όπου και μελετήσαμε.[24]

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στην κατασκευή ενός αλγορίθμου ικανού να μοντελοποιήσει την χημική καρκινογένεση. Παρακάτω θα παρου-

σιάσουμε αναλυτικά την υπολογιστική αναπαράσταση του φαινομένου της χημικής καρκινογένεσης, της αναστολής της και της ανάπτυξης όγκων. Ο αλγόριθμός μας είναι ιδιαίτερα ερμηνεύσιμος και αποδοτικός στην εφαρμογή του σε μοντέλα που ασχολούνται με την ανάπτυξη των όγκων σε πειραματόζωα. Εδώ εμείς θα μελετήσουμε τον NMRI ποντικό.[24]

Αρχικά παίρνουμε ως είσοδο τις μετρήσεις των όγκων των πειραματόζωων, οι οποίες προέκυψαν από τα βιολογικά αποτελέσματα του πειράματος που έχουμε αναφέρει στο κεφάλαιο 4, σε συνάρτηση με το χρόνο. Έπειτα προσεγγίζουμε τις κατάλληλες τιμές των παραμέτρων κάθε αναπτυξιακής συνάρτησης, πειραματικά, έτσι ώστε να έχουμε την βέλτιστη προσέγγιση του κάθε μοντέλου αλλά και την ερμηνεύσιμότητα του κάθε πειραματόζωου σε κάθε αναστολή. Αποφασίζουμε υπολογιστικά πιο μοντέλο ερμηνεύει βέλτιστα το κάθε πειραματόζωο μας και κατασκευάσαμε γραφικές παραστάσεις μοντελοποίησης των πειραματόζωων.[25]

Αλγόριθμος 6.1 Υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης του NMRI ποντικού

Find the best growth model that interprets the data optimally

1. Input time and related growth data
 2. Call all the model growth function iteratively
 3. Find the initial parameters ($A, B, k, m, \mu, \nu, \delta$) that minimize the total error
 4. Decide which growth model is the best to interpret the data
 5. Generate graphs with the best fit for each data
-

Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι μόνο τα μοντέλα: Von Bertalanffy, Brody, Gompertz, Weibull, Monomolecular και Mitscherlich ερμηνεύουν βέλτιστα τα δεδομένα μας. Τα υπόλοιπα μοντέλα: Particular Case of Logistic, Richards, Logistic, Linear δεν καταφέρνουν να προσεγγίσουν καθόλου καλά τα πειραματόζωα μας.[26]

6.2 Μέθοδοι Gauss-Newton και Levenberg-Marquardt

Στην συγκεκριμένη ενότητα θα επιλύσουμε το πρόβλημα ελαχίστων τετραγώνων χρησιμοποιώντας τις μεθόδους Gauss-Newton και Levenberg-Marquardt, όπου και τις δοκιμάσαμε δύνοντας καλύτερο αποτέλεσμα μέθοδος Gauss-Newton.

6.2.1 Ορολογία

Έστω $f(x)$ μια πραγματική δυο φορές διαφορίσιμη συνάρτηση δύο μεταβλητών x_1, x_2 . Ορίζουμε gradient της συνάρτησης $f(x)$ την συνάρτηση

$$\nabla f(x_1, x_2) = \left(\frac{\partial f}{\partial x_1}, \frac{\partial f}{\partial x_2} \right)$$

Επίσης ορίζουμε την Εσσιανή συνάρτηση $\nabla^2 f$ της $f(x)$ με πίνακα που ορίζεται από την παρακάτω σχέση

$$\nabla^2 f(x_1, x_2) = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 f}{\partial x_1^2} & \frac{\partial^2 f}{\partial x_1 \partial x_2} \\ \frac{\partial^2 f}{\partial x_1 \partial x_2} & \frac{\partial^2 f}{\partial x_2^2} \end{pmatrix}$$

6.2.2 Μη γραμμικό πρόβλημα ελαχίστων τετραγώνων

Δίνεται ένα σύνολο δεδομένων της μορφής $A = \{(t_i, y_i)\}_{i=1}^m$ και μια συνάρτηση της μορφής $y = f(t; x_1, x_2)$ όπου τα x_1, x_2 είναι παράμετροι της f .

[27] Ορίζουμε ως πρόβλημα ελαχίστων τετραγώνων την εύρεση κατάλληλων τιμών για τις παραμέτρους x_1, x_2 ώστε η f να έχει βέλτιστη θέση ως προς τα δεδομένα του συνόλου A .

Ορίζοντας τις συναρτήσεις $f_i(x_1, x_2)$, έτσι ώστε $f_i(x_1, x_2) = f(t_i, x_1, x_2)$ το πρόβλημα ελαχίστων τετραγώνων γράφεται

$$\underset{x}{\text{minimize}} g(x) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m r_i(x)^2$$

όπου $x = (x_1, x_2)$ και $r_i(x) = f_i(x) - y_i$.

Η συνάρτηση g γράφεται επίσης ως

$$g(x) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m r_i(x)^2 = \frac{1}{2} r(x) r(x)^T \quad (6.1)$$

όπου $r(x) = (r_1(x), r_2(x), \dots, r_m(x))^T$.

Ο γενικός αλγόριθμος της επίλυσης του προβλήματος των ελαχίστων τετραγώνων απαιτεί την εύρεση κατάλληλου διανύσματος p ώστε να πληρείτε η γραμμική εξίσωση

$$\nabla^2 g(x) \cdot p = -\nabla g(x) \quad (6.2)$$

Με τον τρόπο αυτό ουσιαστικά ο υπολογισμός της ελάχιστης τιμής της συνάρτησης g που αναπαριστά το ολικό σφάλμα της f ως προς τα δεδομένα A , απαιτεί τον υπολογισμό μόνο των παραγώγων πρώτης τάξης αντί των παραγώγων δεύτερης τάξης που χρειάζεται η γενική μέθοδος βελτιστοποίησης με τη χρήση του Εσσιανού πίνακα.

Η σχέση 6.1 δίνει

$$\nabla g(x) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m 2r_i(x) \nabla r_i(x)$$

Ισοδύναμα

$$\nabla g(x) = \nabla r(x) r(x)$$

Παραγωγίζοντας δεύτερη φορά

$$\nabla^2 g(x) = \nabla r \cdot (\nabla g(x))$$

Ισοδύναμα

$$\nabla^2 g(x) = \nabla r (\nabla g(x))$$

Τελικά

$$\nabla^2 g(x) = \nabla^2 r \cdot r + \nabla r \cdot \nabla r \quad (6.3)$$

6.2.3 Μέθοδος Gauss-Newton

Η μέθοδος Gauss-Newton χρησιμοποιεί τα αποτελέσματα των ελαχίστων τετραγώνων σε διαδοχικά στάδια αλλά πρώτα χρειάζεται να βρούμε κάποιες αρχικές τιμές για τις παραμέτρους της παλινδρόμησης. Οι τιμές αυτές μπορούν να προέρχονται από προηγούμενες ίσως μελέτες ή από δικές μας θεωρητικές προσδοκίες και είναι πολύ σημαντικό να κάνουμε μια καλή επιλογή τους, ώστε η βέλτιστη λύση να βρεθεί γρηγορότερα και να αποτελούν ολικό και όχι τοπικό ελάχιστο.

Ας υποθέσουμε $x_* = (x_{1*}, x_{2*})$ είναι η βέλτιστη λύση που δίνει η μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων. Ιδανικά $f_i(x_*) = 0$. Από το οποίο προκύπτει

$$r(x_*) = 0$$

Ισοδύναμα από την εξίσωση 6.3 προκύπτει

$$\nabla^2 g(x_*) = 0$$

Εφόσον $r(x_*) = 0$ είναι λογικό να υποθέσουμε ότι $r(x) \simeq 0$ σε μια περιοχή Δ γύρω από το x_* .

Για $x \in \Delta$ ισχύει ότι

$$\nabla^2 g(x) \simeq \nabla r(x) \nabla r(x)$$

Επομένως η εξίσωση 6.2 γράφεται

$$\nabla r \cdot \nabla r^T \cdot p = -\nabla r \cdot r$$

στην περιοχή Δ .

6.2.4 Μέθοδος Levenberg-Marquardt

Μια άλλη μέθοδος που χρησιμοποιείται για τα προβλήματα ελαχιστοποίησης των ελαχίστων τετραγώνων, είναι η μέθοδος Levenberg-Marquardt. Για να ξεκινήσει η ελαχιστοποίηση, πρέπει να παρέχεται μια αρχική υπόθεση για το διάνυσμα των παραμέτρων.[28]

Η μέθοδος Levenberg-Marquardt θεωρεί ότι η ποσότητα $r \cdot \nabla^2 r$ από την εξίσωση 6.3 είναι ένας διαγώνιος πίνακας με μια ιδιοτιμή λ , δηλαδή

$$r \cdot \nabla^2 r \simeq \lambda I$$

Συνεπώς η εξίσωση 6.3 γράφεται

$$(\nabla r \nabla r + \lambda I)p = -\nabla r \cdot r \quad (6.4)$$

στην περιοχή Δ

6.3 Ταξινόμηση χημικής καρκινογένεσης

6.3.1 SVM Classification

Στο τρέχον κεφάλαιο έχουμε σαν στόχο την παραγωγή ερμηνεύσιμης γνώσης από την κατηγοριοποίηση μέσω του αλγορίθμου SVM. Οι Μηχανές Διανυσμάτων Υποστήριξης (SVMs) χρησιμοποιούνται κυρίως για κατηγοριοποίηση και μη-γραμμική παλινδρόμηση. Το πρόβλημα της ταξινόμησης (classification) συνίσταται στην εκμάθηση μιας συνάρτησης στόχου ικανής να αντιστοιχεί άγνωστα αντικείμενα σε προκαθορισμένο σύνολο κατηγοριών.

Τα SVMs είναι μια επιβλεπόμενη μη παραμετρική στατιστική τεχνική εκπαίδευσης. Η SVM τεχνική χρησιμοποιείται ευρέως και υπερβαίνει την απόδοση των καθιερωμένων μεθόδων αφού ο συντελεστής σφάλματος για τα σύνολα δοκιμών είναι είτε παρόμοιος είτε σημαντικά καλύτερος από εκείνον των ανταγωνιστικών μεθόδων. Οι γραμμικοί ταξινομητές που βασίζονται στην SVM μπορούν εύκολα να επεκταθούν σε μη γραμμικούς ταξινομητές, διευρύνοντας έτσι το πεδίο εφαρμογών της μεθόδου.

Η συνάρτηση κελύφους που χρησιμοποιήθηκε για την περίπτωση του διαχωρισμού κλάσεων ήταν η συνάρτηση RBF Kernel. Η χρήση του RBF kernel (Radial Basis Function) στη μεθολογία ταξινόμησης των SVM προσπαθεί να μετασχηματίσει έναν χώρο δεδομένων σε έναν μεγαλύτερης διάστασης χώρο που είναι γραμμικά διαχωρίσιμος.

Συγκεκριμένα, στην ανά χείρας διατριβή τα αποτελέσματα που προέκυψαν απο την υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης απο τον αλγόριθμό μας είναι οι παραμέτροι (A,B,k) οπου και ερμηνεύουν τέλεια κάθε πειραματόζωο με τη βέλτιστη γραφική παράσταση. Σύμφωνα με αυτές τις παραμέτρους (A,B,k) έγινε εφαρμογή του ταξινομητή SVM με RBF Kernel σε κάθε αναπτυξιακό μοντέλο ξεχωριστά με σκοπό τη μελέτη και τον διαχωρισμό τους βάση των βέλτιστων αποτελεσμάτων. Οι παράμετροι αυτοί φαίνονται να είναι αρκούντως περιγραφικοί γι' αυτό και χρησιμοποιήθηκαν για περαιτέρω μελέτη.

Παρατηρούμε ότι τα μοντέλα ανάπτυξης Brody, Monomolecular και Mitscherlich μεταφράζουν μαθηματικά τα δεδομένα με τον ίδιο ακριβώς τρόπο. Αυτό συμβαίνει καθόσον η θεμελιώδης συνάρτηση ανάπτυξης των μοντέλων αυτών είναι πανομοιότυπη, οπότε είναι λογικό και θεωρητικά αναμενόμενο να συνυπάρχουν στον ίδιο πίνακα, ως συγκλίνουσες μαθηματικές δομές αναπτυξιακής περιγραφής. Εστιαστήκαμε στα εν λόγω μοντέλα (Brody, Monomolecular, Mitscherlich, Compertz και von Bertalanffy) καθόσον τα υπόλοιπα δεν είναι κατάλληλα να περιγράψουν τα δεδομένα μας, εφ' όσον μας δίνουν αποτελέσματα που είναι εκτός των στοιχείων που έχουμε πειραματικά από την ανάπτυξη των όγκων και την μέτρηση της αύξησης των μαζών τους. Συνεπώς όλα τα λοιπά μαθηματικά μοντέλα – εξαιρουμένων των Brody, Monomolecular, Mitscherlich, Compertz και von Bertalanffy – απορρίπτονται λόγω εγγενούς αδυναμίας να προσεγγίσουν τα δεδομένα μας.

Σε αυτό το τμήμα της έρευνας πραγματοποιήσαμε μια προσπάθεια ταξινόμησης και σύγκρισης ανάμεσα στην ανάπτυξη των όγκων της ομάδας ελέγχου που έλαβε μόνο το χημικό πλήρες καρκινογόνο 3,4-βενζοπυρένιο και στην ανάπτυξη των όγκων στις ομάδες των πειραματόζωων, που έλαβαν τα μίγματα του καρκινογόνου με τους αναστολείς της καρκινογένεσης.

Όπως γνωρίζουμε οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ήσαν ενταγμένες σε δύο χημικές ομάδες : 1ον) στην ομάδα των θειολών και 2ον) στην ομάδα των πολυαμινών. Οι θειόλες που χρησιμοποιήσαμε ως αναστολείς ήσαν οι εξής : L-κυστεΐνη, βισμούθειόλη, μερκαπτοηλεκτρικό οξύ, αιθυλεστέρας της κυστεΐνης και διθειοθρεϊτόλη. Οι πολυαμίνες που χρησιμοποιήθηκαν ήσαν οι εξής : αιθυλεν-διαμίνη, κανταβερίνη και πουτρεσκίνη. Επειδή οι μόνες ουσίες που μας έδωσαν σχετικά πολυπληθή δεδομένα ήσαν οι κυστεΐνη, βισμούθειόλη I, μερκαπτοηλεκτρικό οξύ και κανταβερίνη, επιλέ-

Ξαμε αυτές για να μπορέσουμε να ταξινομήσουμε ορθότερα από την μαθηματική – στατιστική πλευρά τα ευρήματά μας, καθόσον εδώ ισχύει ο νόμος των μεγάλων αριθμών, σύμφωνα με τον οποίο ένα δείγμα είναι περισσότερο αντιπροσωπευτικό ως προς το φαινόμενο που εκφράζει, όσο είναι μεγαλύτερο σε άτομα. Ωστόσο πρέπει να σημειώσουμε ότι η βιολογική βάση της μελέτης μας δεν μας δίνει την δυνατότητα να έχουμε ιδιαιτέρως πολυπληθή δείγματα για τους εξής λόγους : 1ον) υπάρχει ηθικός και νομικός περιορισμός στην χρήση πειραματοζώων και 2ον) στον χώρο της πειραματικής βιολογίας όλο και περισσότερο χρησιμοποιούνται ολιγάριθμες ομάδες πειραματοζώων για την εκτέλεση πειραμάτων, καθόσον κάθε ζώο είναι ένα πολυκυτταρικό σύστημα και αυτό ενέχει μια άλλη τοποθέτηση της έννοιας του «ατόμου».

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

7.1 Καμπύλες ανάπτυξης μοντέλων

7.2 Γραφικές παραστάσεις αναπτυξιακών μοντέλων

7.3 Αποτελέσματα SVM Classification

7.1 Καμπύλες ανάπτυξης μοντέλων

Οι καμπύλες ανάπτυξης των μοντέλων είναι παραμετρικές λειτουργίες, που έχουν κατά κύριο λόγο παραμέτρους που σχετίζονται με κάποια μέτρηση του μεγέθους του όγκου και της ηλικίας του οργανισμού. Οι μαθηματικές αυτές προσεγγίσεις των περισσότερων καμπυλών ανάπτυξης δεν αντικατοπτρίζουν τη φύση και τη δυναμική των βιολογικών διεργασιών. Οι καμπύλες ανάπτυξης προσαρμόζονται στα δεδομένα και λαμβάνουν εκτιμήσεις των παραμέτρων τους. Μία κοινή εφαρμογή των καμπυλών ανάπτυξης είναι να καθοριστούν ασυμπτωτικές παράμετροι [29]. Οι στόχοι της προσέγγισης αυτής της μοντελοποίησης της ανάπτυξης είναι να βρεθεί μια κατάλληλη οικογένεια λειτουργιών ανάπτυξης που να αντιπροσωπεύουν ένα σύνολο διαχρονικών μετρήσεων, να κάνουν βέλτιστη εκτίμηση των παραμέτρων ανάπτυξης με την τοποθέτηση μιας συνάρτησης, να αξιολογούν την προσαρμογή και να προβλέπουν τη μελλοντική ανάπτυξη.[20]

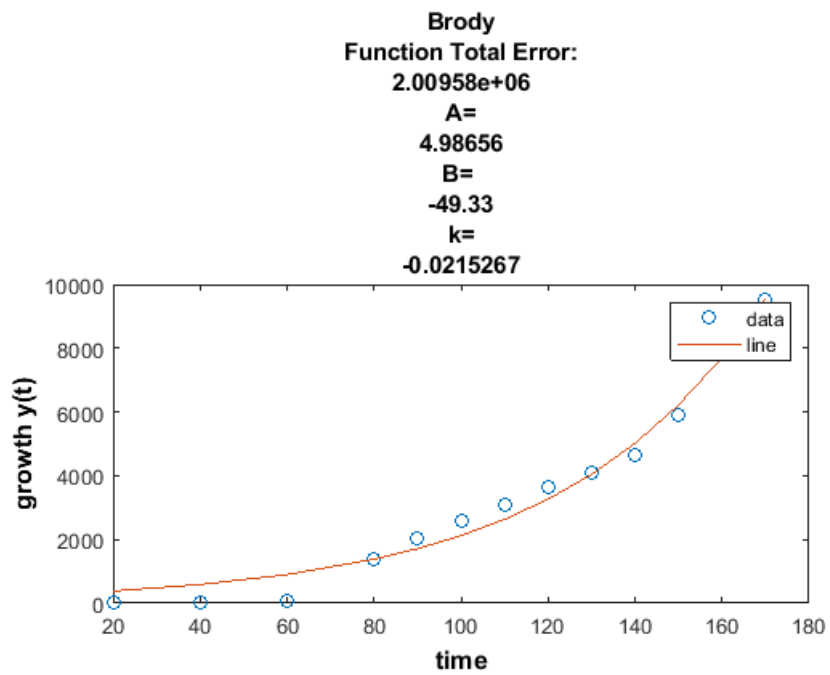
7.2 Γραφικές παραστάσεις αναπτυξιακών μοντέλων

Στην παρούσα ενότητα θα παραθέσουμε γραφικές παραστάσεις που παράχθηκαν από τον αλγόριθμο του προηγούμενου κεφαλαίου. Οι γραφικές αυτές παραστάσεις αποτελούν την μοντελοποίηση της χημικής καρκινογένεσης σε συνδυασμό με το χρόνο που έζησαν τα πειραματόζωα μας σύμφωνα με τα μοντέλα Particular case of Logistic, Richards, Von Bertalanffy, Brody, Logistic, Gompertz, Weibull, Monomolecular, Mitscherlich και Linear[25].

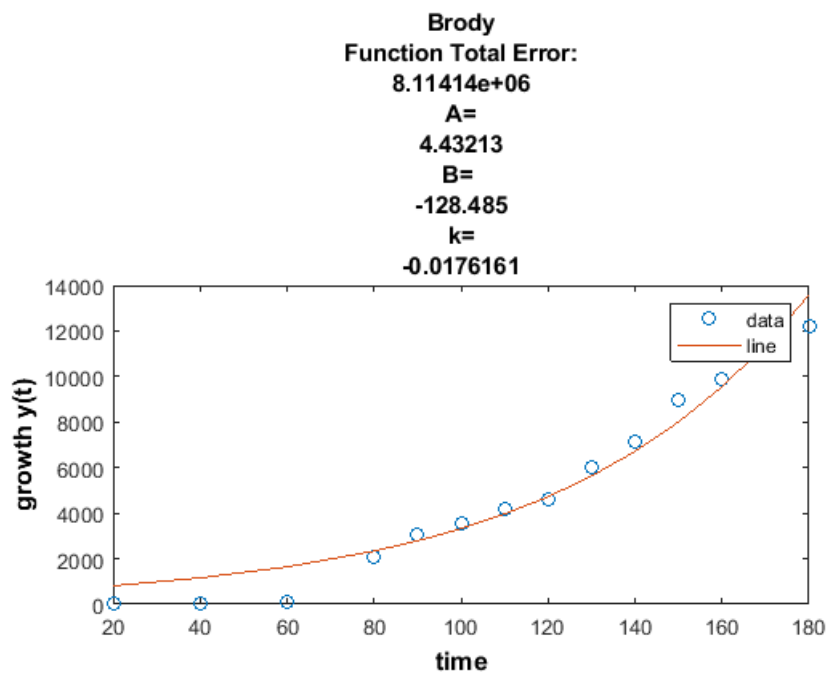
Όπως προαναφέραμε οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ήσαν ενταγμένες σε δύο χημικές ομάδες : 1ον) στην ομάδα των θειολών και 2ον) στην ομάδα των πολυαμινών. Οι θειόλες που χρησιμοποιήσαμε ως αναστολείς ήσαν οι εξής : L-κυστεΐνη, βισμούθειόλη, μερκαπτοηλεκτρικό οξύ, αιθυλεστέρας της κυστεΐνης και διθειοθρεϊτόλη. Οι πολυαμίνες που χρησιμοποιήθηκαν ήσαν οι εξής : αιθυλεν-διαμίνη, κανταβερίνη και πουτρεσκίνη. Επιλέξαμε όλες τις ουσίες προς μοντελοποίηση και τις εξετάσαμε σύμφωνα με όλα τα μοντέλα. Συγκεκριμένα, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το μοντέλο Brody μοντελοποιεί με τον πιο βέλτιστο τρόπο την χημική καρκινογένεση.

Ενδεικτικά γραφικές παραστάσεις με βέλτιστη προσέγγιση παραμέτρων κάθε αναστολής.

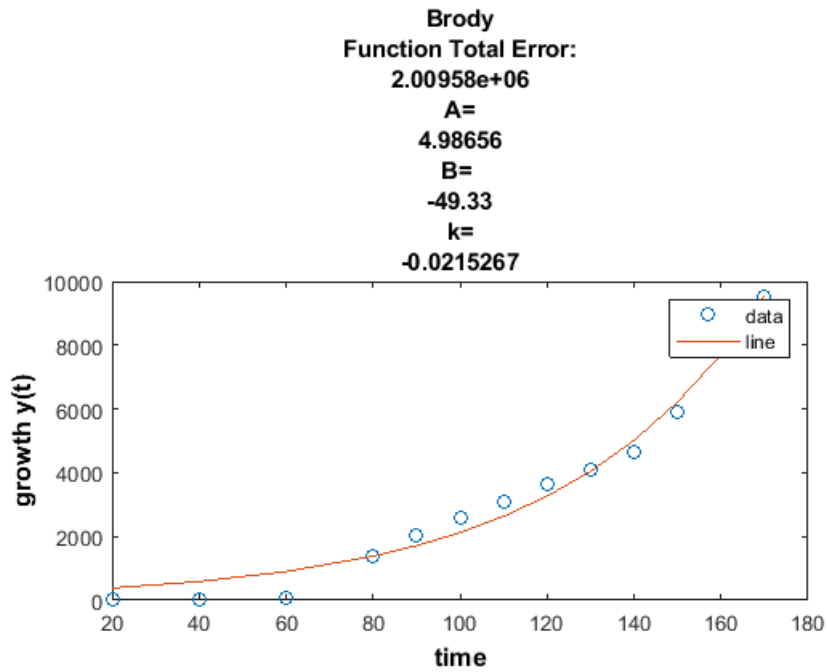
1. Ομάδα Ελέγχου 3,4 B[a]P



Σχήμα 7.1: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

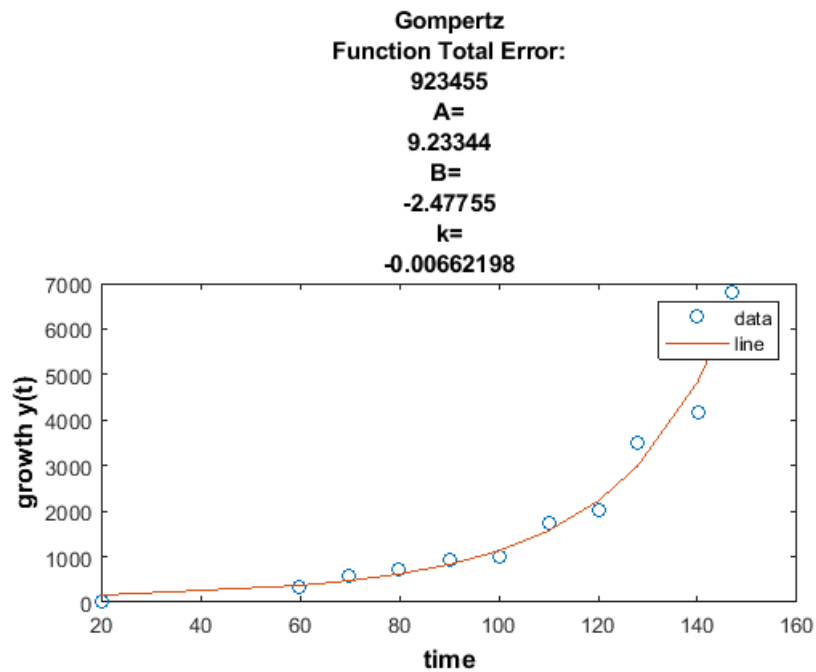


Σχήμα 7.2: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



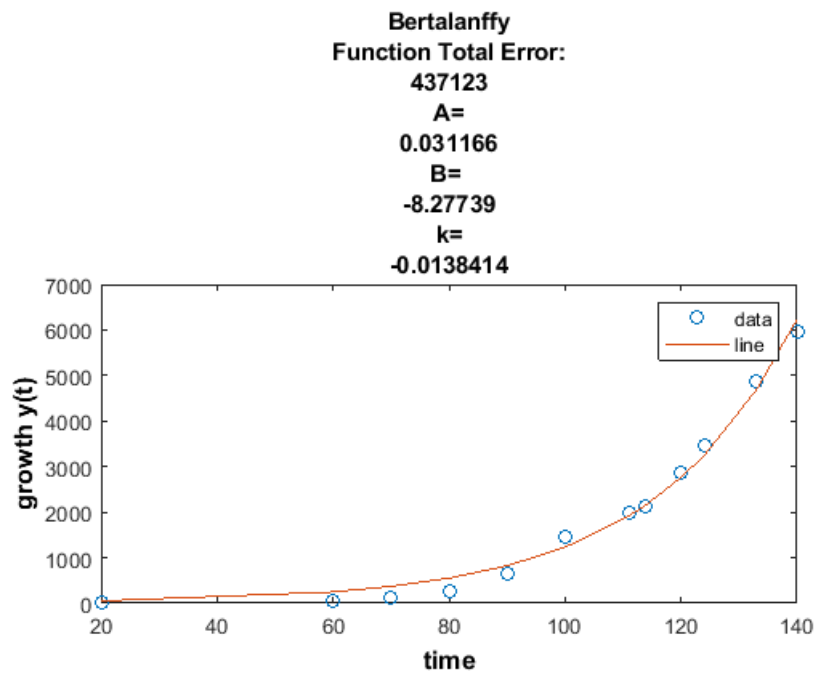
Σχήμα 7.3: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

2. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω αιθυλενοδιαμίνης (ETHDMN-1)

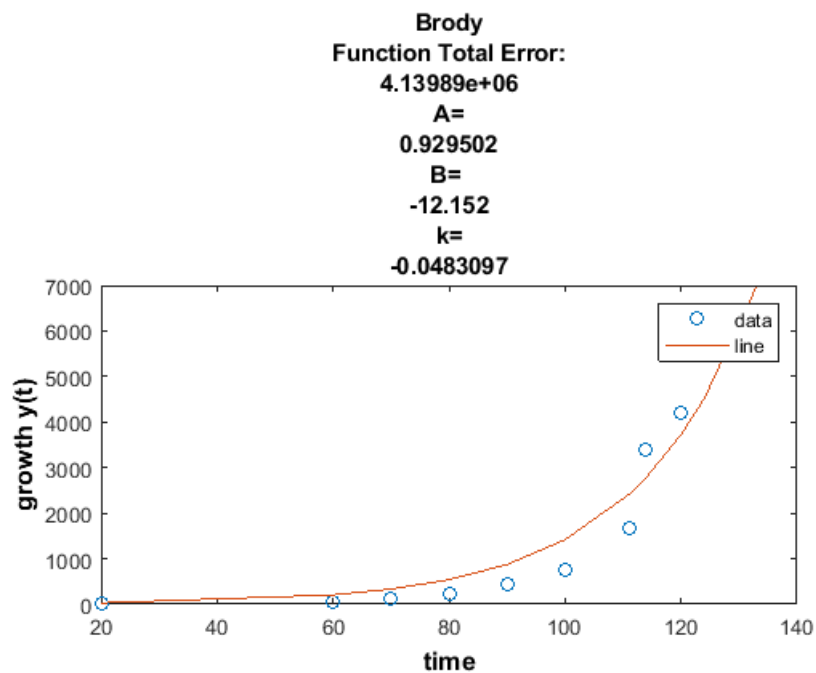


Σχήμα 7.4: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

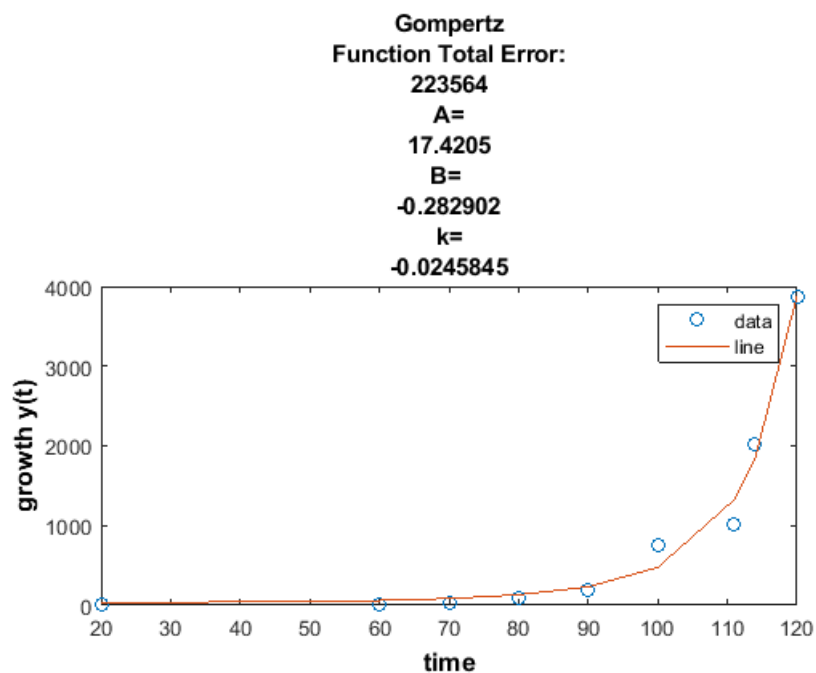
3. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω κανταβερίνης (CDVRN-2)



Σχήμα 7.5: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

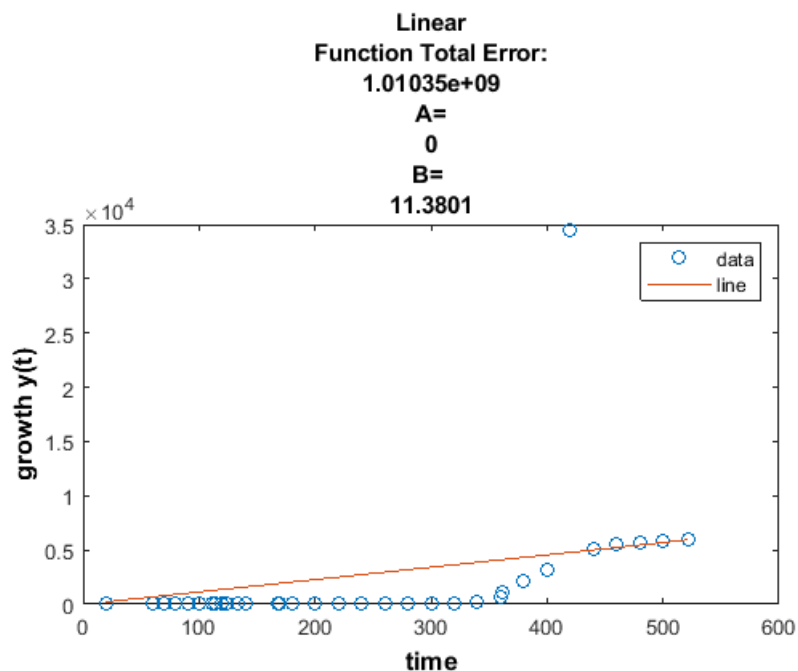


Σχήμα 7.6: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



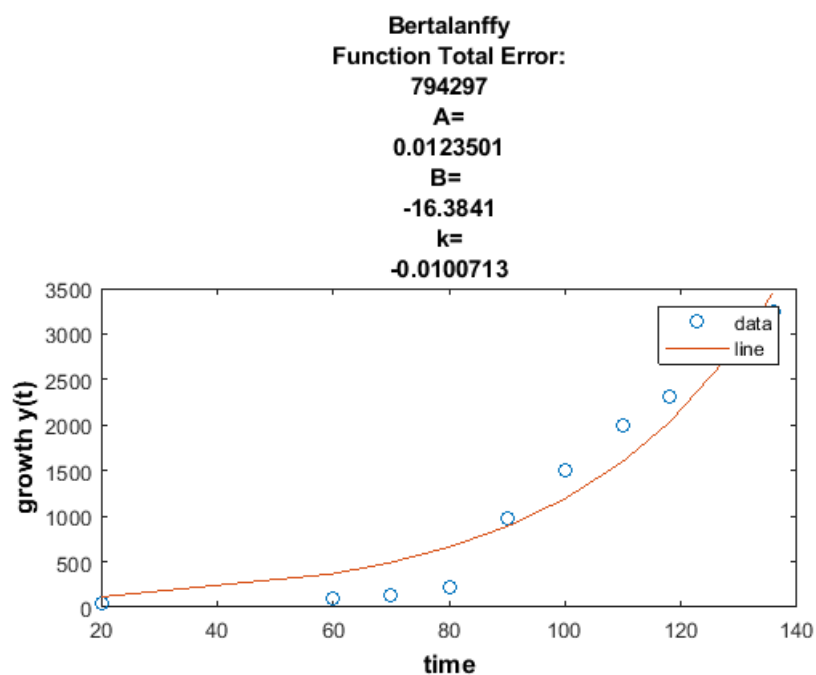
Σχήμα 7.7: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

4. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω πουτρεσκίνης (PTRSCN-3)

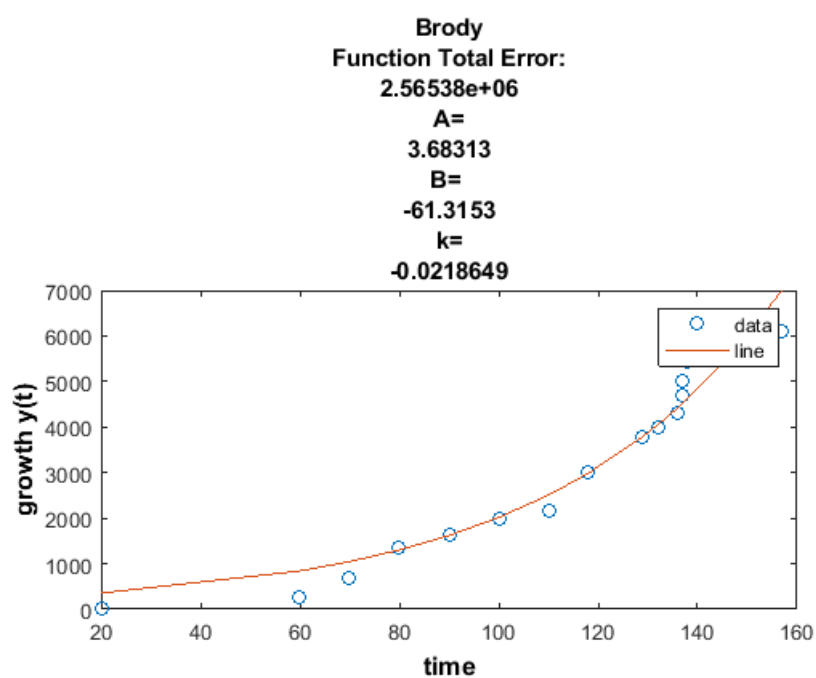


Σχήμα 7.8: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

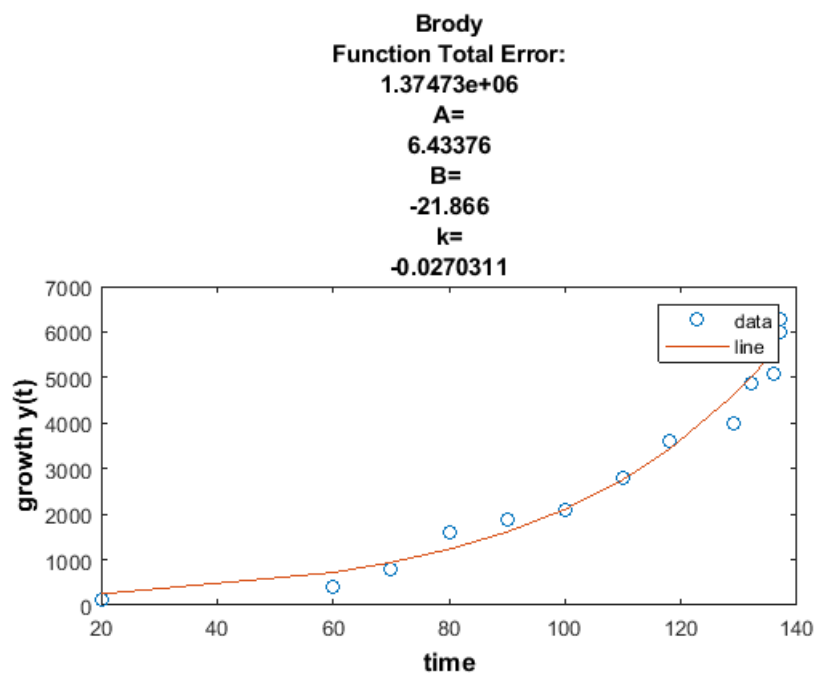
5. Ομάδα βισμούθειόλης-I (Bismuthiol-I)



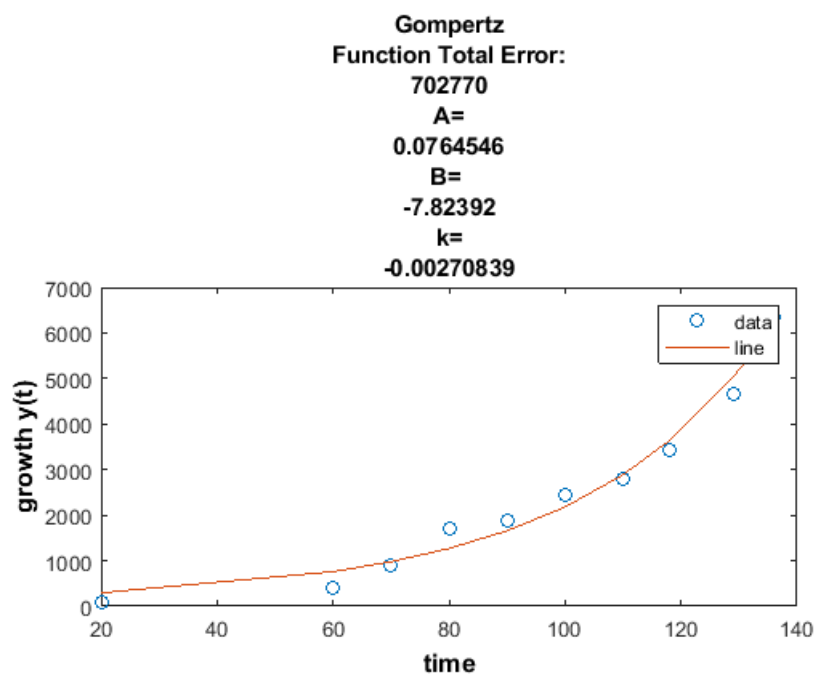
Σχήμα 7.9: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα 7.10: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

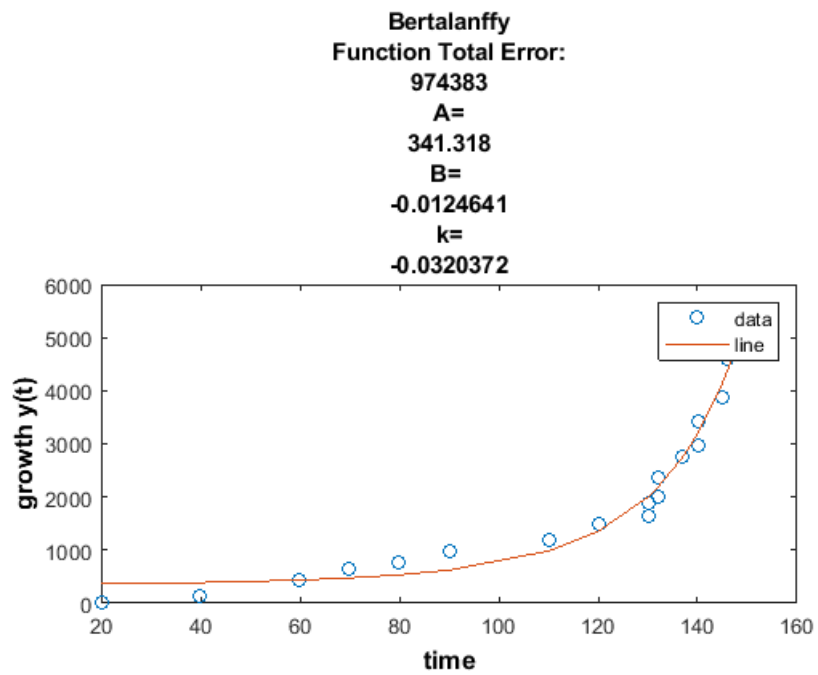


Σχήμα 7.11: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

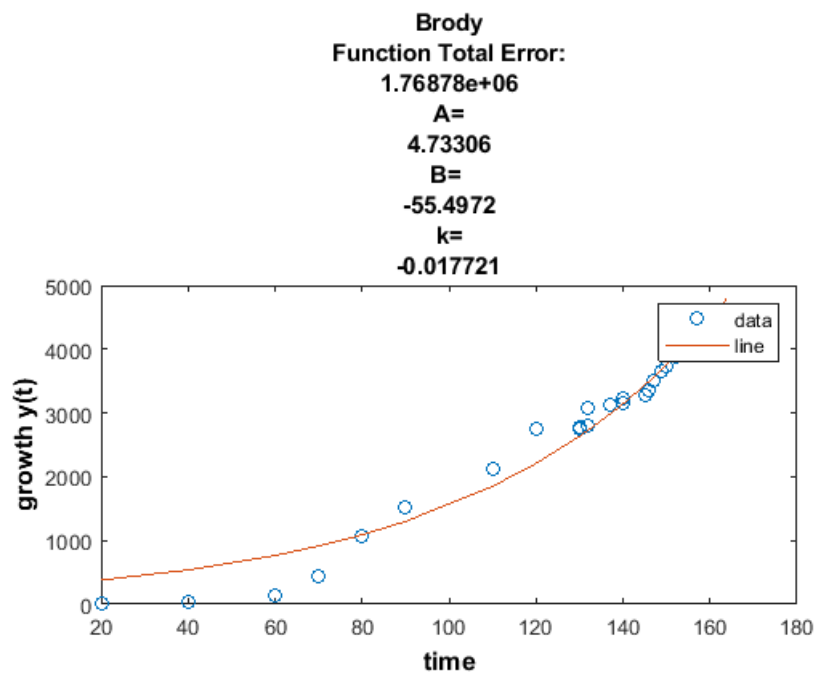


Σχήμα 7.12: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

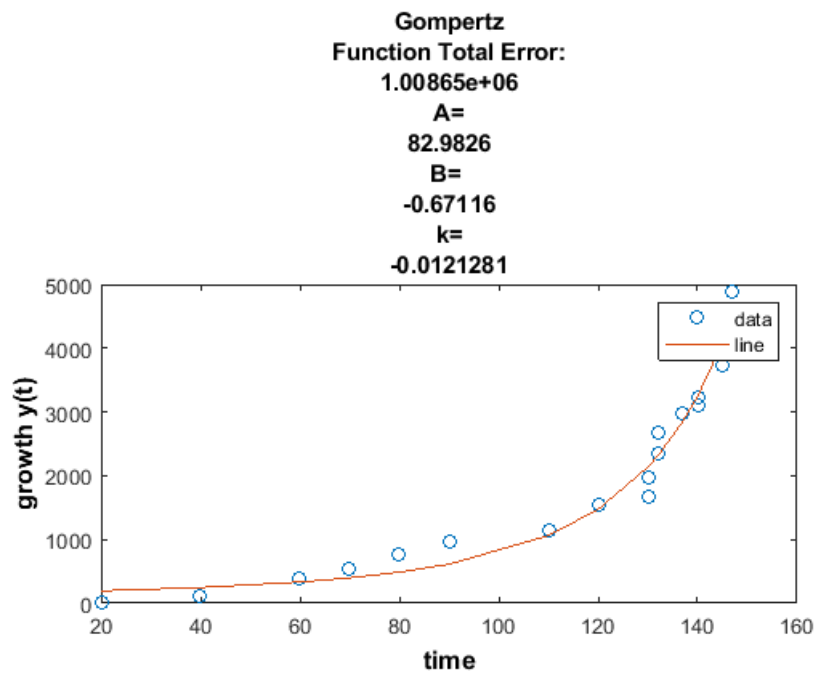
6. Ομάδα L-κυστεΐνης (L-Cystein)



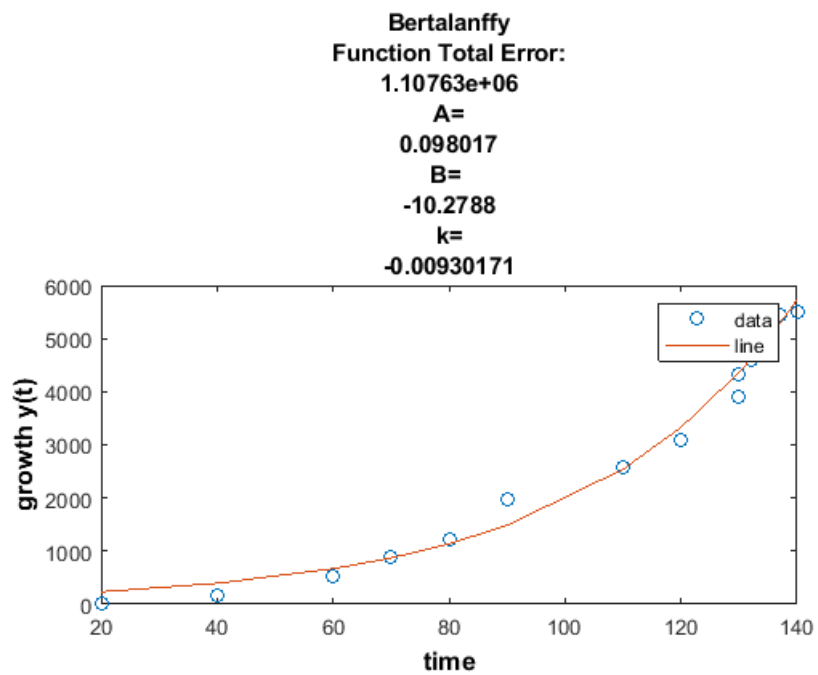
Σχήμα 7.13: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



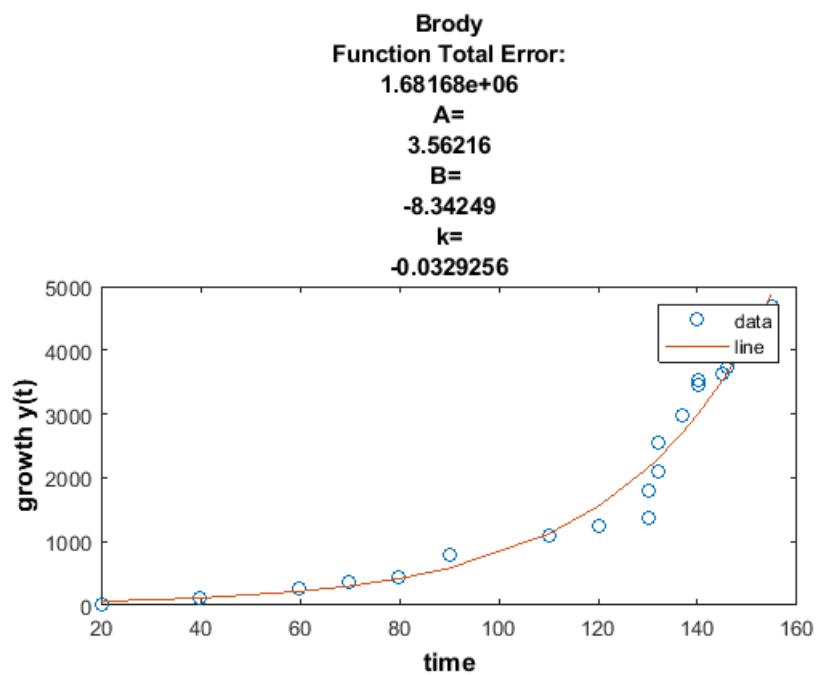
Σχήμα 7.14: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



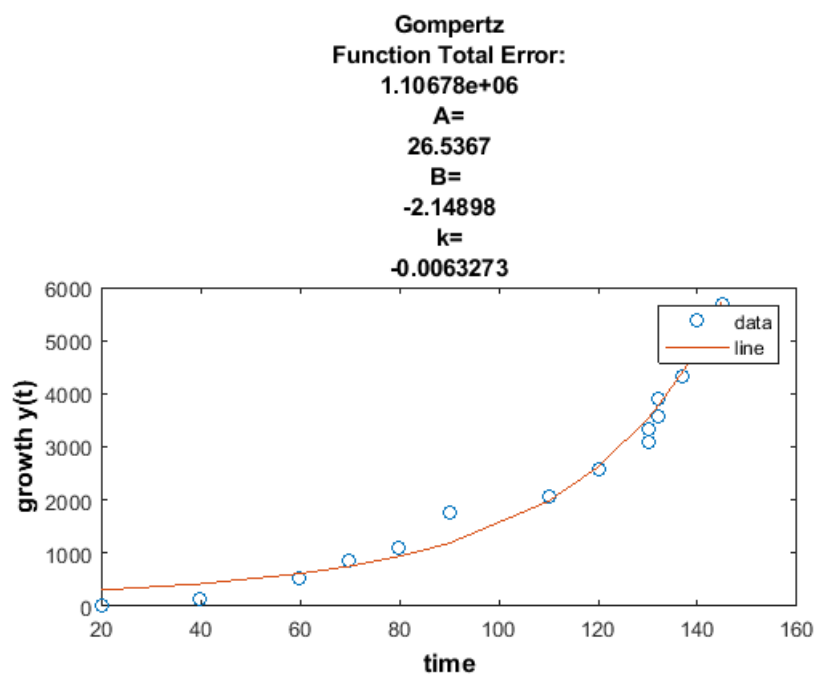
Σχήμα 7.15: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



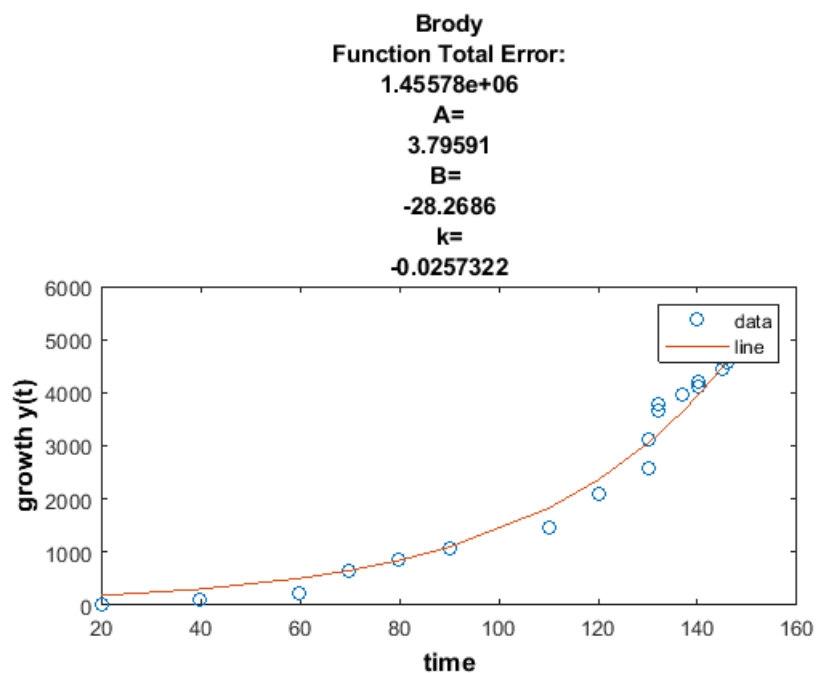
Σχήμα 7.16: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



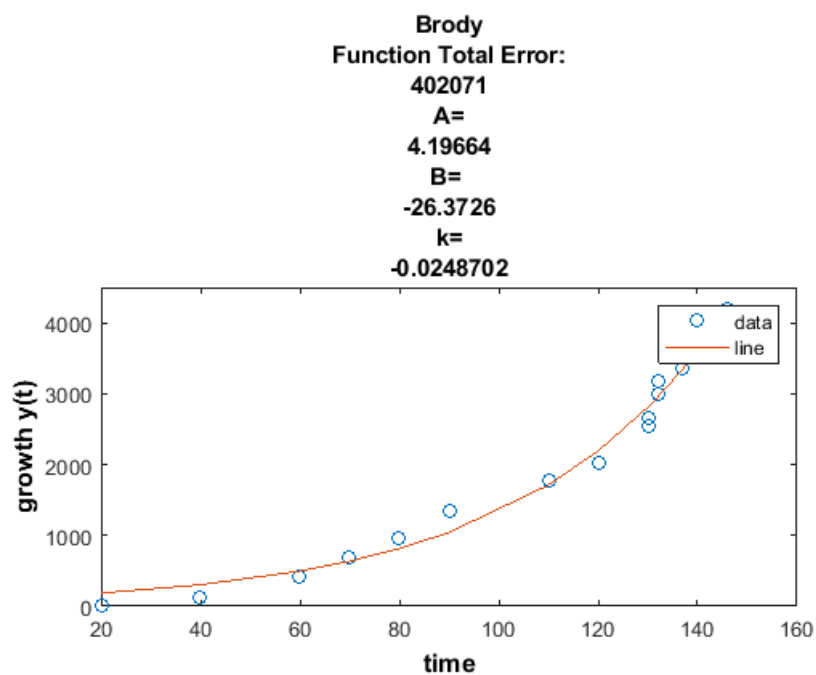
Σχήμα 7.17: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα 7.18: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

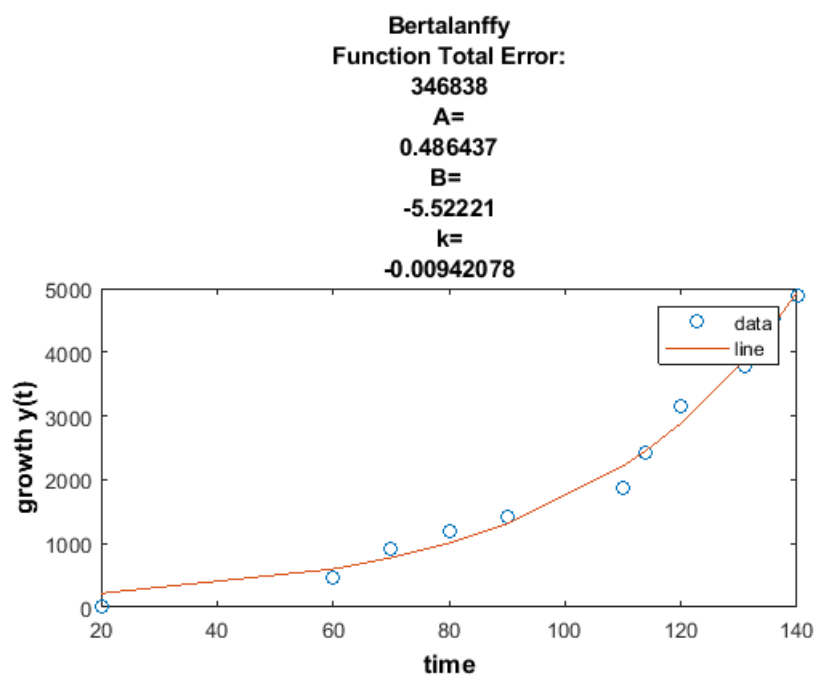


Σχήμα 7.19: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

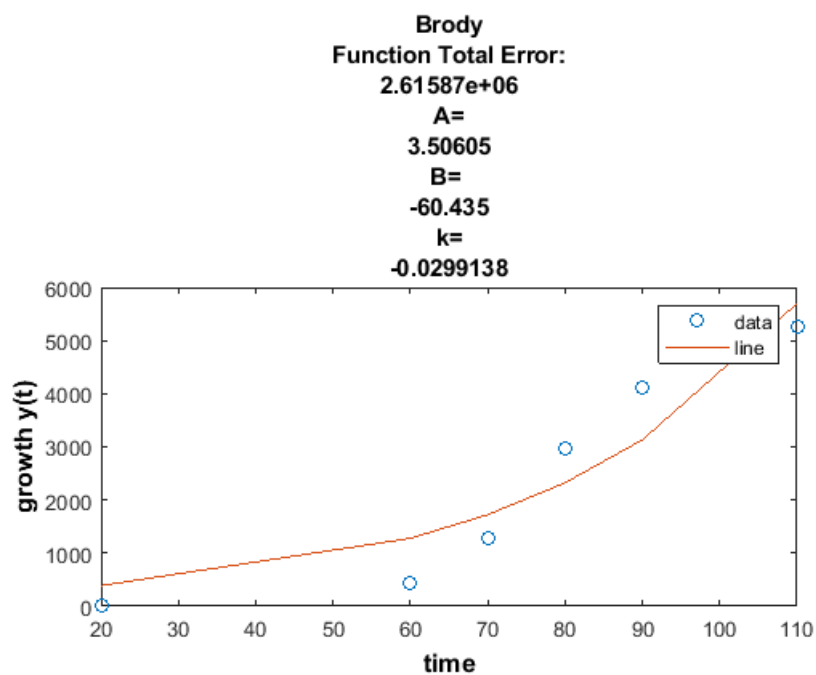


Σχήμα 7.20: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

7. Ομάδα αιθυλικού εστέρος της L-κυστεΐνης (L-Cystein-Ethylester)

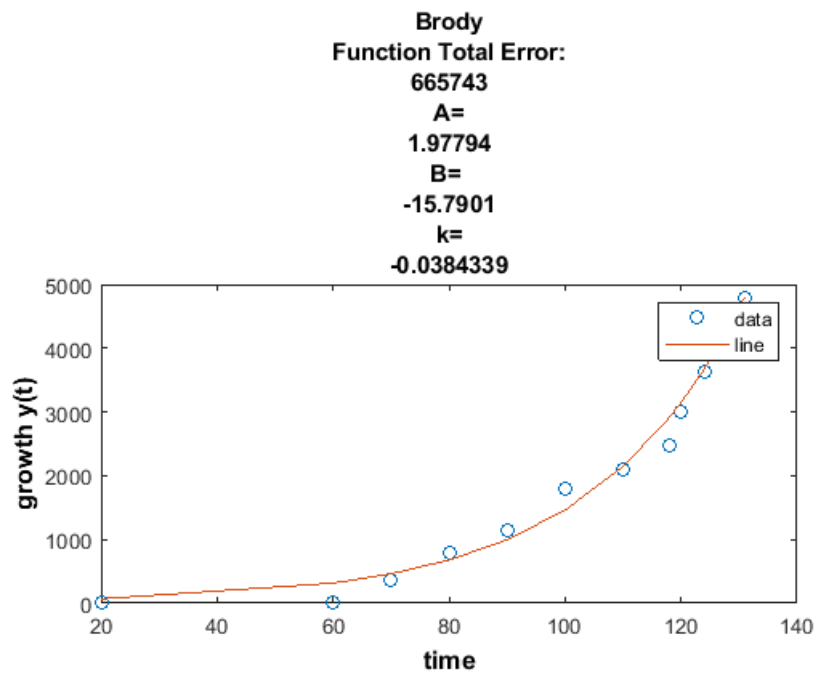


Σχήμα 7.21: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

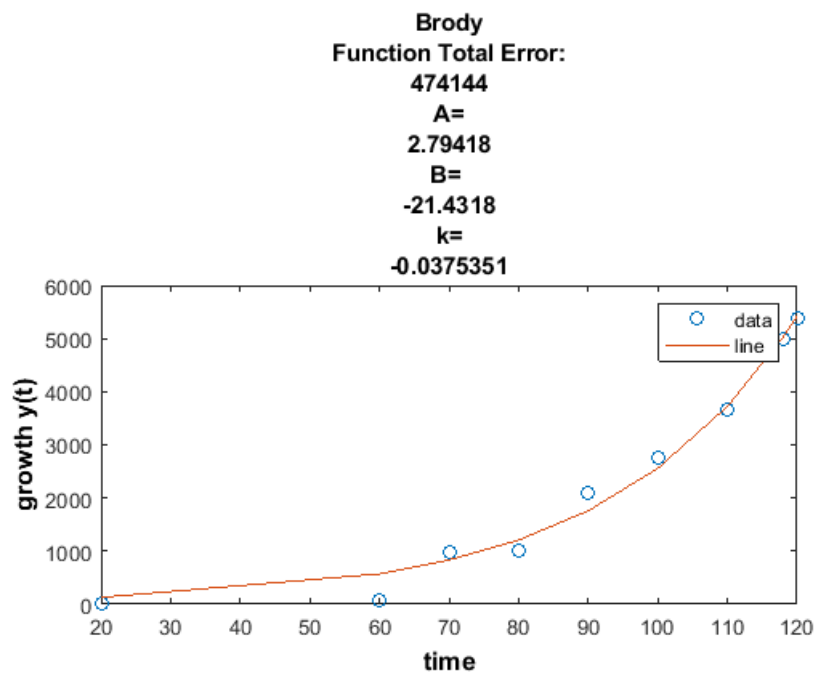


Σχήμα 7.22: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

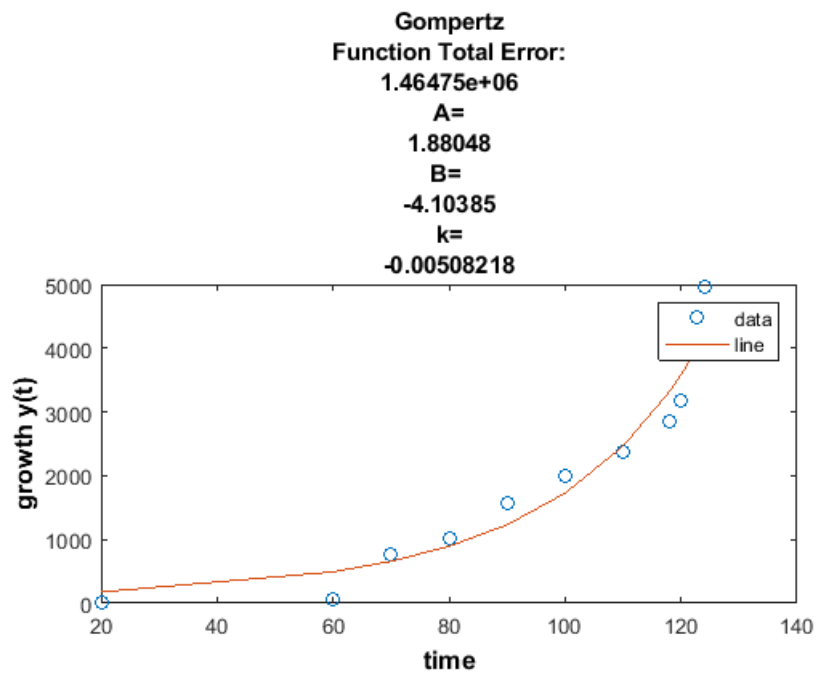
8. Ομάδα μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (Mercaptosuccinic Acid)



Σχήμα 7.23: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

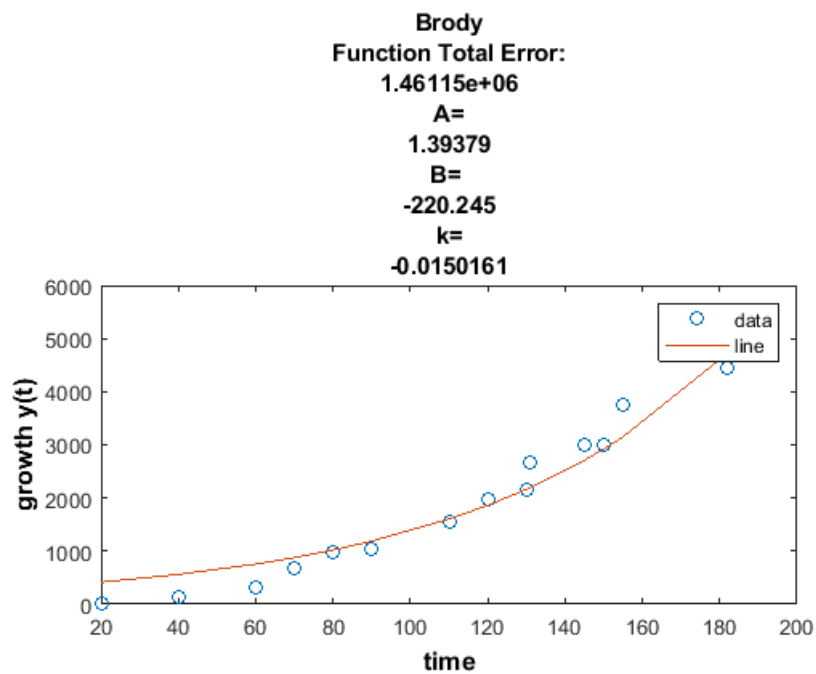


Σχήμα 7.24: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

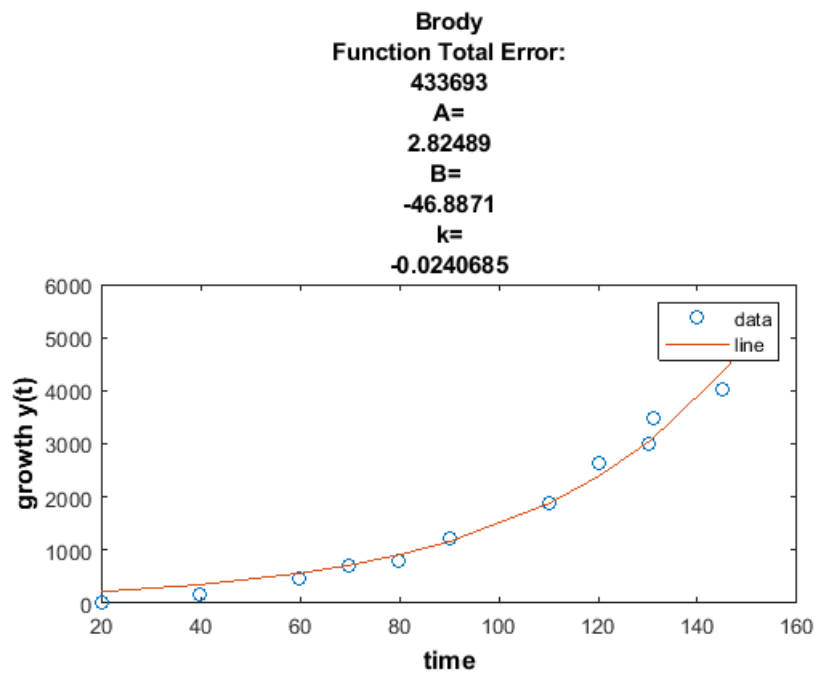


Σχήμα 7.25: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

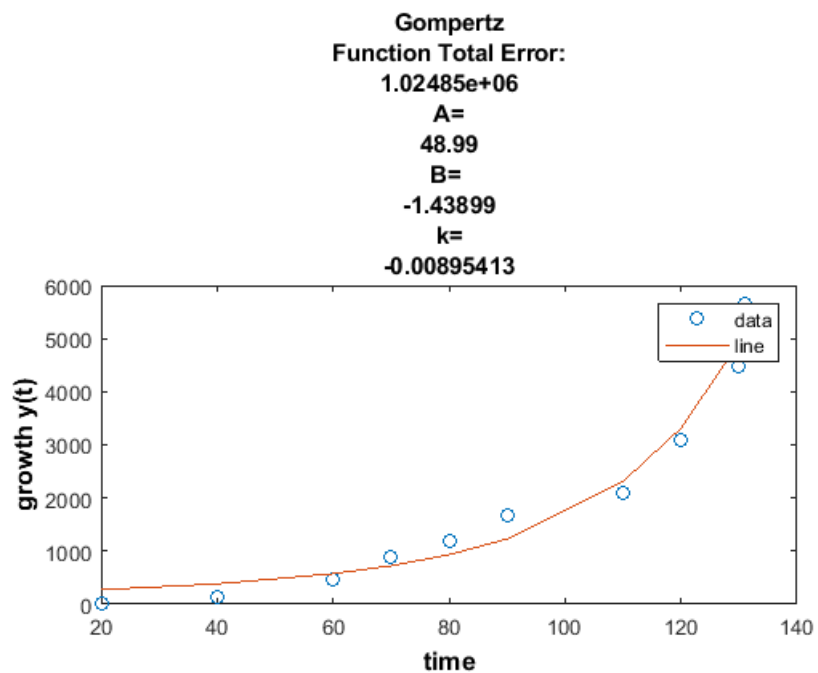
9. Ομάδα διθειοθρεϊτόλης (Dithiothreitol)



Σχήμα 7.26: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

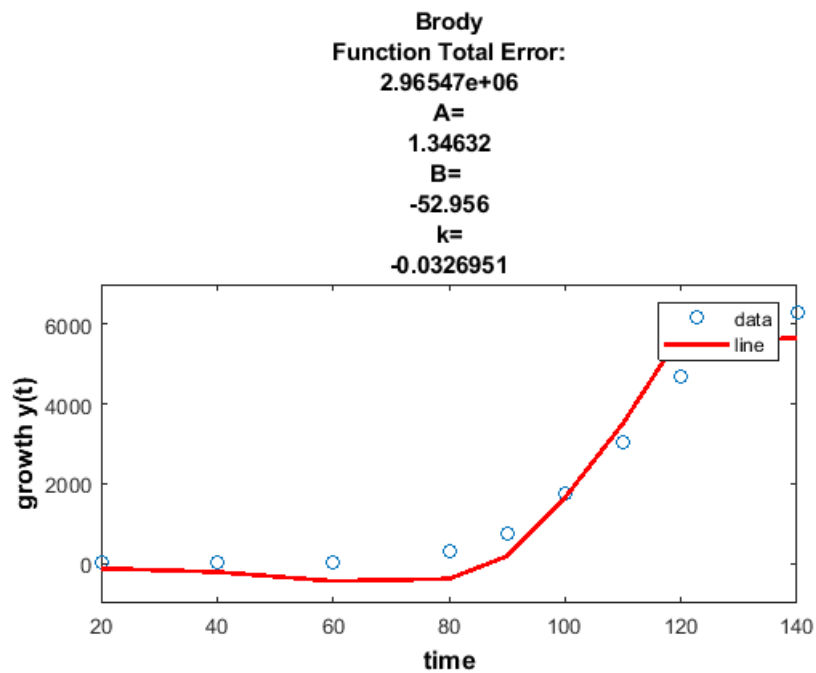


Σχήμα 7.27: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

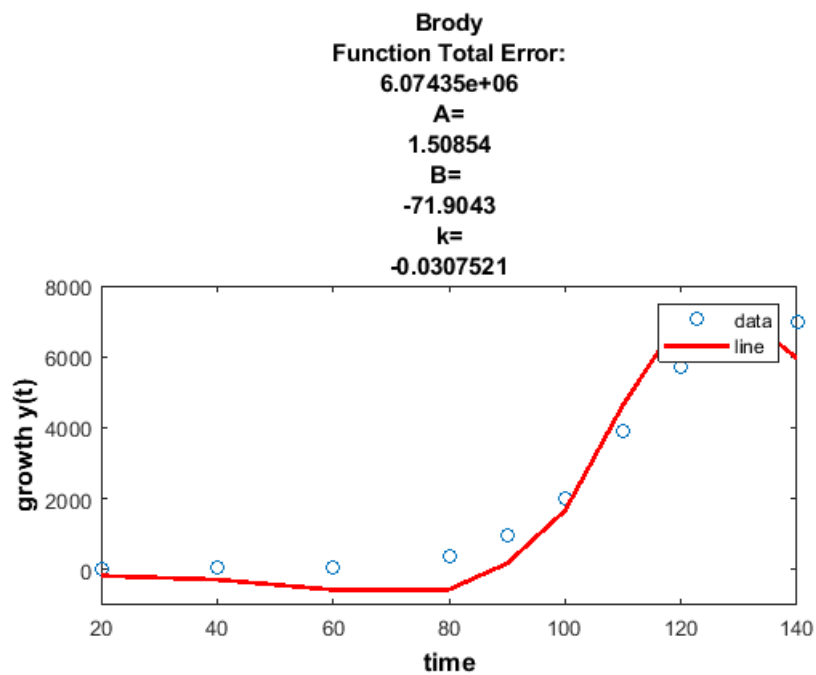


Σχήμα 7.28: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

10. Ειδικές περιπτώσεις καμπυλών ομοιοστασίας



Σχήμα 7.29: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα 7.30: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

Στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο που σχεδιάστηκε κατά τρόπο ώστε να υπάρχει θάνατος του πειραματόζωου από πειραματική νόσο (ραγδαία αύξηση όγκου)

δεν είναι δυνατόν να υπάρξει σιγμοειδής εξέλιξη της αύξησης του όγκου, διότι δεν πραγματοποιήθηκε αυτό λόγω σκόπιμης επιλογής του ενδεδειγμένου πρωτοκόλλου.

Επιπλέον πρέπει να αναφέρουμε ότι δεν χρησιμοποιήθηκε θεραπευτική παρέμβαση, δηλαδή χημειοθεραπεία, ακτινοβολήση ή και χειρουργική αφαίρεση του όγκου διότι ο σκοπός του πειράματος ήταν η απόδειξη ότι οι εν λόγω όγκοι εκ χημικής καρκινογένεσης οδηγούν στο θάνατο. [30]

Κύριος στόχος του πειράματος ήταν η απόδειξη το κατά πόσο συγκεκριμένες ουσίες με καθορισμένα χημικά χαρακτηριστικά είναι σε θέση να αναστείλουν την καρκινογόνο δράση του B[a]P. Αυτός ο στόχος επιτεύχθηκε με ακρίβεια.

Όμως η διεθνής νομοθεσία πειραματισμού (συμφωνία του Ελσίνκι, 1979, και οι περαιτέρω συμφωνίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, π.χ. Λισαβόνα, 2005), απαγορεύουν ρητά τη χρήση μεγάλων αριθμών πειραματόζων. Ο μέγιστος αριθμός πειραματόζων δεν μπορεί να υπερβεί τα 50 πειραματόζωα (άτομα) ει μη μόνον όταν πρόκειται περί στρατιωτικής έρευνας, όπου το πρωτόκολλο αποφασίζει από τις στρατιωτικές ερευνητικές υπηρεσίες. Η στρατιωτική έρευνα επί πειραματόζων διέπεται από σχετικές στρατιωτικές νομοθεσίες, οι οποίες ακολουθούν το πλαίσιο των διεθνών συμφωνιών που προαναφέρθηκαν.

Εδώ πρέπει να αναφέρουμε ότι στον καρκίνο του ανθρώπου η επικράτηση καμπυλών σταθεροποίησης του μεγέθους και της μεταστατικές διασποράς των κακοήθων όγκων υφίσταται σε περιπτώσεις όπου τα θεραπευτικά μέσα (χημειοθεραπεία, χειρουργική αφαίρεση όγκου και χρήση ακτινοβολιών) τελεσφορούν. Ενώ στον κλινικό καρκίνο του ανθρώπου, σε περιπτώσεις μεγαλύτερες του 4ου σταδίου, η επικρατούσα άποψη είναι ότι ο θάνατος του ασθενούς σταδιακά είναι βέβαιος. Μπορεί απλώς να υπάρξει παράταση της ζωής με σχετικά καλή ποιότητα ζωής. Αυτή η παράταση οφείλεται στα συνολικά θεραπευτικά μέσα και δηλώνεται με τον όρο "Νοσοκομειακός Παράγων". Ωστόσο, οι ασθενείς αποθνήσκουν καθόσον οι όγκοι τους δεν σταθεροποιούνται αλλά αυξάνονται διαρκώς. Συνεπώς, η πραγματική περιγραφή της νόσου δεν είναι σιγμοειδής, αλλά η καμπύλη του οροπεδίου (πλατό) έχει κλήση ανοδική[31].

Η σιγμοειδής καμπύλη στη φυσιολογία και στην αντιρροπούμενη παθοφυσιολογία

δείχνουν το φαινόμενο της ομοιοστασίας, συμφώνως με το οποίο ο οργανισμός προσαπεί να προσαρμοστεί στις διαταραχές των εσωτερικών του παραμέτρων προκείμενου να επιβιώσει, υπό συνθήκες stress. Το σύνδρομο αυτό, που αναπαρίσταται από μαθηματικά σιγμοειδή καμπυλών ονομάζεται σύνδρομο "Προσαρμογής". Ωστόσο επειδή ο οργανισμός είναι θνητός, κάποια στιγμή το σύνδρομο προσαρμογής κάμπτεται και ο οργανισμός πεθαίνει. Αν δεν συνέβαινε αυτό ο άνθρωπος και τα υπόλοιπα έμβια όντα θα ήταν αθάνατα. Έτσι και εδώ στα αποτελέσματα των πειράματων μας περιμένουμε μη σιγμοειδή καμπύλη. Παρατηρούμε επίσης ότι το μοντέλο Brody κυριαρχεί στα αποτελέσματα της υπολογιστικής αναπαράστασης [32].

Στα ιατρικά μας πειράματά πρέπει να σημειωθεί ότι όλα τα ποντίκια είναι θηλυκά και όπως προαναφέραμε για την συσχέτιση του ανθρώπου με το συγκεκριμένο πειραματόζωο, τελειοποιώντας αυτά τα πειράματα και αν οι έρευνες συνεχιστούν θα μπορούσαν να βοηθήσουν σημαντικά στην ανθρωπότητα, κατασκευάζοντας κατάλληλα συμπληρώματα διατροφής για να καταπολεμηθεί η χημική καρκινογένεση αλλά και να είναι πλήρης η αναστολή της. [33] [34]

7.3 Αποτελέσματα SVM Classification

Η εφαρμογή των αναπτυξιακών μοντέλων Brody, Monomolecular, Mitscherlich, Compertz και von Bertalanffy, στη διαδικασία ταξινόμησης, κατά την περιγραφή της ανάπτυξης των κακοήθων πειραματικών όγκων, δίνει μια σειρά δεδομένων τα οποία είναι ικανοποιητικά για την εξαγωγή συμπερασμάτων μας.

	B[a]P+ L-Cysteine	B[a]P+ Bismuthiol I	B[a]P+ Mercaptosuccinic acid	B[a]P+ Cadaverine	Όλες οι Αναστολές
B[a]P	78%-82%	79%-85%	81%-85%	88%-91%	71%-74%

Πίνακας 7.1: Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM μοντέλων Brody, Monomolecular και Mitscherlich.

	B[a]P+ L-Cysteine	B[a]P+ Bismuthiol I	B[a]P+ Mercaptosuccinic acid	B[a]P+ Cadaverine	Όλες οι Αναστολές
B[a]P	58%-64%	78%-82%	68%-70%	89%-91%	58%-62%

Πίνακας 7.2: Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM του μοντέλου Gompertz.

	B[a]P+ L-Cysteine	B[a]P+ Bismuthiol I	B[a]P+ Mercaptosuccinic acid	B[a]P+ Cadaverine	Όλες οι Αναστολές
B[a]P	79%-80%	77%-81%	62%-65%	81%-85 %	60%-65%

Πίνακας 7.3: Πίνακας αποτελεσμάτων ποσοστών ακρίβειας με ταξινόμηση SVM του μοντέλου Von Bertalanffy.

Το συμπέρασμα που καταλήγουμε είναι ότι το αναπτυξιακό μοντέλο Brody για ακόμη μια φορά προσεγγίζεται τέλεια από τα δεδομένα μας κάνοντας τον καλύτερο διαχωρισμό μεταξύ των κλάσεων των προαναφερόμενων αναστολών και της ουσίας 3,4-βενζοπυρένιο της χημικής καρκινογένεσης με βάση τον ταξινομητή SVM με RBF Kernel.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Γενικά από την έρευνα μας υπάρχουν δύο τύποι συμπερασμάτων: τα βιολογικά και τα υπολογιστικά. Αναγκαστικά τα υπολογιστικά βασίζονται επί των βιολογικών. Ωστόσο είναι σαφές ότι εμείς αναπτύσσουμε μαθηματικά εργαλεία που θέλουμε να έχουν μελλοντική πειραματική εφαρμογή επί πειραματόζων προκειμένου να ελαχιστοποιήσουμε στο έπακρο την χημική καρκινογένεση. Δηλαδή, η επιστημονική μας προσπάθεια στρέφεται στην εφαρμογή παρά το γεγονός ότι περνά μέσα από την καθαρή επιστήμη.

Σε ότι αφορά το υπολογιστικό κομμάτι παρατηρούμε συμπερασματικά τα εξής:

1. Σε ό,τι αφορά την περιγραφή της καρκινογένεσης από B[a]P το μοντέλο Brody περιγράφει με ακρίβεια το 80% της ανάπτυξης όγκων στα πειραματόζωα μας.
2. Το μοντέλο Gompertz επειδή ακριβώς περιγράφει την ανάπτυξη κακοήθους όγκου μόνο στο 10% των πειραματόζων, φαίνεται ότι έχει περιορισμένη εμβέλεια περιγραφής. Ωστόσο, από το σύνολο των 300 καρκινοπαθών ζώων το 10% που περιγράφονται με το μοντέλο αυτό ενδεχομένως να έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στους κακοήθεις όγκους που ανέπτυξαν. Συνεπώς στο σημείο αυτό πρέπει να γίνει μια βιολογικού τύπου εμβάθυνση των χαρακτηριστικών των όγκων με αναδρομική ανάλυση άλλων παραμέτρων. Πιθανότατα η παθολογοανατομική εικόνα των όγκων πρέπει να χρησιμοποιηθεί για την ερμηνεία αυτή.
3. Σε ό,τι αφορά το μοντέλο Linear αυτό περιγράφει την εξέλιξη της κακοήθους

νόσου σε ελάχιστα πειραματόζωα. Ο αριθμός αυτός είναι επίσης μικρός και πρέπει πάλι να αναζητήσουμε αναδρομικές ερμηνείες στην παθολογοανατομική εικόνα.

4. Το ίδιο ισχύει και για την περίπτωση του μοναδικού ζώου που περιγράφεται από το μοντέλο Logistic.
5. Η μεγάλη μάζα των δεδομένων περιγράφεται πολύ καλά από το μοντέλο Brody και συνεπώς εμείς πρέπει να μελετήσουμε βαθύτερα τη σχέση των παραμέτρων του μοντέλου αυτού με τις παθολογοανατομικές εικόνες των όγκων υπό το πλαίσιο της αναδρομικής ανάλυσης.
6. Στις περιπτώσεις των υπολοίπων μοντέλων με την ελάχιστο περιγραφική ικανότητα φαίνεται να υπάρχει κάποια σύγκλιση αποτελεσμάτων με τα αποτελέσματα του αναπτυξιακού μοντέλου Brody. Αυτό συμπεραίνετε διαισθητικά από την οπτική σύγκριση των τύπων των καμπυλών. Δεν αποκλείεται στο σημείο αυτό να έχουμε μια εφαρμογή του θεωρήματος της "Μη Πληρότητας" του Kurt Gödel.

Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι σύμφωνα με το θεώρημα της "Μη Πληρότητας" σε κάθε οργανωμένο σύστημα μαθηματικού φορμαλισμού, όπως π.χ. τα Principia Mathematica του Bertrand Russell, υπάρχει τουλάχιστον μια μαθηματική πρόταση η οποία δεν μπορεί να διατυπωθεί με το σύστημα κανόνων του φορμαλισμού του θεωρούμενου συστήματος ενώ όμως είναι διαισθητικά σωστή.
7. Επειδή οι κακοήθης όγκοι είναι βιολογικά συστήματα πολύ σημαντικά για την παθολογία του ανθρώπου πρέπει σαφώς να μελετηθεί περαιτέρω σε βάθος και να εντοπιστεί η σύγκληση των ελασσόνων μοντέλων με το μοντέλο Brody. Ωστόσο, θεωρούμε πολύ σημαντικό το γεγονός ότι το μοντέλο Brody περιγράφει καλά τα φαινόμενα της καρκινογένεσης και κυρίως της ανάπτυξης των κακοήθων όγκων πάνω από το μικροσκοπικό του επίπεδο.
8. Η χρήση του μοντέλου Brody σε κλινικές περιπτώσεις κακοήθων όγκων ενδέχεται να είναι πολύτιμη για την ορθολογική τους θεραπεία και για την ακριβή εκτίμηση της πρόγνωσης της νόσου.

Είναι πολύ σημαντικό μελλοντικά να εντάξουμε στη μελέτη μας τα φαινόμενα της μεταστατικής διασποράς τα οποία επιβαρύνουν μέγιστα τη νόσο του καρκίνου. Επίσης είναι πολύ σημαντικό να γίνει αυστηρή μαθηματικοποίηση της κακοήθους νεοπλασματικής νόσου για την αριστοποίηση της θεραπευτικής της αντιμετώπισης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] P. -. Melicow, MM.and Percivall, “200th anniversary of first report of occupation-induced cancer scrotum in chimney sweepers,” *Urology*, vol. 6, no. 6, pp. 745–749, 1975.
- [2] C. L. . H. I. Cook, J. W.and Hewett, “The isolation of a cancer producing hydrocarbon from coal tar. j. chem. soc,” pp. 395–405, 1933.
- [3] H. Yuspa and G. Shields, *Etiology of cancer: Chemical factors. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds): Cancer: Principles and Practice of Oncology.* Lippincott-Raven Publishers,Philadelphia, 5th ed., 1997.
- [4] J. Klaunig and L. Kamendulis, “he role of oxidative stress in carcinogenesis,” *AnnuRev Pharmacol Toxicol*, vol. 44, pp. 239–267, 2004.
- [5] F. Guengerich and T. Shimada, “Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome p-450 enzymes,” *Chem Res Toxicol*, vol. 4, p. 391, 1991.
- [6] S. Hecht, “Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer,” *Nature Rev Cancer*, vol. 4, pp. 733–744, 2003.
- [7] J. Peto, “Cancer epidemiology in the last century and the next decade.,” *Nature*, vol. 441, pp. 390–395, 2001.
- [8] C. Linnaeus, *Systema Naturae*. Holmiae, Impensis Direct Laurentil Salvin, second ed., 1758.
- [9] W. A. Sodeman Jr, “The biology of schistosomes from genes to latrines,” *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 41, no. 2, p. 251, 1989.
- [10] H. Schwegler and H. P. Lipp, “Hereditary covariations of neuronal circuitry and behavior: correlations between the proportions of hippocampal synaptic fields

- in the regio inferior and two-way avoidance in mice and rats,” *Behavioural brain research*, vol. 7, no. 1, pp. 1–38, 1983.
- [11] Y. Lamberty and G. A. J., “Age related changes in spontaneous behavior and learning in nmri mice from middle to old age,” *Physiology and behavior*, vol. 51, no. 1, pp. 81–88, 1992.
- [12] G. Kallistratos and E. Fasske, “Inhibition of benzopyrene carcinogenesis in rats with vitamin chemmung der benzpyren-carcinogenese bei ratten durch vitamin c,” *Journal of cancer research and clinical oncology*, vol. 97, no. 1, pp. 91–96, 1980.
- [13] H. J. E., *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Elsevier, 2015.
- [14] M. Đ. Miljenko, “Mathematical models of tumor growth,” *University of Zagreb, Bijenička*, vol. 30, pp. 175–192, 1996.
- [15] L. V. BERTALANFF, “The quarterly review of biology,” *Annals of Botany*, vol. 32, no. 4, 1957.
- [16] M. J. Bazin and I. P. James, “Modelling microbial ecosystems,” *Journal of Applied Microbiology*, vol. 73, no. 21, 1992.
- [17] Đ. Κομηνέας and Đ. Χαρυανδάρης, *Μαθηματική Μοντελοποίηση. ΣΥΝΔΕΣΜΟΣ ΕΛΛΗΝΙΚΩΝ ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΩΝ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΩΝ*, 2015.
- [18] W. Xinrong, W. Mengjun, W. Guanghe, and Z. Wenqin, “A new four-parameter, generalized logistic equation and its applications to mammalian somatic growth,” *Acta Theriologica*, vol. 45, no. 2, pp. 145–153, 2000.
- [19] R. K. Purnachandra and A. T. Goshu, “Generalized mathematical model for biological growths,” *Scientific Research*, vol. 42-53, no. 1, 2013.
- [20] M. J. PANIK, *GROWTH CURVE MODELING*. Hoboken, New Jersey, 2014.
- [21] R. K. Purnachandra and T. G. Ayele, “Solutions of rate-state equation describing biological growths,” *American Journal of Mathematics and Statistics*, vol. 3, no. 6, pp. 305–311, 2013.
- [22] R. I. FLETCHER, *A General Solution for the Complete Richards Function*. Mathematical Biosciences, American Elsevier, 1975.

- [23] b. Xiang-Sheng, Wang a, b. n. Jianhong, Wu a, and b. Yong, Yang a, “Richards model revisited: Validation by and application to infection dynamics,” *Journal of Theoretical Biology*, vol. 12-19, no. 313, 2012.
- [24] M. Marusic and B. Zeljko, “Generalized two-parameter equation of growth,” *ournal of mathematical analysis and applications*, pp. 446–462, 1993.
- [25] M. Kahm, G. Hasenbrink, H. Lichtenberg-Fraté, L. Jost, and M. Kschischo, “grofit: Fitting biological growth curves with r,” *Journal of Statistical Software*, vol. 33, no. 7, 2010.
- [26] J. T. Teleken, A. Cazonatto Galvão, and d. S. R. Weber, “Comparing non-linear mathematical models to describe growth of different animals,” *SIAM Review*, vol. 45, no. 2, pp. 167–256, 2003.
- [27] S. G. Nash and S. Ariela, *Linear and Nonlinear Optimization*. Igor Griva, second ed., 2009.
- [28] S. Ariela and S. G. Nash, *Nonlinear Least Squares Data Fitting, Appendix D. Linear and Nonlinear Optimization*, Igor Griva, first ed.
- [29] B. COLIN P. D., “A new generalized logistic sigmoid growth equation compared with the richards growth equation,” *Annals of Botany*, vol. 83, pp. 713–723, 1999.
- [30] J. A. Sibley and A. L. Lehninger, “Determination of aldolase in animal tissues,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 177, no. 2, pp. 859–872, 2010.
- [31] A. S. Karkach, “Trajectories and models of individual growth,” *DEMOGRAPHIC RESEARCH*, vol. 15, no. 12, 2006.
- [32] B. S. L., N. R.R., S. A., and T. . C., “Comparison on accuracy of logistic, gompertz and von bertalanffy models in predicting growth of new born calf until first mating of holstein friesian heifers,” *J.Indonesian Trop.Anim.Agric*, vol. 37, no. 3, 2012.
- [33] P. Nguimkeu, “A simple selection test between the gompertz and logistic growth models,” *Georgia State University*, no. 7, pp. 98–105, 2014.

- [34] M. Fazil and M. Yusuf, “Editorial comment to association of serum biochemical metabolic panel with stone composition,” *International Journal of Urology*, vol. 22, no. 2, 2015.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α΄

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΟΓΚΩΝ-ΕΠΙΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΩΝ ΕΞΙΣΩΣΕΩΝ

A΄.1 Γενικά

A΄.2 Το μοντέλο ανάπτυξης Gompertz

A΄.3 Το μοντέλο ανάπτυξης Von Bertalanffy

A΄.4 Το μοντέλο ανάπτυξης Particular Case of Logistic

A΄.5 Το μοντέλο ανάπτυξης Richards

A΄.6 Το μοντέλο ανάπτυξης Weibull

A΄.7 Το μοντέλο ανάπτυξης Brody

A΄.8 Το μοντέλο ανάπτυξης Monomolecular

A΄.9 Το μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich

A΄.1 Γενικά

Βασικό μαθηματικό μοντέλο για τη μέτρηση της ανάπτυξης βιολογικών φαινομένων:

$$\frac{df(x)}{dt} = r_t f(t),$$

όπου $f(t)$ είναι η συνάρτηση που περιγράφει το μέγεθος του φαινομένου τη χρονική

στιγμή t και $r(t)$ η συνάρτηση που περιγράφει το σχετικό ρυθμό ανάπτυξης τη χρονική στιγμή t .

Επίλυση αναπτυξιακών μοντέλων:

Α.2 Το μοντέλο ανάπτυξης Gompertz

Για $r_t = k \log(\frac{A}{f(t)})$ έχουμε:

$$\frac{df}{dt} = k \log\left(\frac{A}{f(t)}\right) f(t)$$

$$\frac{df}{[\log(A) \log(f(t))] f(t)} = k$$

$$\frac{d(\log f(t))}{[\log(A) - \log f(t)]} = k$$

θέτω $\omega = \log f(t)$

$$\int \frac{d\omega}{\log(A) - \omega} = kt + c$$

$$-\log |\log A - \omega| = ce^{kt}$$

$$\frac{1}{\log A - \omega} = ce^{kt}$$

$$\log A - \omega = ce^{-kt}$$

$$\omega = \log A - ce^{-kt}$$

όπου $\omega = \log f(t)$

$$\log f(t) = \log A - ce^{-kt}$$

$$f(t) = Ae^{-ce^{-kt}}$$

όπου $B = c$

$$f(t) = Ae^{-Be^{-kt}}$$

Είναι φανερό ότι η $f(t)$ εκφράζεται εκθετικά ως προς το ολοκλήρωμα της $r(t)$.

Α.3 Το μοντέλο ανάπτυξης Von Bertalanffy

Για

$$r_t = 3k \left(\frac{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)}{f^{\frac{1}{3}}(t)} \right)$$

έχουμε:

$$\frac{df}{dt} = 3k \left(\frac{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)}{f^{\frac{1}{3}}(t)} \right) f(t)$$

$$\frac{df}{f^{\frac{2}{3}}} = 3k(A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t))dt$$

$$\frac{df}{f^{\frac{2}{3}}(t)(A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t))} = 3kdt$$

(Διαφορική εξίσωση χωριζόμενων μεταβλητών)

$$-3 \int \frac{df^{\frac{1}{3}}(t)}{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)} = 3k \int dt + c$$

$$-\log \left| A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t) \right| = kt + c$$

$$\frac{1}{A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t)} = e^c e^{kt}$$

$$A^{\frac{1}{3}} - f^{\frac{1}{3}}(t) = ce^{-kt}$$

$$f^{\frac{1}{3}}(t) = A^{\frac{1}{3}} - ce^{-kt}$$

$$f(t) = (A^{\frac{1}{3}} - ce^{-kt})^3$$

$$f(t) = A(1 - A^{-\frac{1}{3}}ce^{-kt})^3$$

$$\text{όπου } = A^{-\frac{1}{3}}c$$

$$f(t) = A(1 - e^{-kt})^3$$

Είναι φανερό ότι η $f(t)$ εκφράζεται εκθετικά ως προς το ολοκλήρωμα της $r(t)$.

A.4 Το μοντέλο ανάπτυξης Particular Case of Logistic

Για

$$r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$$

έχουμε:

$$\frac{df}{dt} = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right] f(t)$$

$$\frac{df}{\left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right] f(t)} = mkdt$$

$$\frac{df}{\left(\frac{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t)}{f^{\frac{1}{m}}(t)} \right) f(t)} = mkdt$$

$$\frac{f^{\frac{1}{m}-1}df}{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t)} = mkdt$$

$$-m \frac{df^{\frac{1}{m}}(t)}{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t)} = mkdt$$

$$\log \left| A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t) \right| = -kt + c$$

$$\left| A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t) \right| = e^{-kt} e^c$$

$$A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t) = ce^{-kt}$$

$$A^{\frac{1}{m}} - ce^{-kt} = f^{\frac{1}{m}}(t)$$

$$f(t) = A(1 - A^{\frac{1}{m}}ce^{-kt})^m$$

όπου $B = A^{\frac{1}{m}}c$

$$f(t) = A(1 - Be^{-kt})^m$$

Α.5 Το μοντέλο ανάπτυξης Richards

Για

$$r_t = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right]$$

έχουμε:

$$\frac{df}{dt} = mk \left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right] f(t)$$

$$\frac{df}{\left[\left(\frac{A}{f(t)} \right)^{\frac{1}{m}} - 1 \right] f(t)} = mkdt$$

$$\frac{df}{\left(\frac{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}(t)}{f^{\frac{1}{m}}(t)} \right) f(t)} = mkdt$$

$$\frac{f^{\frac{1}{m}-1}df}{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}} = mkdt$$

$$m \frac{df^{\frac{1}{m}}}{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}} = mkdt$$

$$\int m \frac{df^{\frac{1}{m}}}{A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}}} = k \int dt + c$$

$$-\ln \left| A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}} \right| = kt + c$$

$$\left| A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}} \right| = e^{-kt} e^c$$

$$A^{\frac{1}{m}} - f^{\frac{1}{m}} = ce^{-kt}$$

$$f^{\frac{1}{m}} = A^{\frac{1}{m}} - ce^{-kt}$$

$$f = \left(A^{\frac{1}{m}} - ce^{-kt} \right)^m$$

$$f = A \left(1 - A^{\frac{1}{m}} ce^{-kt} \right)^m$$

όπου $B = A^{\frac{1}{m}} - c$

$$f = A(1 - Be^{-kt})^m$$

Α.6 Το μοντέλο ανάπτυξης Weibull

Για

$$r_t = \left(\frac{\nu}{\delta} \right) \left(\frac{t - \mu}{\delta} \right)^{\nu-1} \left[\frac{1}{f(t)} - 1 \right]$$

έχουμε:

$$\frac{df}{dt} = \left(\frac{\nu}{\delta} \right) \left(\frac{t - \mu}{\delta} \right)^{\nu-1} \left[\frac{1}{f(t)} - 1 \right] f(t)$$

$$\frac{df}{\left(\frac{1}{f(t)} - 1 \right) f(t)} = \frac{\nu}{\delta} \left(\frac{t - \mu}{\delta} \right)^{\nu-1} dt$$

$$\int \frac{df}{1 - f(t)} = \frac{\nu}{\delta^\nu} \int (t - \mu)^{\nu-1} dt$$

$$-\ln |1 - f(t)| = -\frac{1}{\delta^\nu} (t - \mu)^\nu + c$$

$$|1 - f(t)| = e^{-(\frac{t-\mu}{\delta})^\nu} e^c$$

$$1 - f(t) = ce^{-(\frac{t-\mu}{\delta})^\nu}$$

$$f(t) = 1 - e^{-(\frac{t-\mu}{\delta})^\nu}$$

A.7 Το μοντέλο ανάπτυξης Brody

Για

$$r_t = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right]$$

έχουμε

$$\frac{df}{dt} = k \left[\frac{A}{f(t)} - 1 \right] f(t)$$

$$\frac{df}{\left(\frac{A}{f(t)} - 1 \right) f(t)} = k dt$$

$$\frac{df}{\left(\frac{A-f(t)}{f(t)} \right) f(t)} = k dt$$

$$\int \frac{df}{A - f(t)} = \int k dt + c$$

$$\ln |A - f(t)| = kt + c$$

$$|A - f(t)| = e^{kt} e^c$$

$$A - f(t) = ce^{kt}$$

$$f(t) = A - ce^{kt}$$

$$f(t) = A \left(1 - \frac{A}{c} e^{kt} \right)$$

όπου $B = \frac{A}{c}$

$$f(t) = A(1 - Be^{kt})$$

Παρομοίως λύνονται και τα μοντέλα ανάπτυξης Monomolecular και Mitscherlich.

A'.8 Το μοντέλο ανάπτυξης Monomolecular

$$f(t) = A(1 - Be^{-kt})$$

A'.9 Το μοντέλο ανάπτυξης Mitscherlich

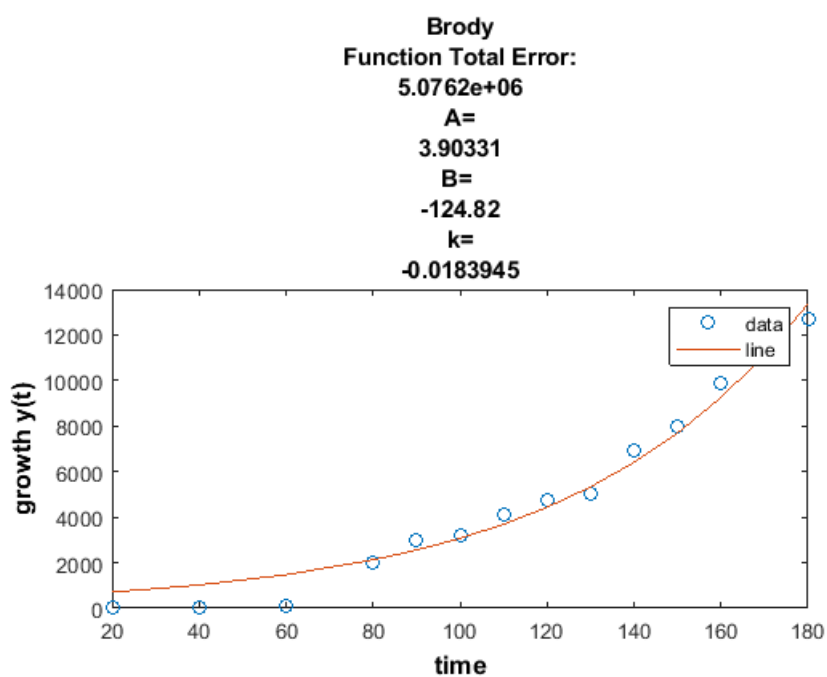
$$f(t) = A(1 - Be^{-kt})$$

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β΄

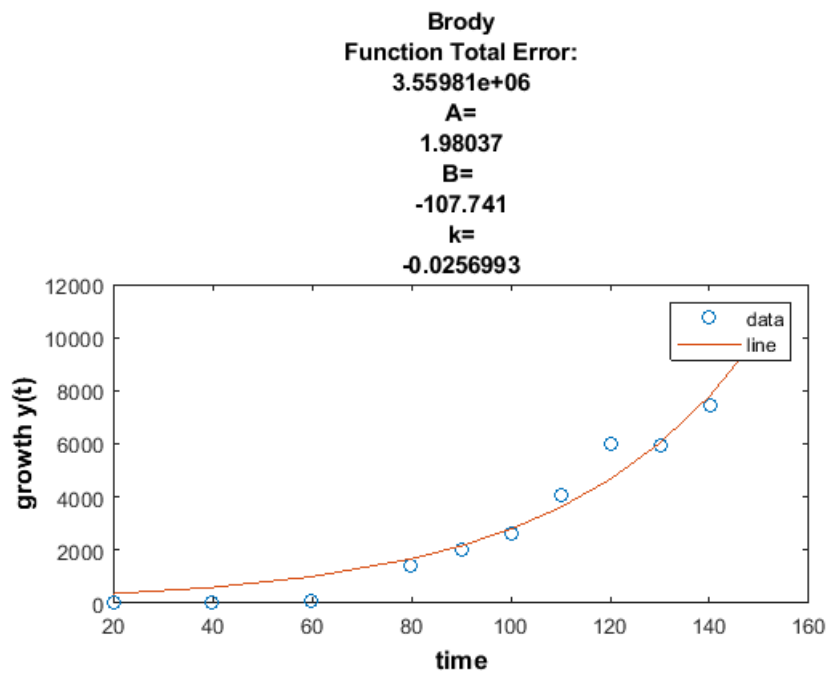
ΕΙΚΟΝΕΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΟΓΚΩΝ

Ενδεικτικά παραθέτουμε κάποιες απο τις γραφικές παραστάσεις της μοντελοποίησης της χημικής καρκινογένεσης των μοντέλων μας, όπου και κυριαρχεί το μοντέλο Brody.

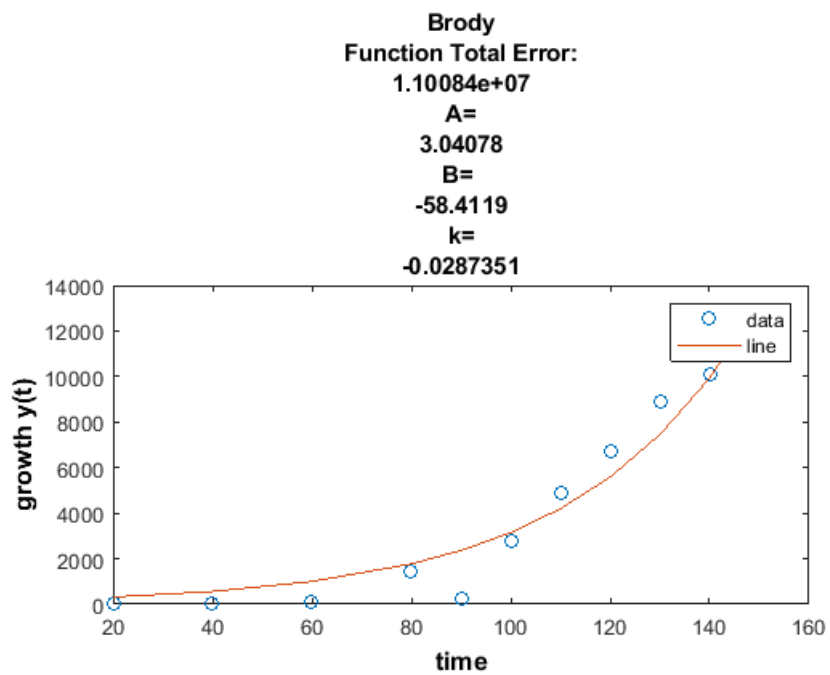
1. Ομάδα Ελέγχου 3,4 B[a]P



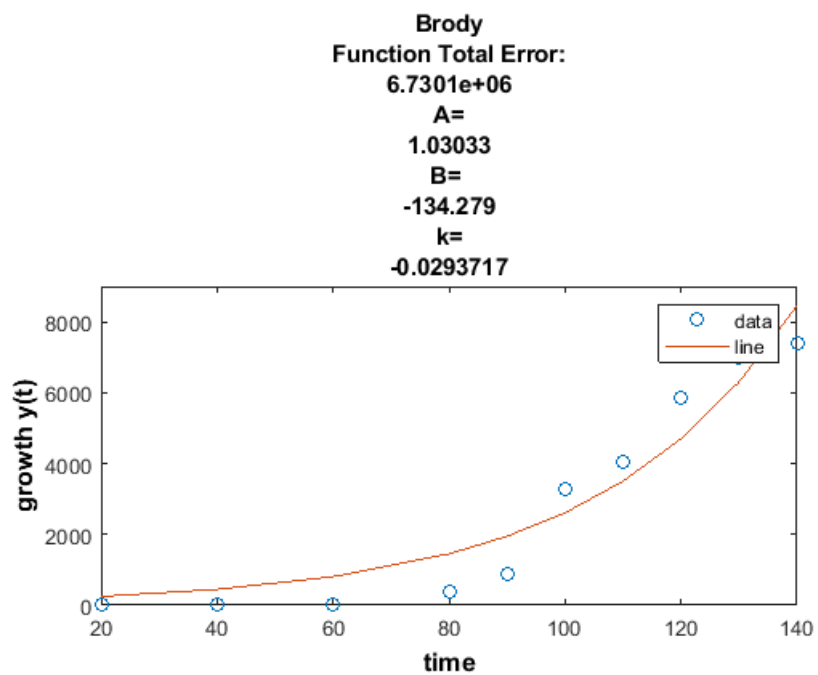
Σχήμα Β΄.1: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



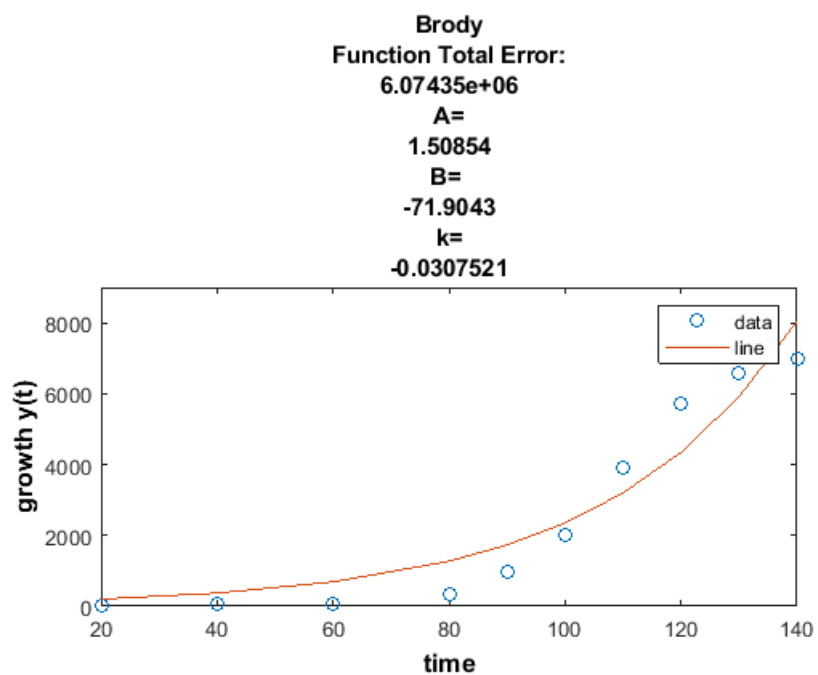
Σχήμα Β'.2: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



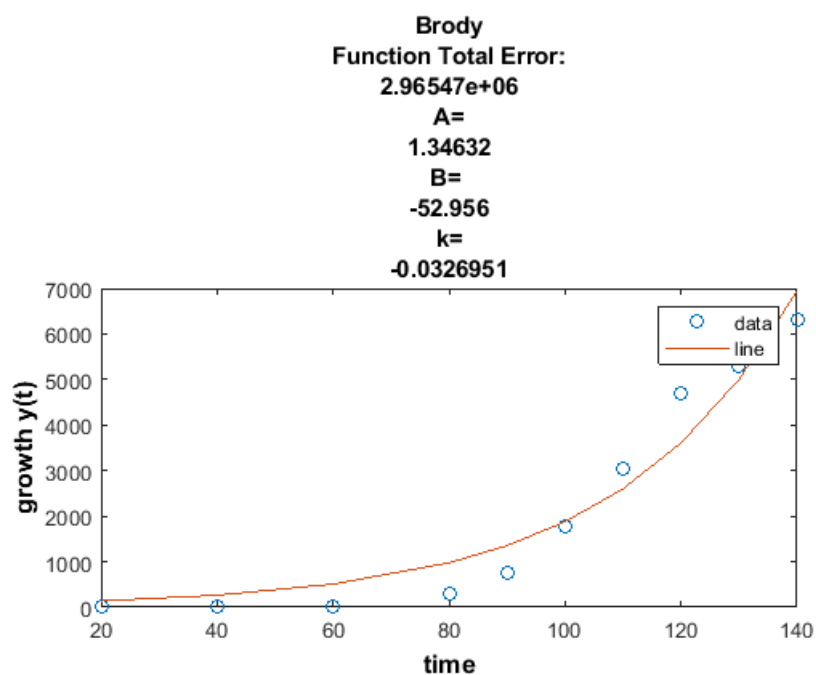
Σχήμα Β'.3: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



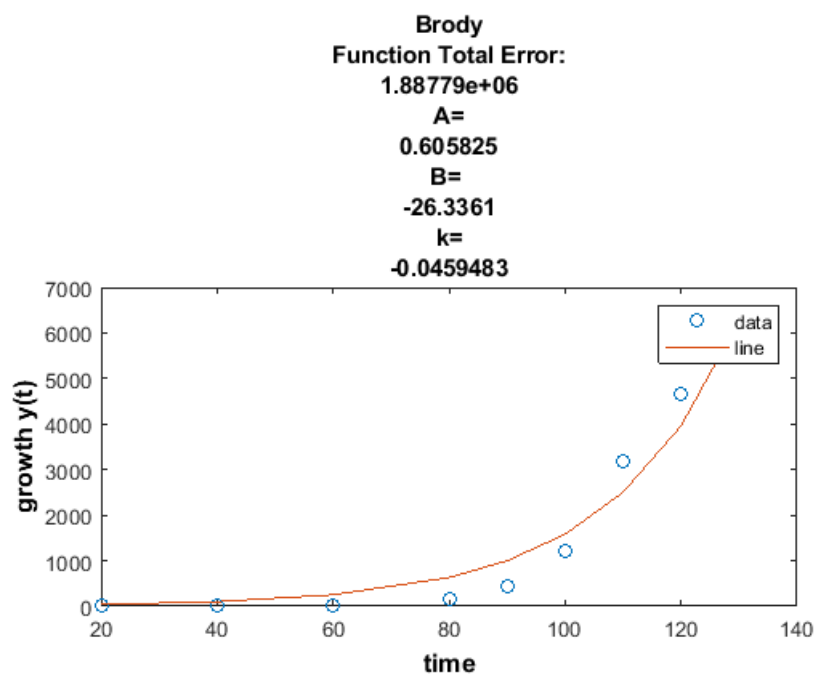
Σχήμα Β'.4: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



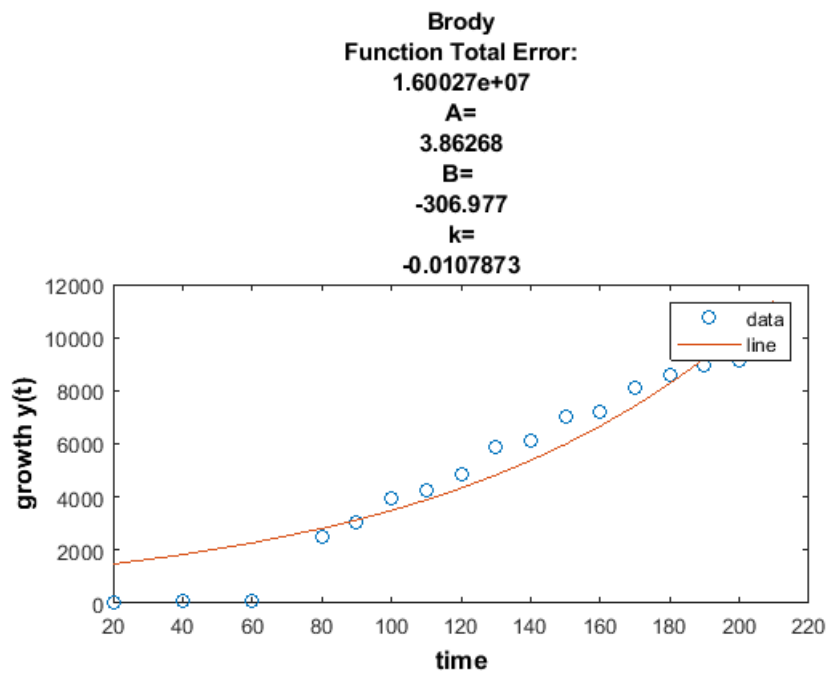
Σχήμα Β'.5: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



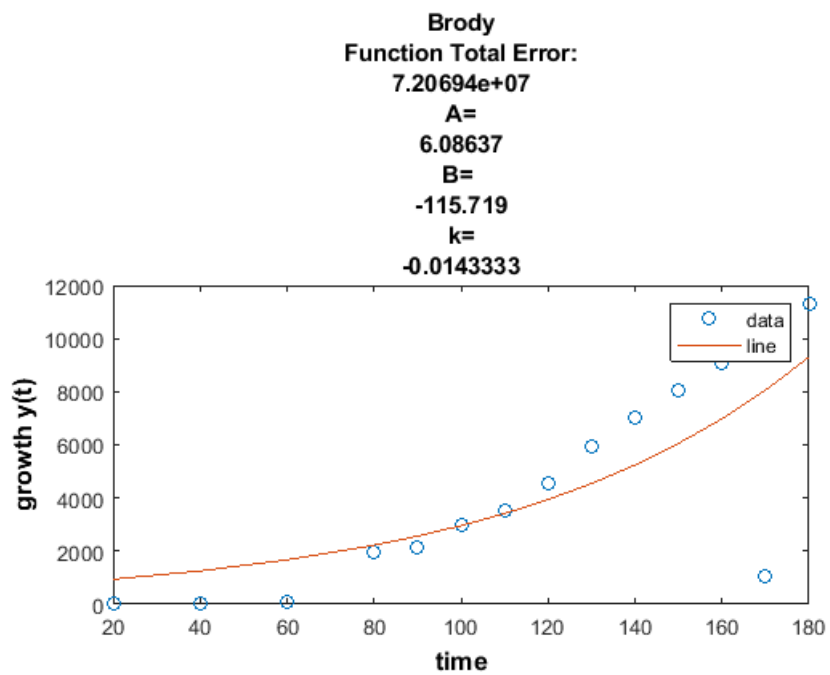
Σχήμα Β'.6: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



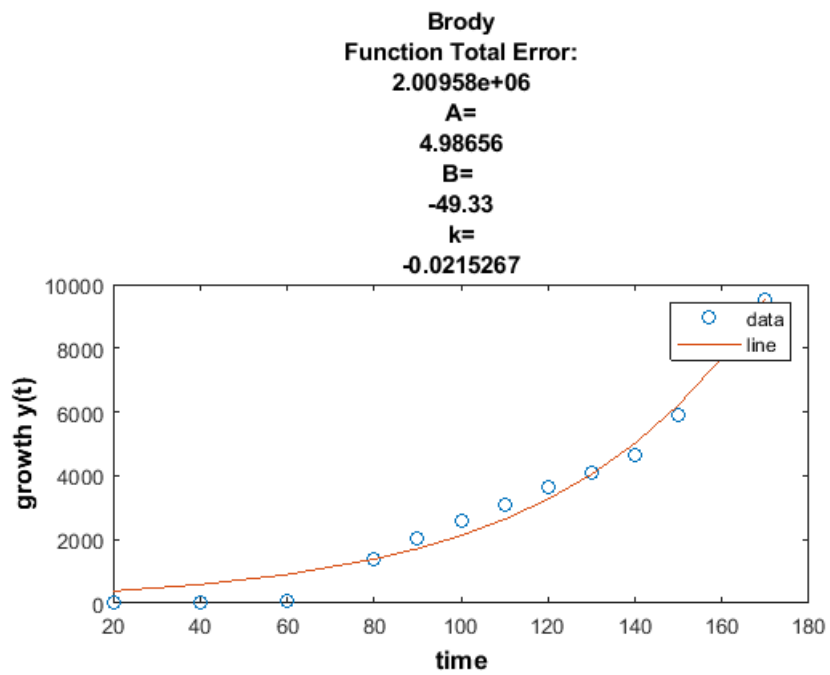
Σχήμα Β'.7: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



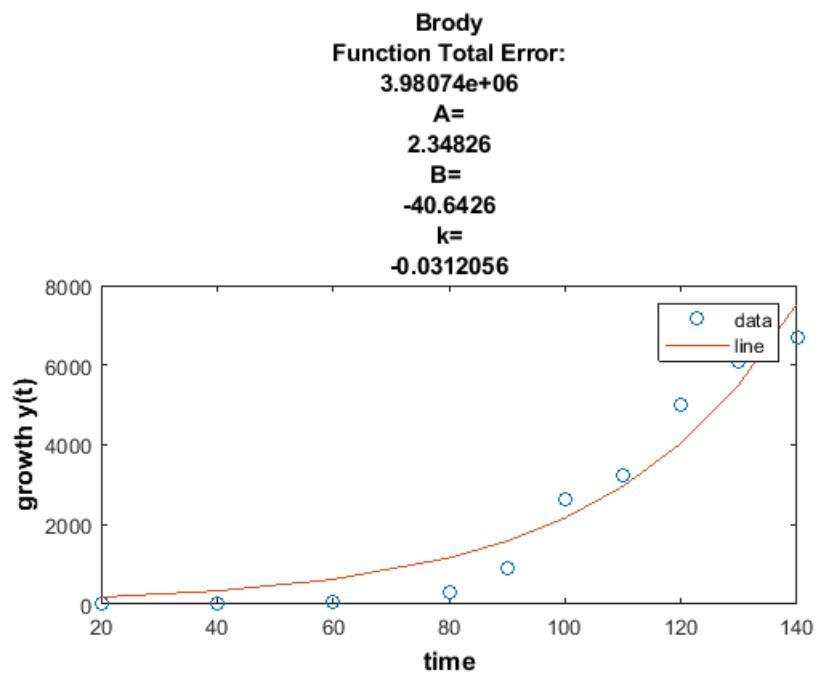
Σχήμα Β'.8: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



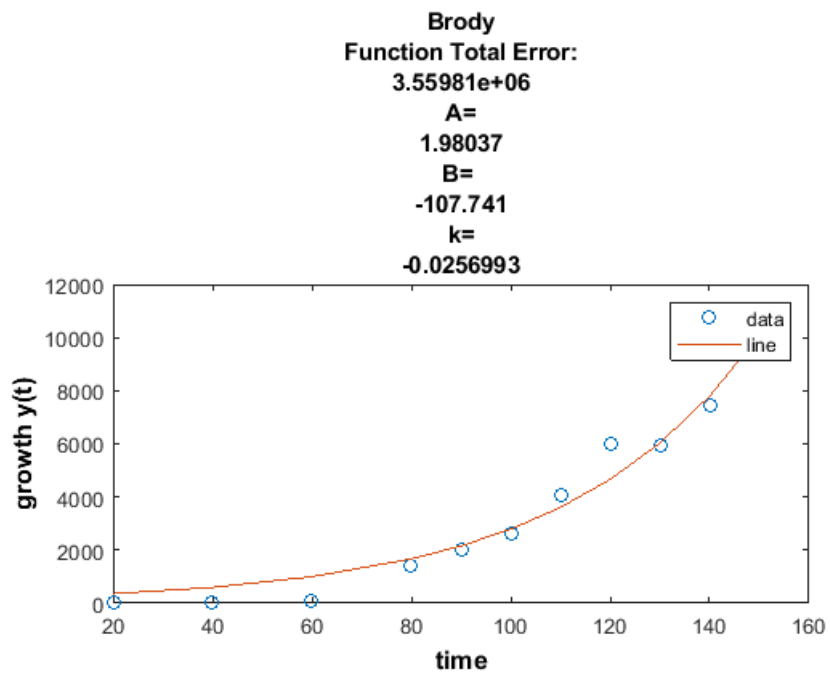
Σχήμα Β'.9: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



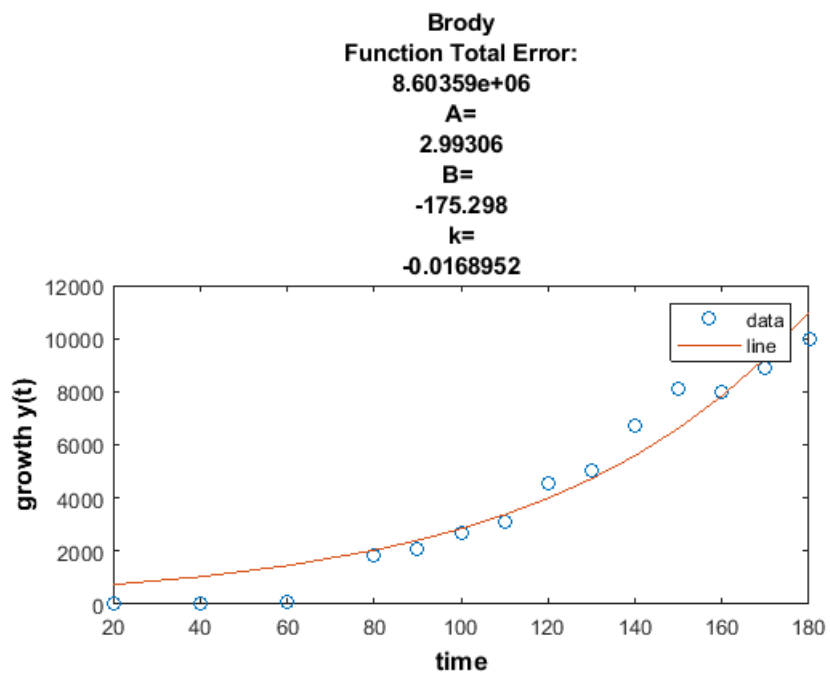
Σχήμα Β'.10: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



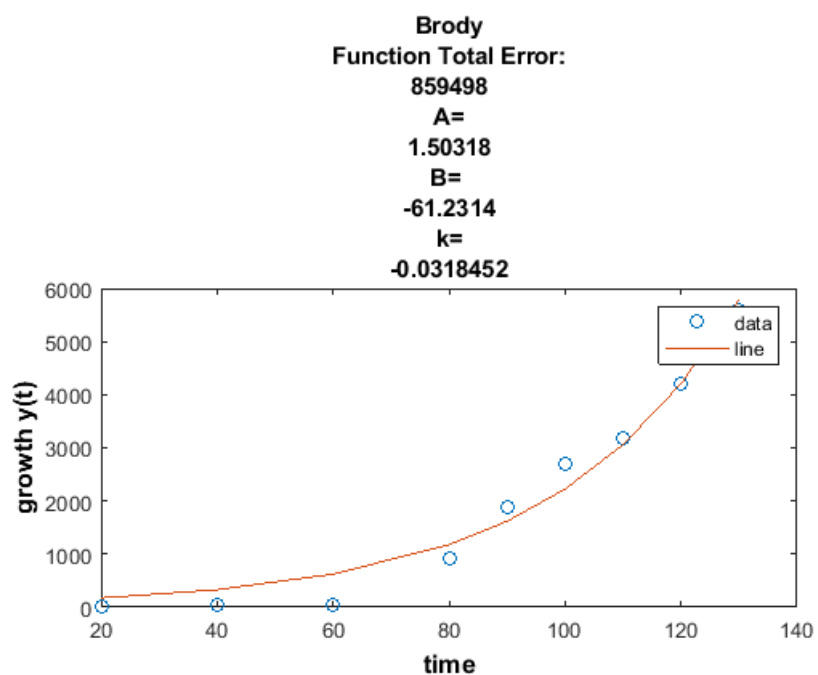
Σχήμα Β'.11: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



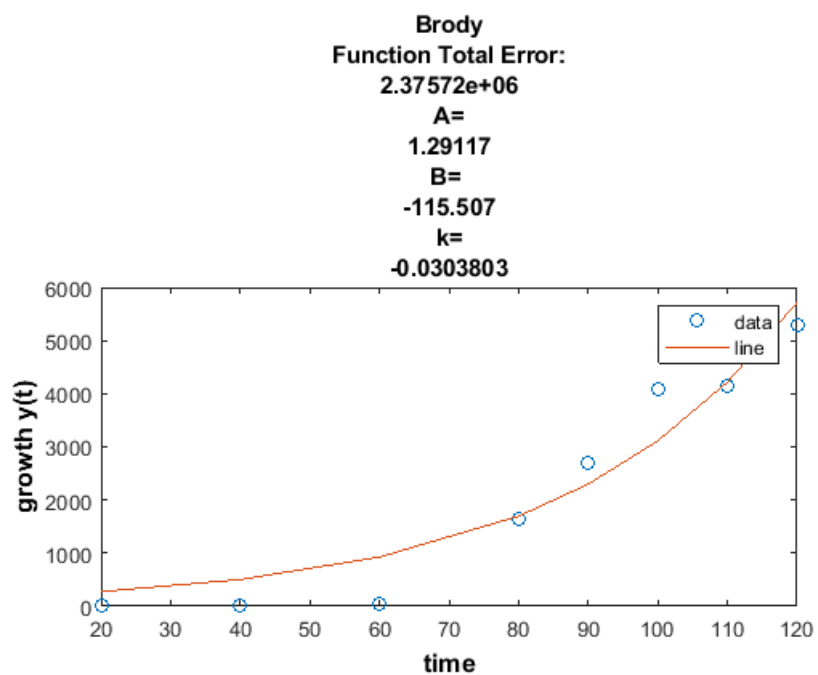
Σχήμα Β'.12: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



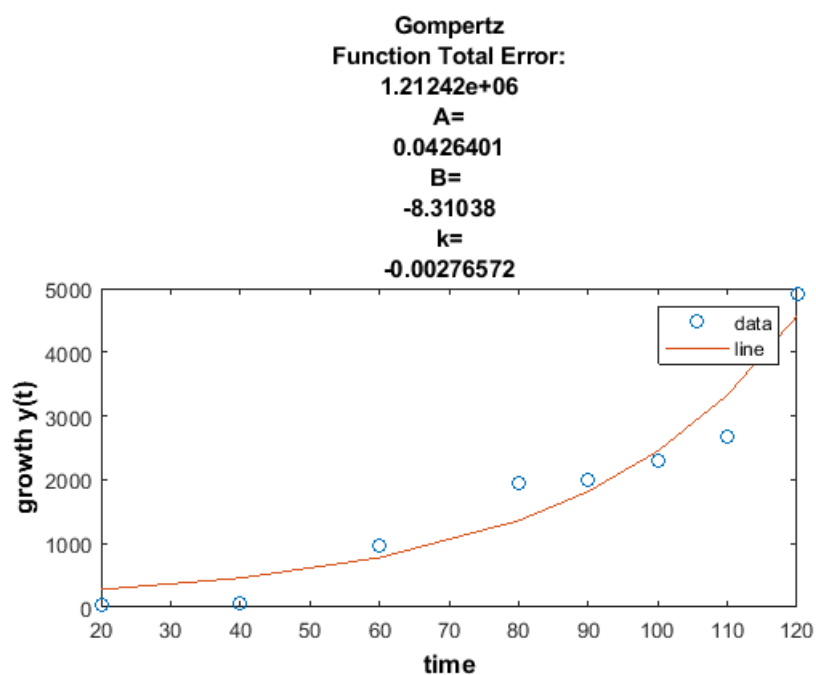
Σχήμα Β'.13: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



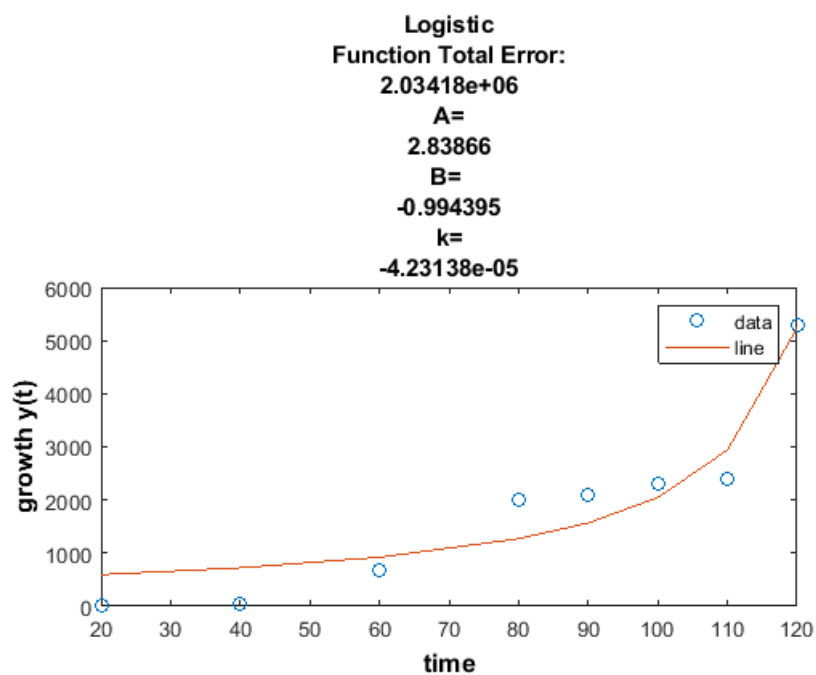
Σχήμα Β'.14: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



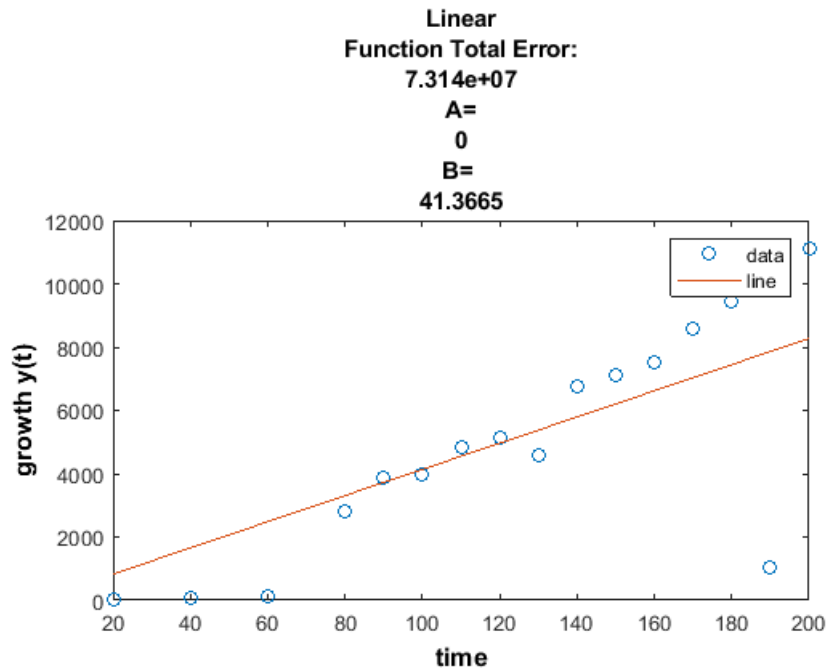
Σχήμα Β'.15: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



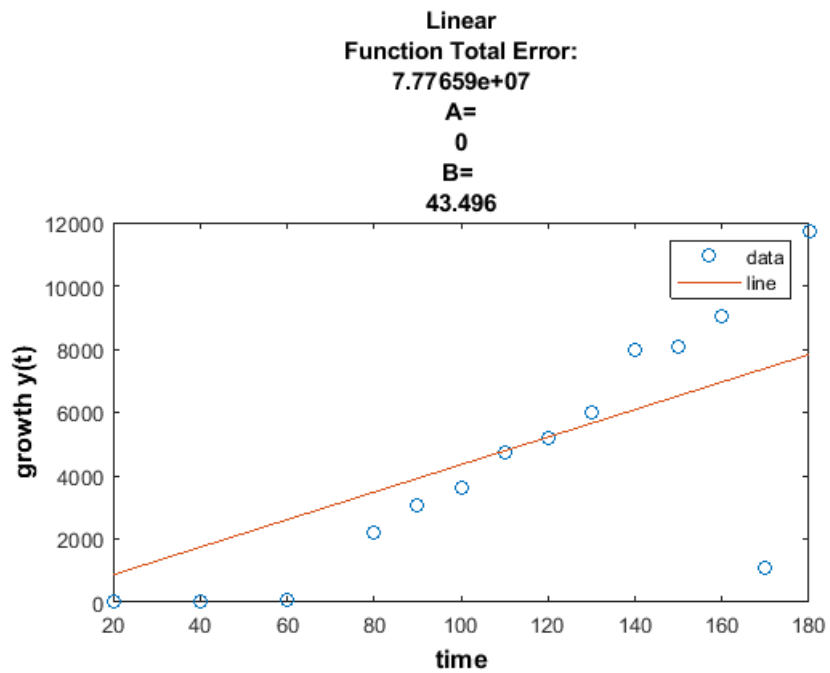
Σχήμα Β'.16: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



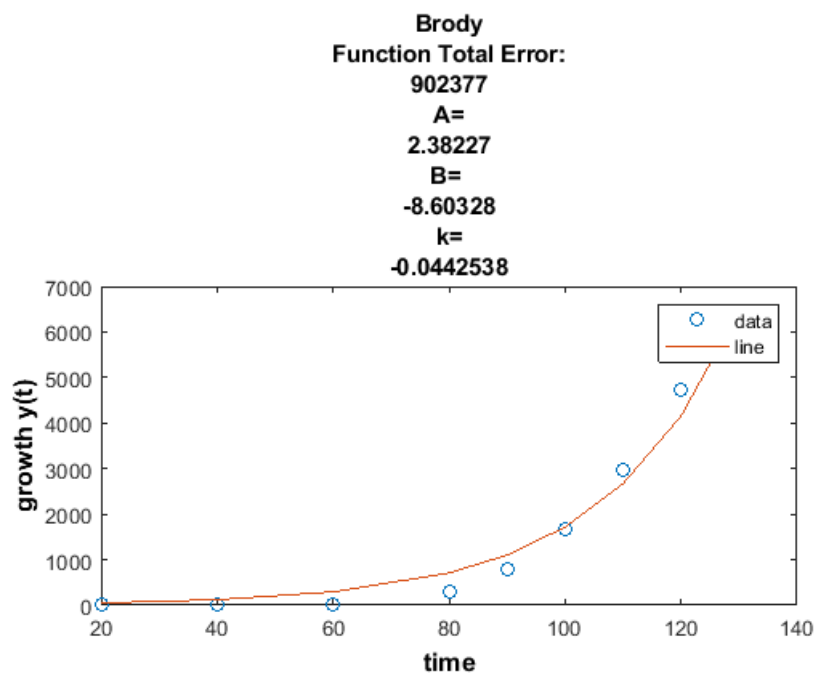
Σχήμα Β'.17: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.18: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

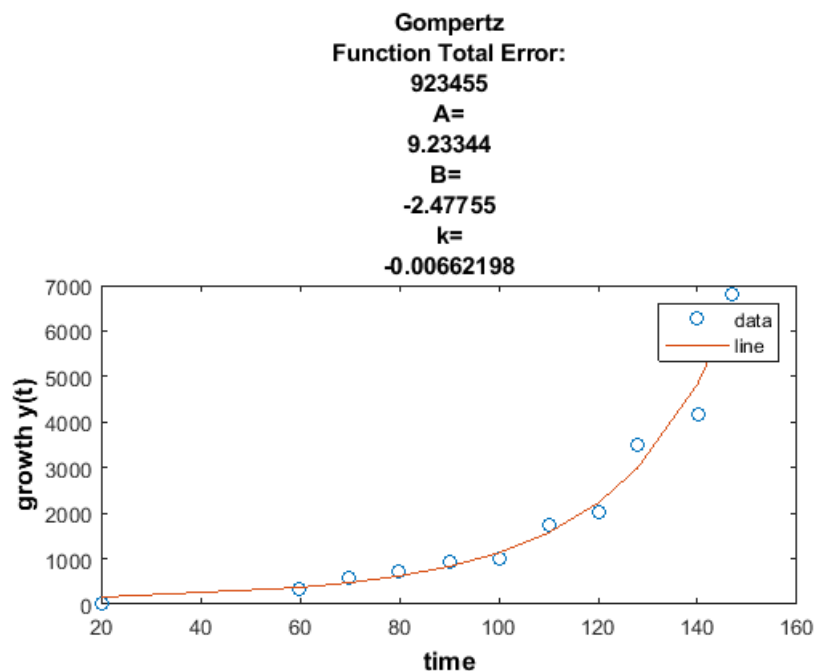


Σχήμα Β'.19: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



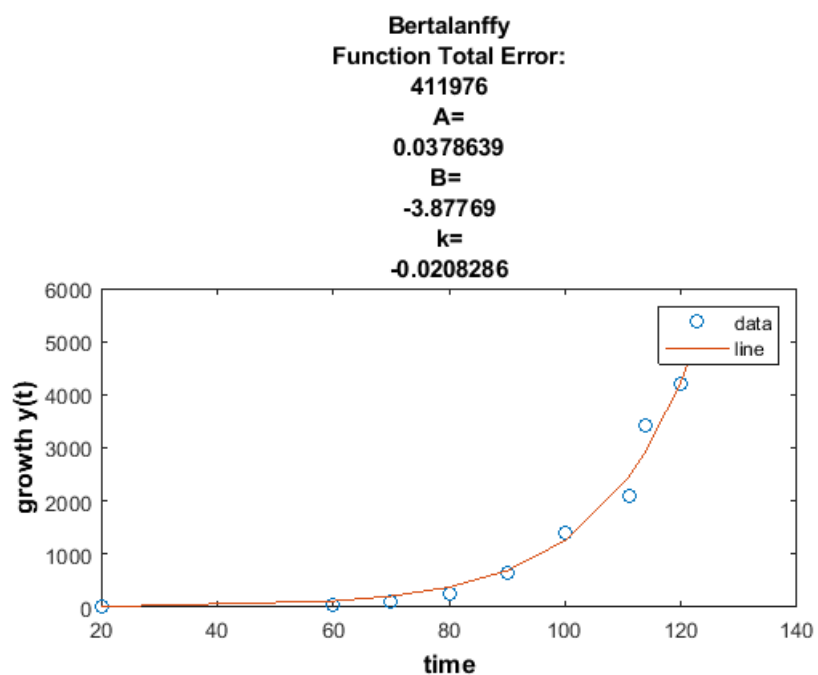
Σχήμα Β'.20: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

2. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω αιθυλενοδιαμίνης (ETHDMN-1)

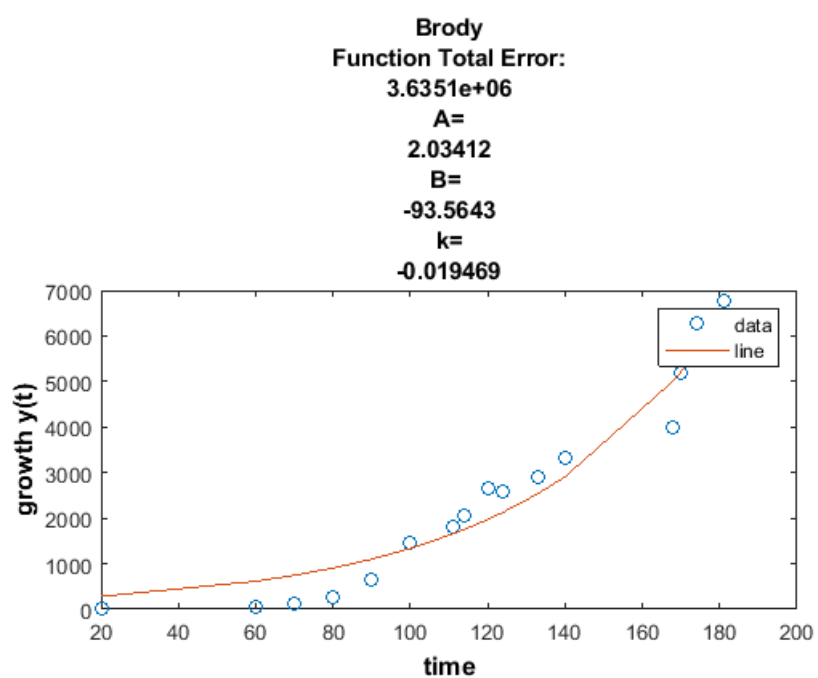


Σχήμα Β'.21: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

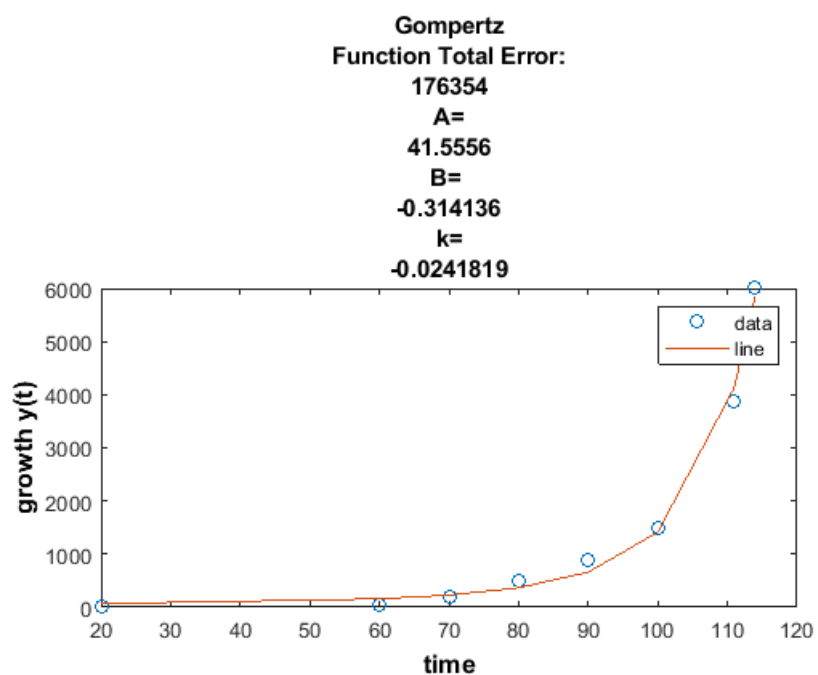
3. Ομάδα αναστολής του B[a]P μέσω κανταβερίνης (CDVRN-2)



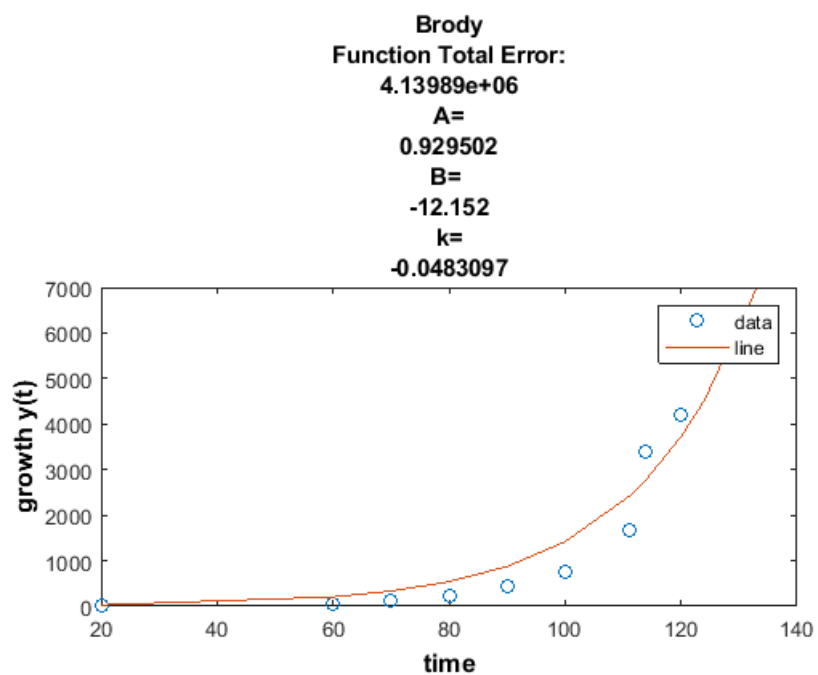
Σχήμα Β'.22: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



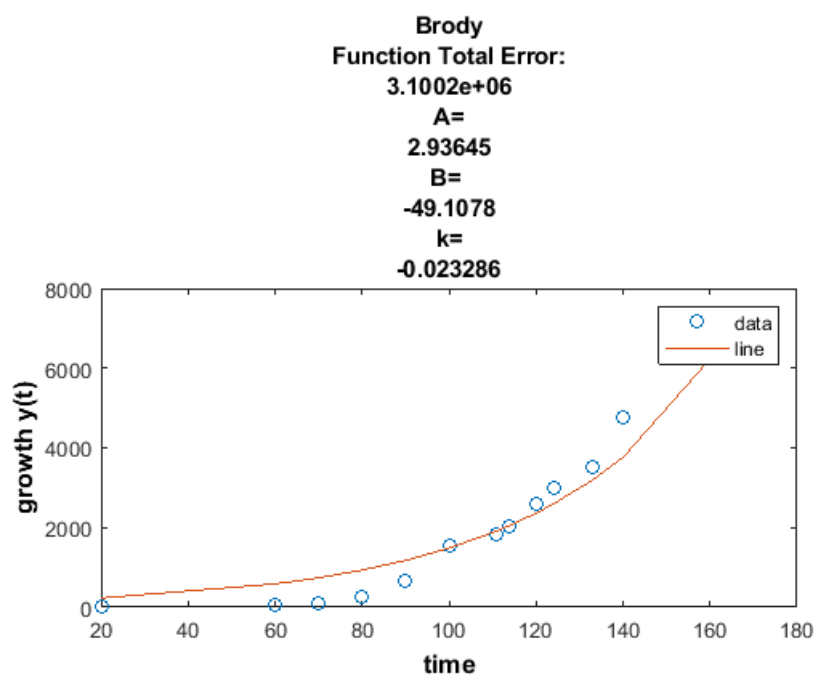
Σχήμα Β'.23: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



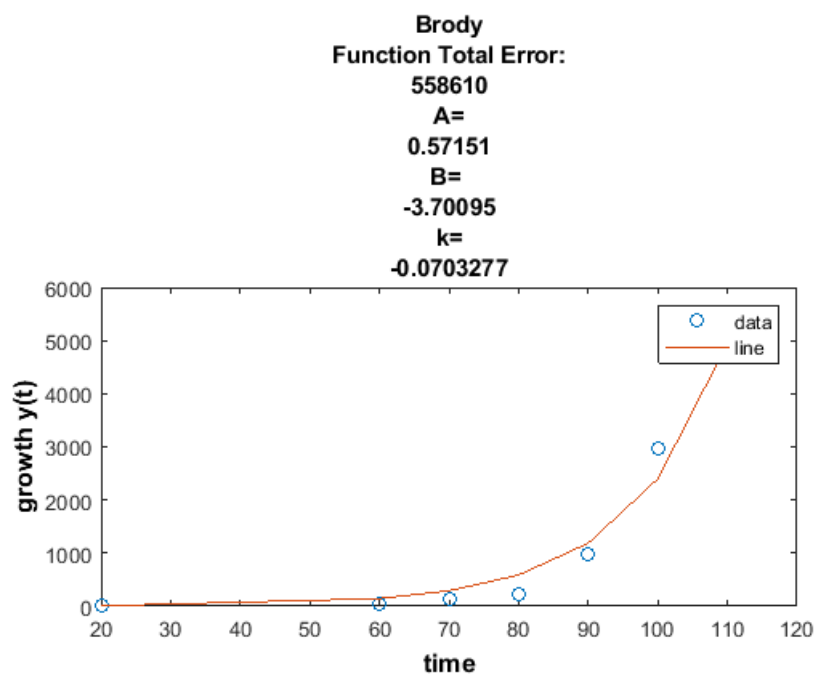
Σχήμα Β'.24: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.25: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

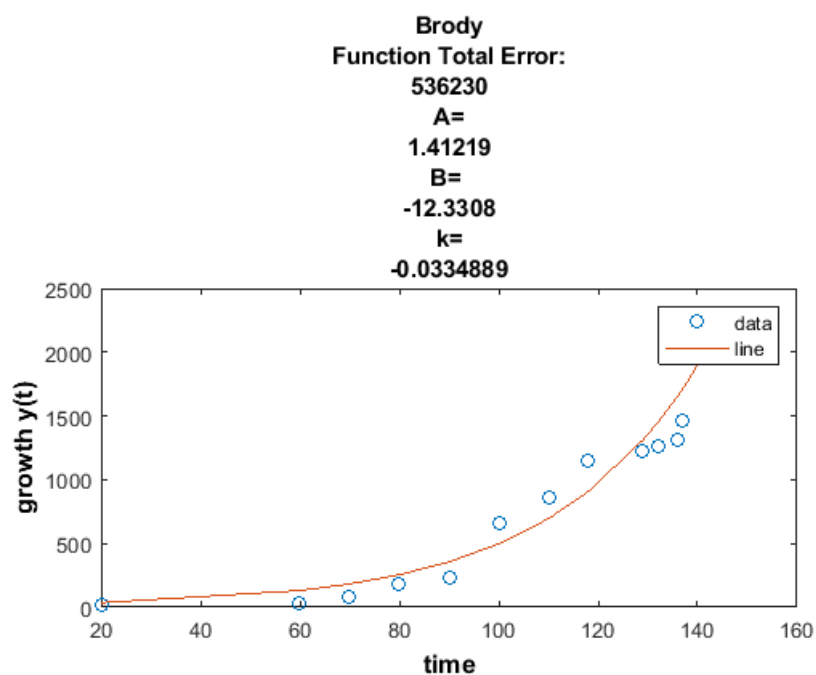


Σχήμα Β'.26: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

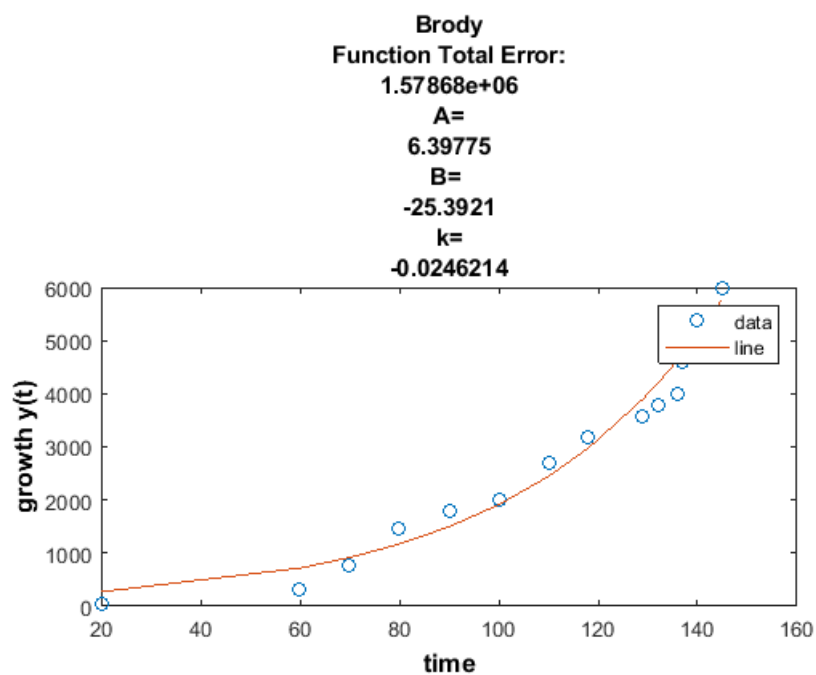


Σχήμα Β'.27: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

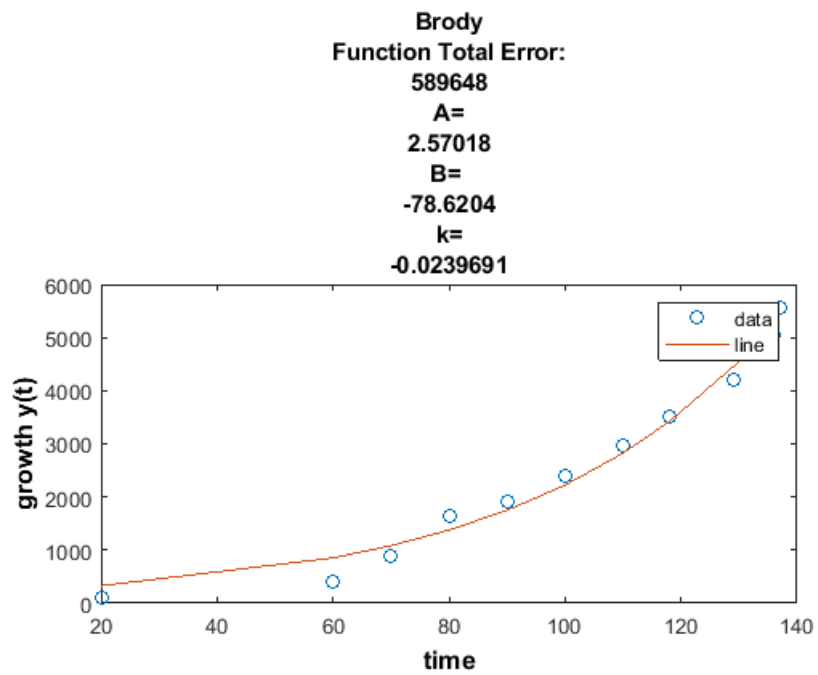
4. Ομάδα βισμούθειόλης-I (Bismuthiol-I)



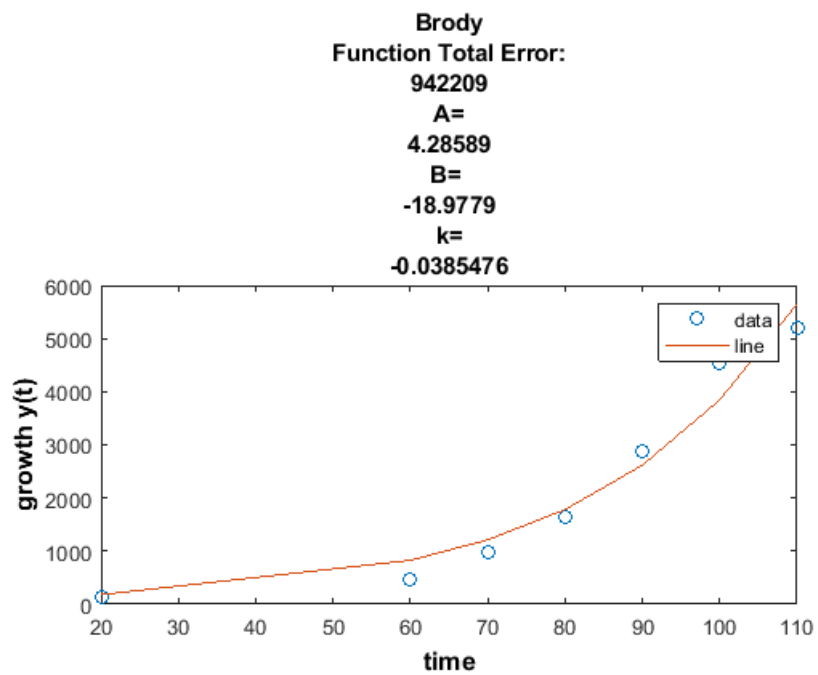
Σχήμα Β'.28: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



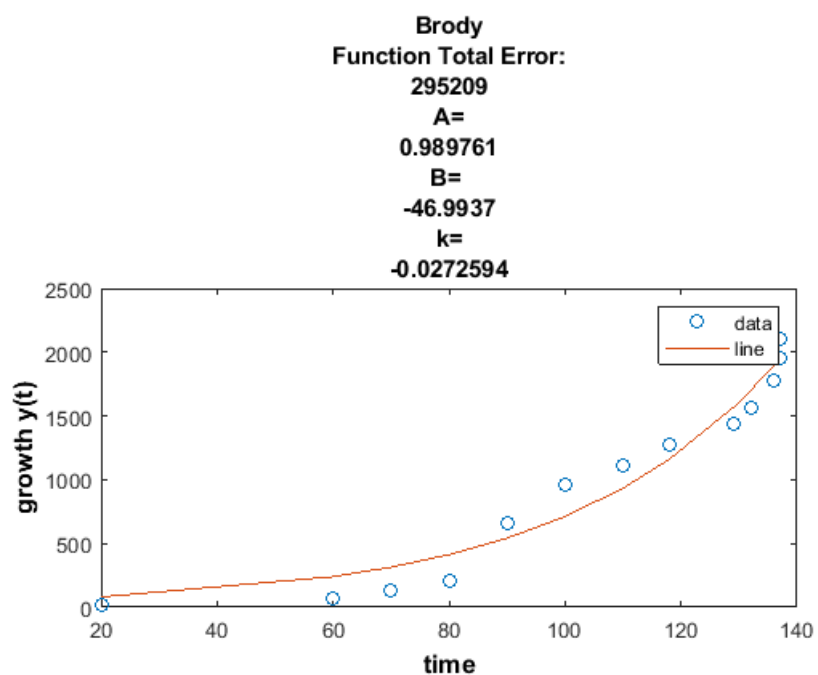
Σχήμα Β'.29: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



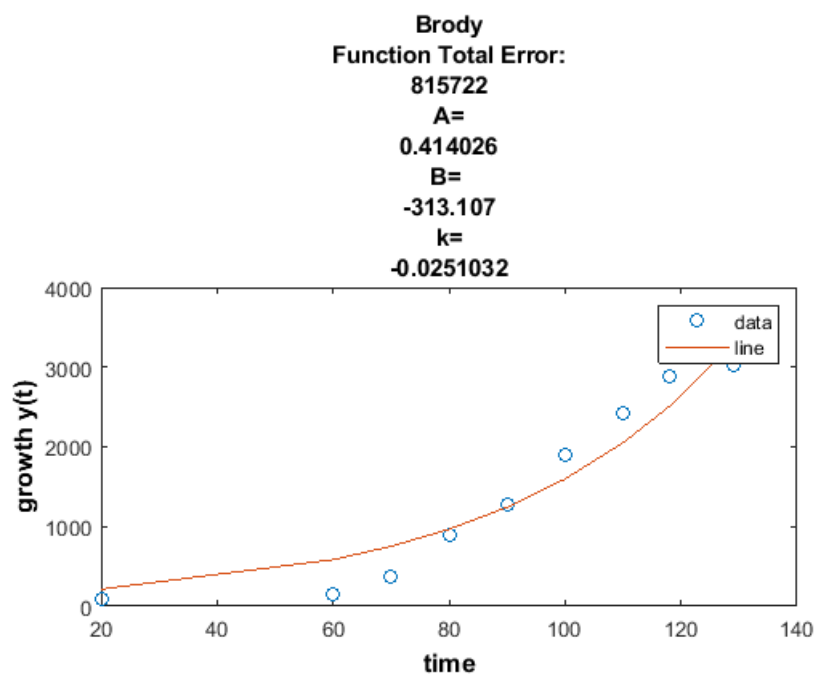
Σχήμα Β'.30: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



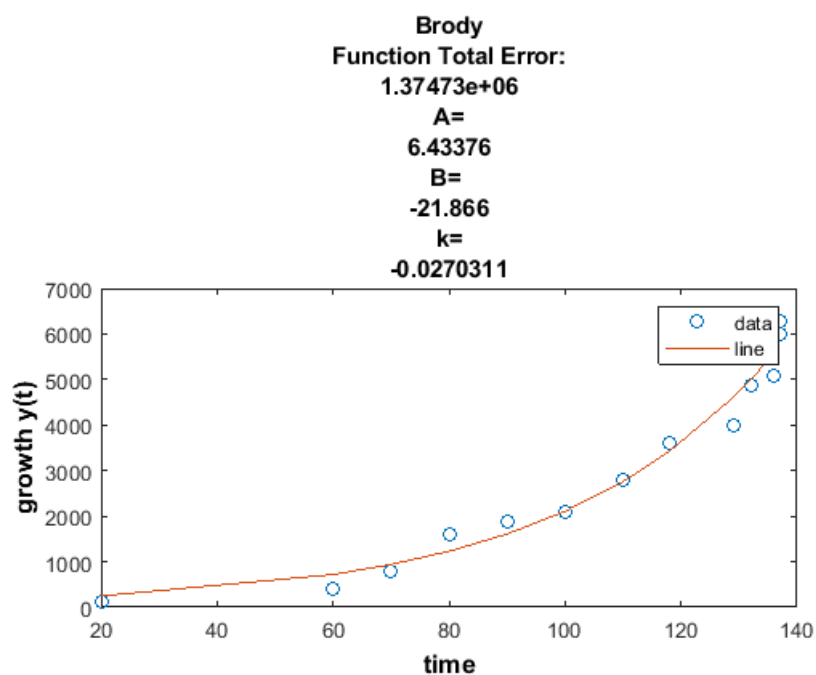
Σχήμα Β'.31: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



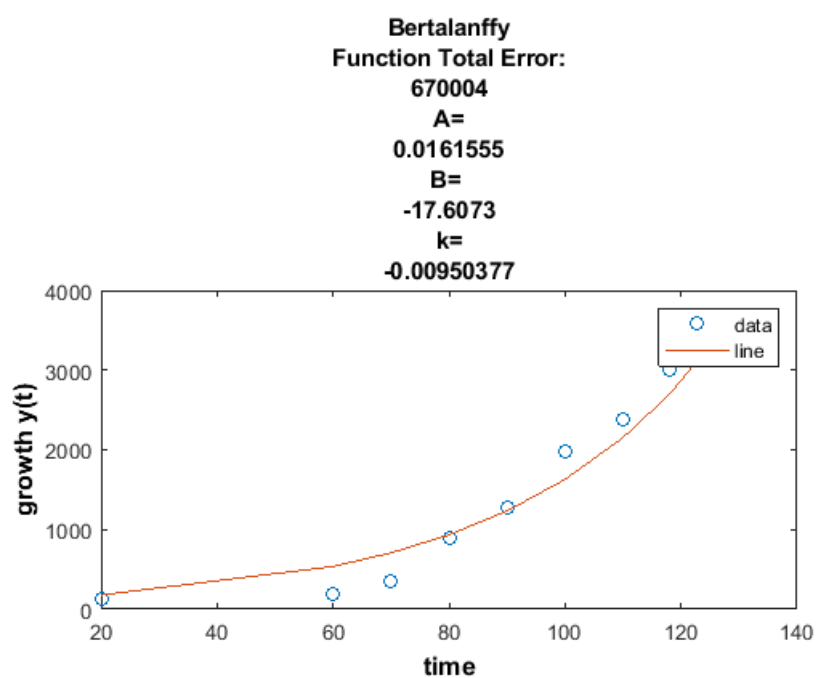
Σχήμα Β'.32: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.33: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

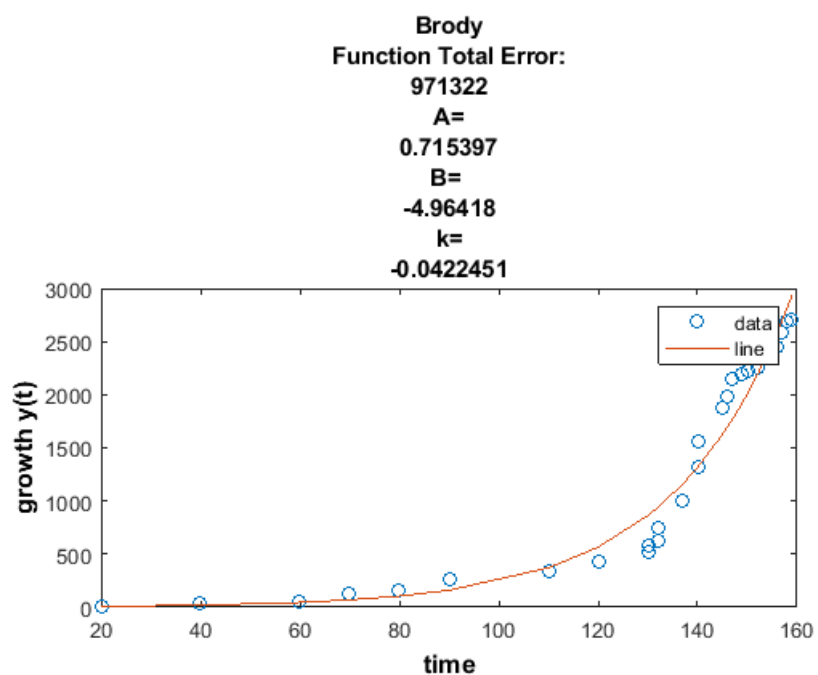


Σχήμα Β'.34: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

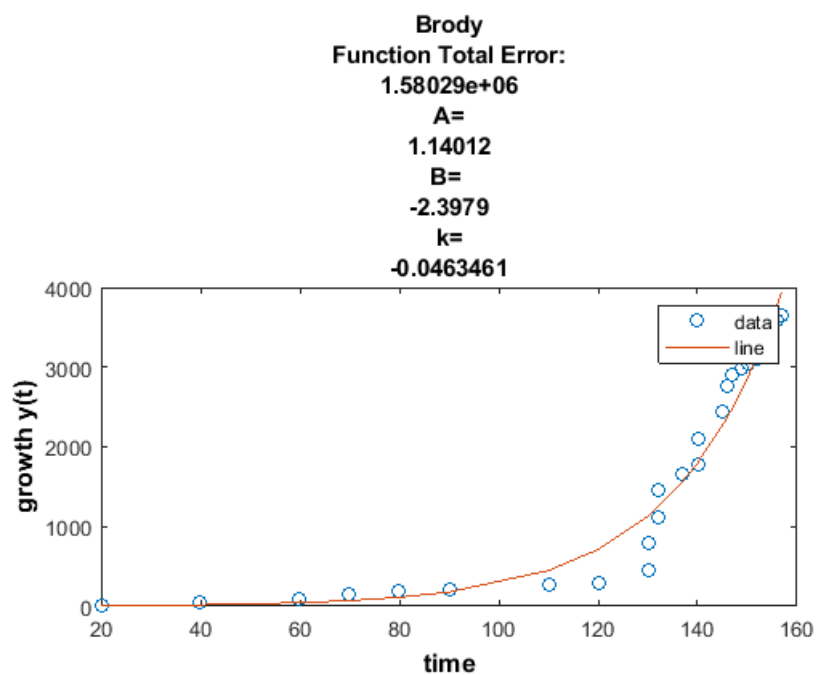


Σχήμα Β'.35: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

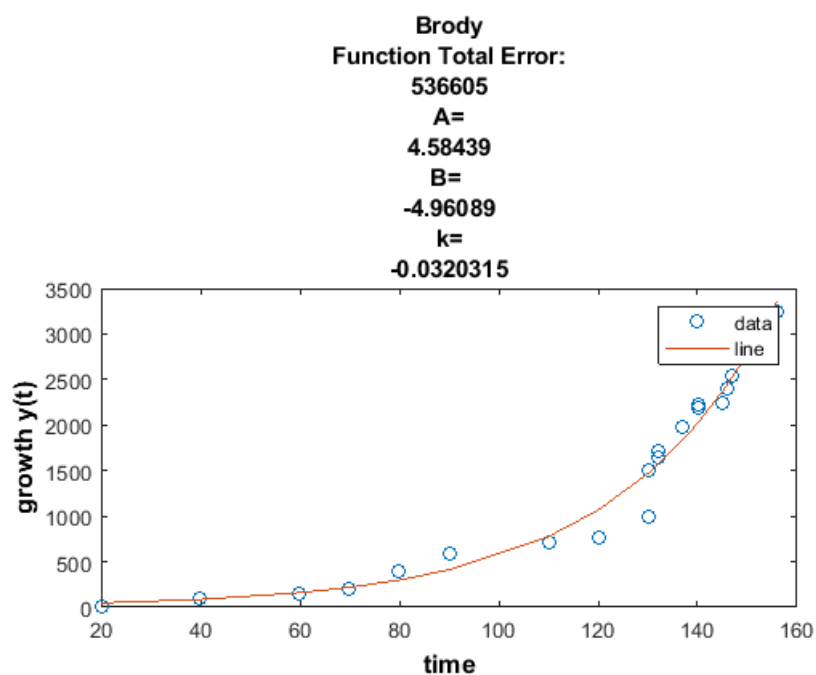
5. Ομάδα L-κυστεΐνης (L-Cystein)



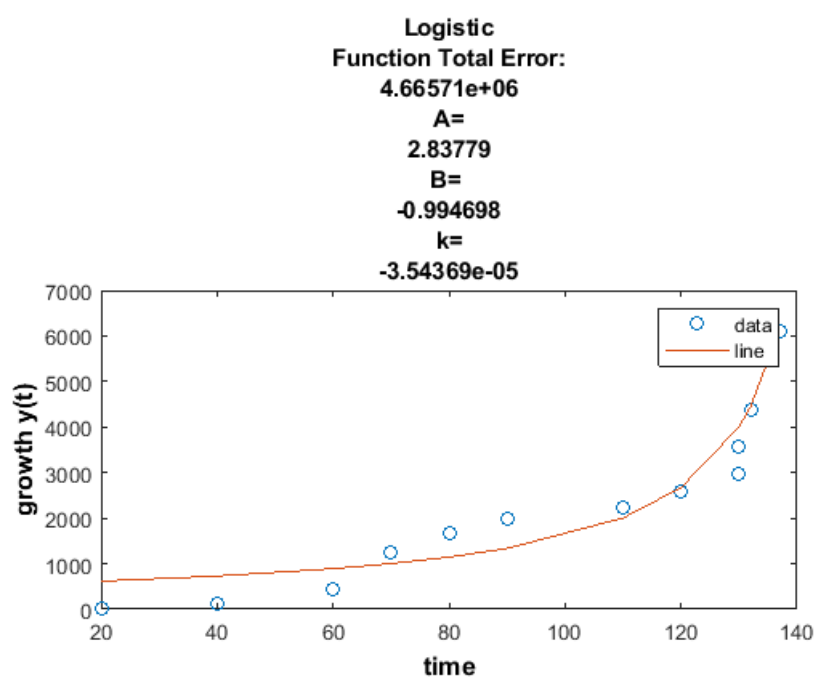
Σχήμα Β'.36: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.37: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

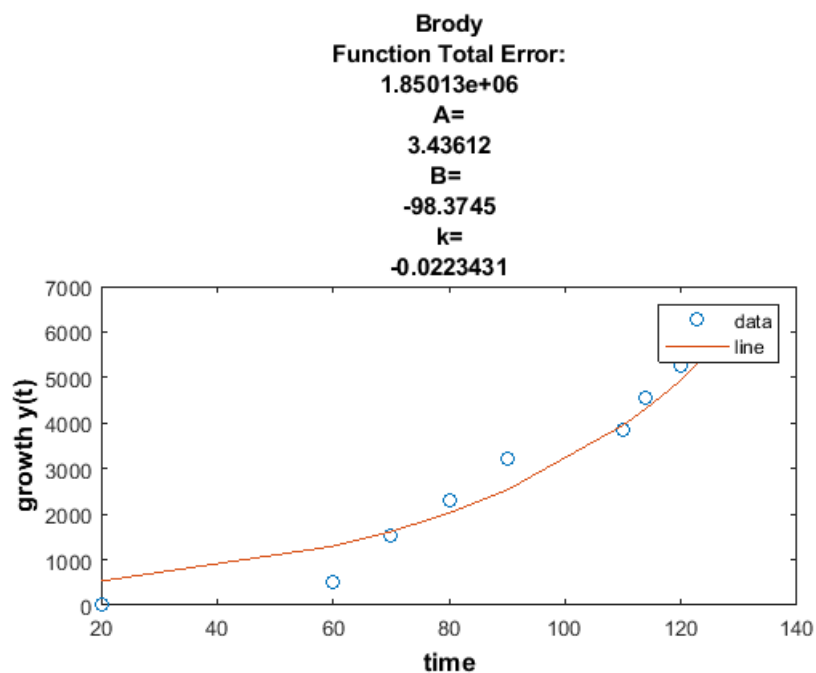


Σχήμα Β'.38: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



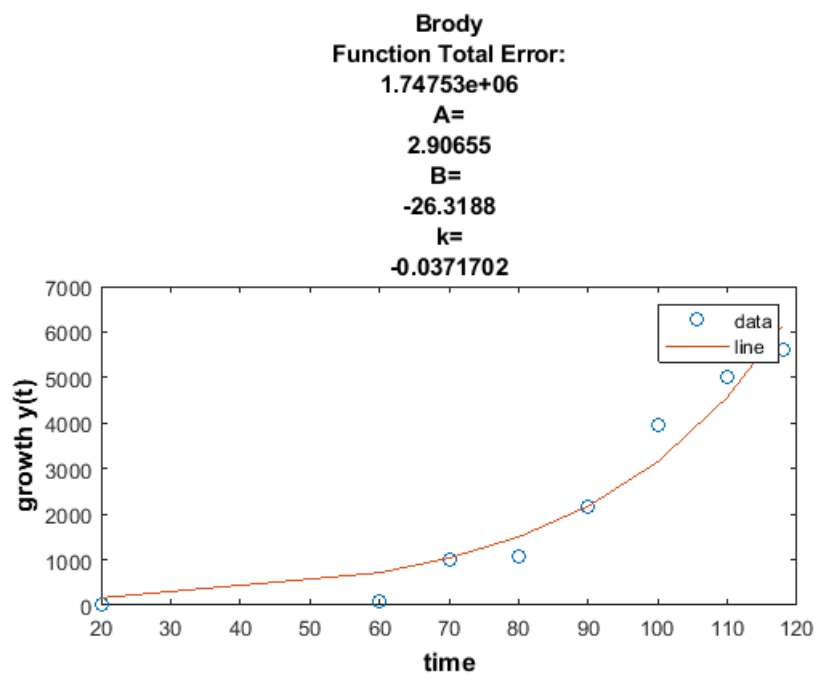
Σχήμα Β'.39: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

6. Ομάδα αιθυλικού εστέρος της L-κυστεΐνης (L-Cystein-Ethylester)

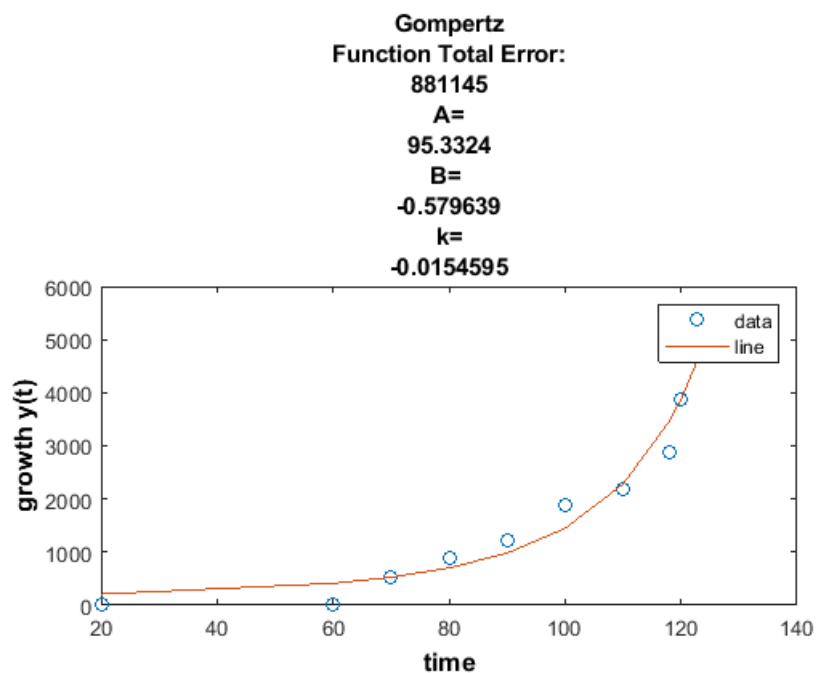


Σχήμα Β'.40: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

7. Ομάδα μερκαπτοηλεκτρικού οξέος (Mercaptosuccinic Acid)

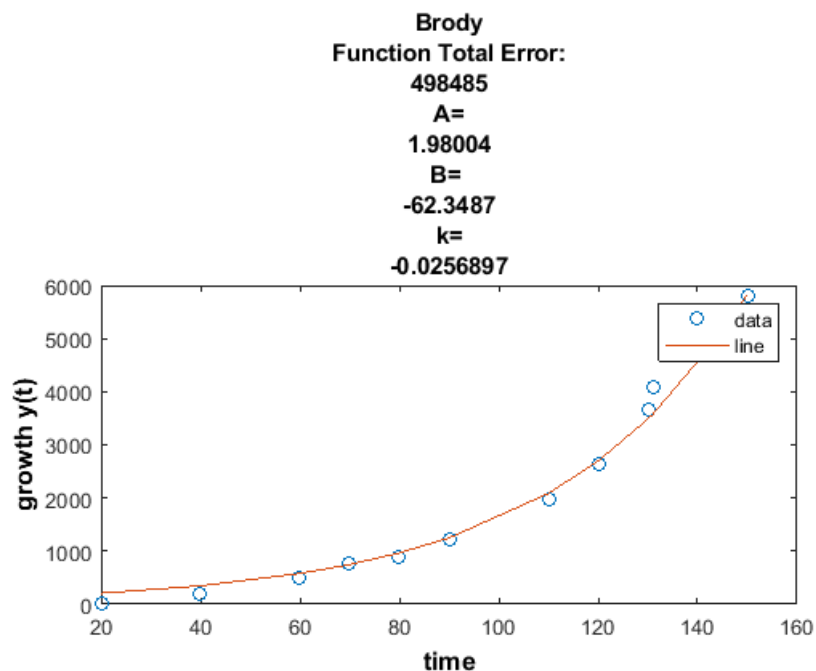


Σχήμα Β'.41: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

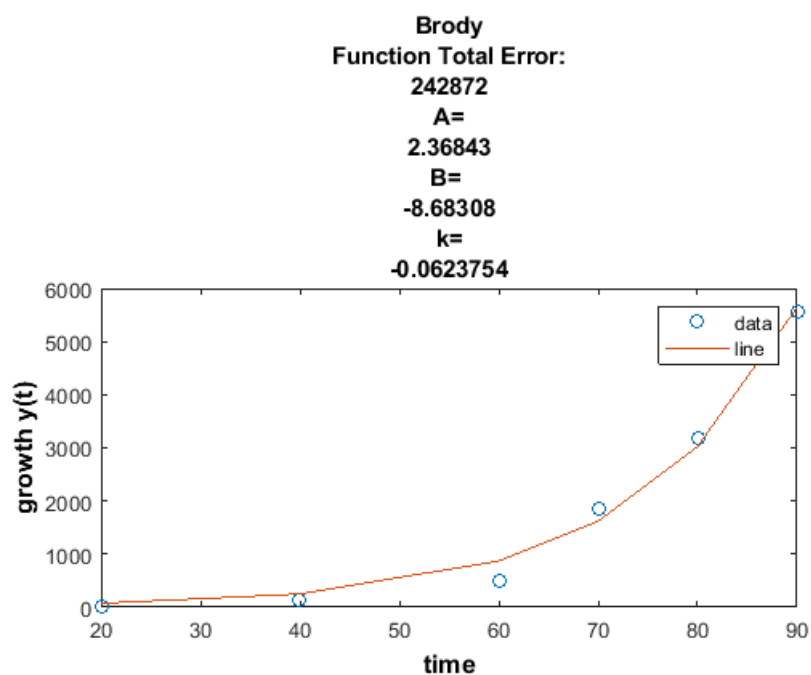


Σχήμα Β'.42: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

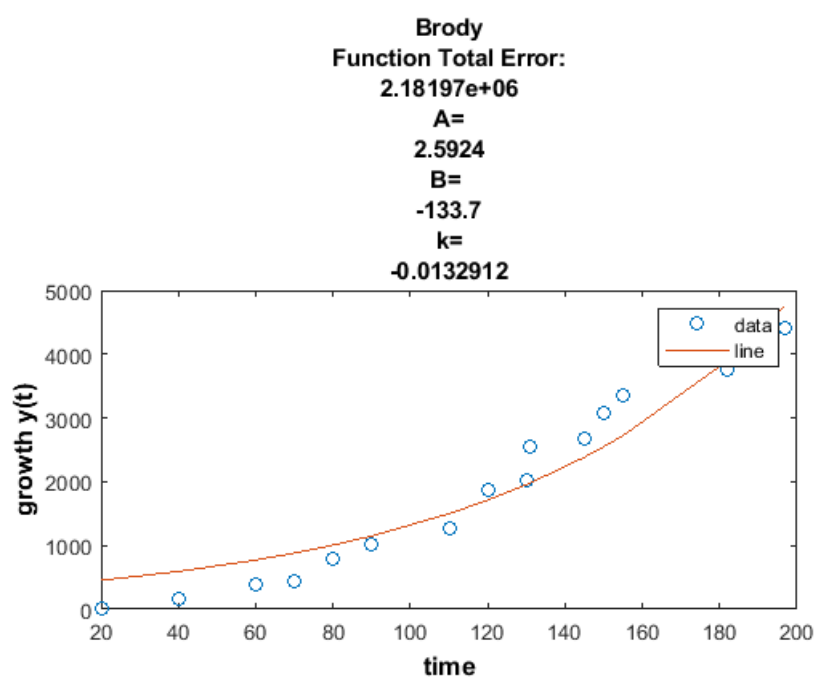
8. Ομάδα διθειοθρεϊτόλης (Dithiothreitol)



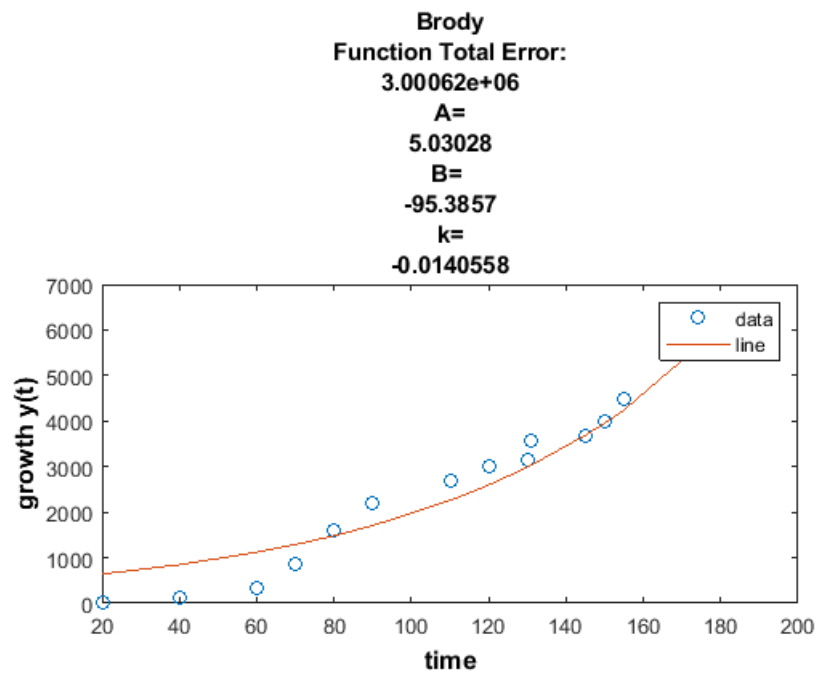
Σχήμα Β'.43: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.44: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.45: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI



Σχήμα Β'.46: Μοντελοποίηση καρκινογένεσης σε NMRI

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

Η Παρασκευή Κουτσή γεννήθηκε στις 23 Ιουνίου στην πόλη των Ιωαννίνων. Ολοκλήρωσε την βασική και μέση εκπαίδευσή της σε δημόσια σχολεία της πόλης των Ιωαννίνων. Κατόπιν, εισήχθη το 2009 μέσω Πανελληνίων εξετάσεων στο Τμήμα Πληροφορικής του Ιονίου Πανεπιστημίου από το οποίο αποφοίτησε το 2014, με πτυχίο "Λίαν Καλώς". Από τον Ιανουάριο του 2010 άρχισε να συνεργάζεται με τον Τομέα Περιβαλλοντικής Φυσιολογίας του Εργαστηρίου Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, συμμετέχοντας στην δημιουργία βάσεων δεδομένων κλινικών στοιχείων, βάσεων δεδομένων ταξινόμησης και χρήσης υλικών, ενώ εκπαιδεύτηκε και συμμετείχε στην πραγματοποίηση πειραμάτων: χημικής καρκινογένεσης και αναστολής αυτής, αιμοπεταλιακής συσώρευσης, αναισθησιολογικών και χειρουργικών χειρισμών πειραματόζων. Από τον Οκτώβριο του 2015 εισήχθη κατόπιν συνεντεύξεως στο Μεταπτυχιακό Τμήμα του Τμήματος Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και παρακολούθησε τις σχετικές παραδόσεις, όπως επίσης υποβλήθηκε με επιτυχία στις προβλεπόμενες εξετάσεις. Μέσα στην διαδικασία του μεταπτυχιακού ανέλαβε ως θέμα "Μαθηματικά ομοιώματα και υπολογιστική αναπαράσταση της χημικής καρκινογένεσης και αναστολής της μέσω χορήγησης αντικαρκινογόνων ουσιών". Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα εστιάζουν στο κομμάτι της έρευνας στην Ιατρική Πληροφορική.