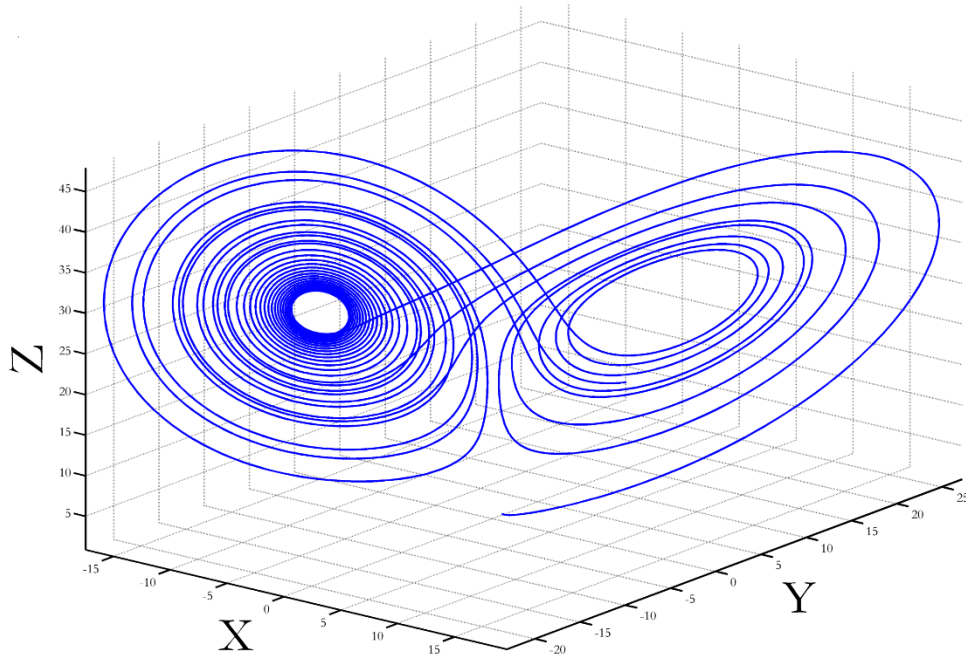




ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Μη-Γραμμική Μαθηματική Προτυποποίηση και Αποτυπώσεις *Poincaré* σε Χρονοσειρές Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Υπό:
Κωνσταντίνου Ι. Αδαμόπουλου
Ηλεκτρολόγου Μηχανικού

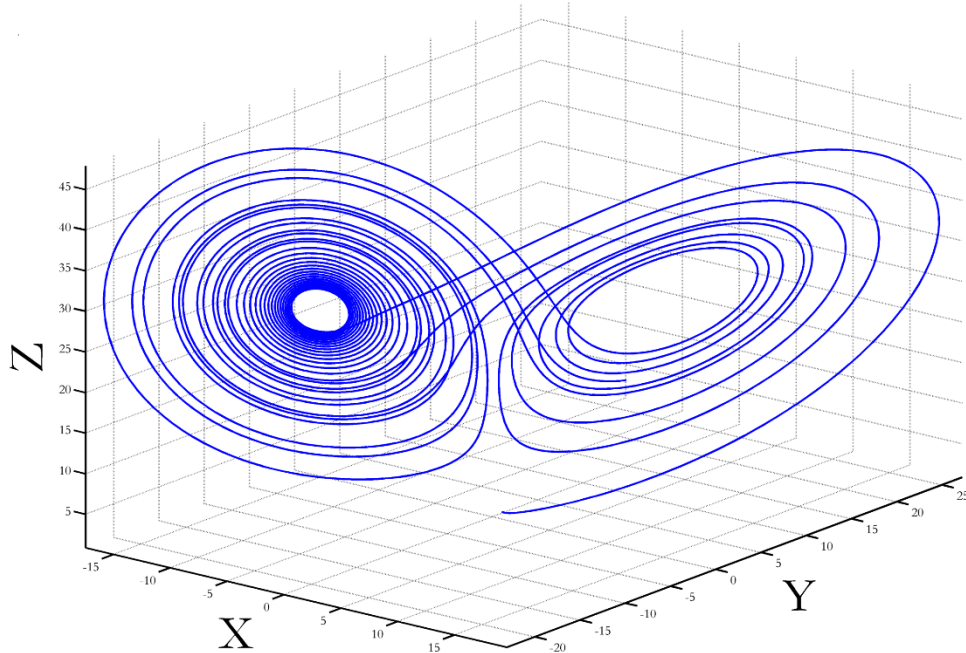
Επιβλέπων: Καθ. Δημήτριος Κουτσούρης

ΑΘΗΝΑ 2019



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Μη-Γραμμική Μαθηματική Προτυποποίηση και Αποτυπώσεις *Poincaré* σε Χρονοσειρές Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Υπό:
Κωνσταντίνου Ι. Αδαμόπουλου
Ηλεκτρολόγου Μηχανικού

Επιβλέπων: Καθ. Δημήτριος Κουτσούρης

ΑΘΗΝΑ 2019



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Μη-Γραμμική Μαθηματική Προτυποποίηση και Αποτυπώσεις *Poincaré* σε Χρονοσειρές Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Υπό:

Κωνσταντίνου Ι. Αδαμόπουλου

Επιβλέπων: Καθ. Δημήτριος Κουτσούρης

ΑΘΗΝΑ 2019

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή στις 17/05/2019.

.....
Δημήτριος Κουτσούρης
Καθηγητής ΕΜΠ

.....
Γεώργιος Ματσόπουλος
Καθηγητής ΕΜΠ

.....
Παναγιώτης Τσανάκας
Καθηγητής ΕΜΠ

.....

.....
(Υπογραφή)

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι. ΑΔΑΜΟΠΟΥΛΟΣ

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Κωνσταντίνος Ι. Αδαμόπουλος, 2019

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Εικόνα εξώφυλλου

Η «Πεταλούδα του Lorenz».

Διάγραμμα, που αναπαράχθηκε στα πλαίσια αυτής της εργασίας με τη χρήση του λογισμικού Matlab® (1).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα βιολογικά συστήματα παρουσιάζουν ντετερμινιστικά χαοτικές συμπεριφορές, υποστήριξαν η *Wolfrom* και η ομάδα της. Προσδοκούμε στην επιβεβαίωση της συγκεκριμένης δήλωσης, μελετώντας μια καλλιέργεια καρκινικών κυττάρων σε εναιώρημα με υλικό RPMI-1640, ενισχυμένο με 2mM-Glutamine, Streptomycin 100μg/ml και Penicillin 100 U/ml (Gibco), 10% FBS (Gibco) στους 37 °C, 5% CO₂ και 100% υγρασία. Συγκεκριμένα εμβαθύνουμε στις μη-γραμμικές δυναμικές ιδιότητες ενός νεοπλάσματος του αιμοποιητικού συστήματος, της Οξείας Λεμφοβλαστικής Λευχαιμίας (ΟΛΛ). Η ΟΛΛ είναι ο συχνότερος τύπος λευχαιμίας της παιδική ηλικίας και αποτελεί το 80% όλων των λευχαιμιών. Αποτελεί επίσης, τη συχνότερη μορφή καρκίνου της παιδικής ηλικίας αντιπροσωπεύοντας το 35% όλων των κακοηθειών. Απαντάται σε όλες τις φυλές και παρουσιάζεται συνήθως στην ηλικία μεταξύ των 3 με 5 ετών.

Η παρούσα εργασία πραγματοποιείται δεδομένα από εργαστηριακά βιολογικά πειράματα τα οποία διεξήγαγε ο Γ. Λάμπρου, αξιοποιώντας την κυτταρική σειρά *CCRF-CEM* (από περιφερικό αίμα καυκάσιου κοριτσιού 2 ετών). Ο ρυθμός ανάπτυξης των καρκινικών αυτών κυττάρων μελετήθηκε με αρχικές συνθήκες συγκέντρωσης είκοσι κύτταρα ανά μικρόλιτρο (20 κύτταρα/μl), καθώς και διακόσια εννιά κύτταρα ανά μικρόλιτρο (209 κύτταρα/μl), με σκοπό να διαλευκανθεί η εξάρτηση και η ευαισθησία του δυναμικού αυτού συστήματος από την μεταβολή των αρχικών συνθηκών. Αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός πως πραγματοποιήθηκαν 80 μετρήσεις στο σύνολο (σε ένα χρονικό διάστημα 150 ημερών) και πως αποφεύχθηκε το φαινόμενο τρυσινισμού κατά τη διαδικασία συλλογής του δείγματος προς μέτρηση.

Η κύρια βαρύτητα της εργασίας, εφόσον αρχικά ορίστηκαν και διατυπώθηκαν λεπτομερώς κάποιες βασικές βιολογικές, χημικές, φυσικές έννοιες, δόθηκε στην κατανόηση των μαθηματικών ιδιοτήτων και εφαρμογών των μη-γραμμικών δυναμικών συστημάτων. Εστίασαμε στην κατασκευή αρκετών ειδών χρονοσειρών του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καθώς και στο μετασχηματισμό αυτών σε τροχιές στο χώρο φάσεων. Όλες οι μαθηματικές προσομοιώσεις υλοποιήθηκαν με χρήση της γλώσσας προγραμματισμού MATLAB®.

Λέξεις κλειδιά: Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, μη-Γραμμικά Δυναμικά Συστήματα, κυτταρικός πολλαπλασιασμός, Χώρος Φάσεων, Δείκτες *Lyapunov*, Θεωρία Χάους, First Return Map, αποτυπώσεις *Poincare*, κυτταρική σειρά *CCRF-CEM*.

ABSTRACT

Biological systems develop deterministic and chaotic behavior, according to *Wolfram et al.* Our expectation is to confirm this statement, by studying a cancer cell culture in suspension, grown in RPMI-1640 medium, 10% FBS and $0.1 \times$ Streptomycin/Penicillin at 37 °C, 5% CO₂ and ~100% humidity. In particular, we will examine in depth the nonlinear dynamic properties of a hematopoietic neoplasm of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). ALL is the most common type of childhood leukemia and accounts for 80% of all leukemias. It is also the most common form of childhood cancer accounting for 35% of all malignancies. It occurs in all tribes and is usually presented at the age between three and five.

This dissertation deals with data from laboratory experiments conducted by G. I. Lambrou, using the *CCRF-CEM* cell line (2-year-old Caucasian female's peripheral blood). The growth rate of these cancer cells was studied at an initial concentration of twenty cells per microliter (20 cells/ μ l) as well as two hundred nine cells per microliter (209 cells/ μ l), in order to examine the dependence and sensitivity of this dynamic system to the change of the initial conditions. It should be noted that 80 measurements were taken in total (over a period of 150 days) and that trypsinization was avoided during the collection of the measured sample.

The main focus of the present work, following initial definitions of some basic biological, chemical, physical concepts, was attributed to the understanding of the mathematical properties and applications of non-linear dynamic systems. We paid particular attention on the construction of several types of timelines of cell proliferation, as well as the transformation of these in orbits, in Phase Space. All mathematical simulations were carried out using MATLAB® programming language.

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL), Non Linear Dynamic Systems, Cell Proliferation, Phase Space, Lyapunov's exponents, Theory of Chaos, First Return Map, Poincare Maps, *CCRFCEM*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. *Δ. Κουτσούρη*, διευθυντή του Εργαστηρίου Βιοϊατρικής Τεχνολογίας στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, για την ανάθεση της διπλωματικής αυτής εργασίας, καθώς και τον υπεύθύνό μου, κ. *Γιώργο Λάμπρου*, μέλος Ε.ΔΙ.Π. της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ) και ερευνητή του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου της Α' Παιδιατρικής Κλινικής του ΕΚΠΑ, για την ανάθεση του θέματος της παρούσας εργασίας έπειτα από αρκετό χρόνο αναζήτησης και συζητήσεων και για τη συνεχή παροχή βιβλιογραφικού υλικού και ερευνητικών δεδομένων των πειραμάτων του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον *Βασίλη Μανουρά* (*Ηλεκτρολόγος Μηχανικός & Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.*) και την *Φωτεινή Διαμαντοπούλου* (*Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ*) για την συνεισφορά τους και την επίβλεψή τους στο μαθηματικό και βιολογικό τομέα της εργασίας, αντίστοιχα. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον *Θεόδωρο Βυλτανιώτη-Βυργιώτη* (*Μεταπτυχιακό φοιτητή MBA στο Ο.Π.Α*) για την αλληλεπίδραση στα θέματα της Θεωρίας Παιγνίων και της Φυσικής. Τέλος, είμαι ευγνώμων για τη βοήθεια που μου προσφέρουν η οικογένειά μου και οι κοντινοί μου άνθρωποι όλο το χρονικό διάστημα στην προσπάθεια αυτή.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	VI
ABSTRACT.....	VII
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	VIII
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	IX
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	XI
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΞΙΣΩΣΕΩΝ.....	XV
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	XVII
ΜΕΡΟΣ Ι-ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	XIX
1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ	1
1.1. Η ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΩΣ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΜΕΝΩΝ 4	
1.2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	6
2. Ο ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΟΣΜΟΣ	7
2.1. ΜΙΑ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	7
2.2. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ.....	8
2.2.1. Το Κύτταρο.....	8
2.2.2. Ο Μικρόκοσμος-Η Κλίμακα	10
2.2.3. Η Ευκαρυωτική Εξελικτική Θεωρία	11
2.3. Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ	12
2.4. Η ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ ΜΕΤΑΦΡΑΖΕΤΑΙ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ.....	16
2.5. Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ.....	19
2.5.1. Ο Κυτταρικός Κύκλος.....	19
2.5.2. Σύστημα Ελέγχου του Κυτταρικού Κύκλου	21
2.6. ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	24
3. ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) (ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL)) της ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ	26
3.1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ.....	26
3.2. ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ.....	26
3.3. Η ΟΓΚΟΓΟΝΟΣ ΚΙΝΑΣΗ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ	27
3.4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΟΛΛ.....	27
3.5. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ CCRF-CEM	28
4. ΧΑΟΣ ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	29
4.1. ΧΑΟΣ, ΤΙ ΚΥΡΙΑΡΧΕΙ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ; ΤΥΧΗ Ή ΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ;.....	29
4.1.1. Από τον Ησίοδο στον Poincaré.....	29
4.1.2. Η Παρατήρηση του Edward N. Lorenz.....	32
4.2. ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ.....	35
4.3. ΧΩΡΟΣ ΦΑΣΕΩΝ, ΕΛΚΥΣΤΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΥΠΩΣΕΙΣ POINCARÉ.....	39
4.3.1. Χώρος Φάσεων (Phase-Space).....	39
4.3.2. Σημεία Ισορροπίας (Fixed Points)	39
4.3.3. Ελκυστές (Attractors).....	40
4.3.4. Αποτυπώσεις Poincaré (Poincaré Maps).....	42
4.4. Ο «ΑΠΕΡΙΟΔΙΚΟΣ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΣ», Η ΣΙΓΜΟΕΙΔΗΣ ΕΞΙΣΩΣΗ (LOGISTIC EQUATION) ΚΑΙ Ο ΔΕΙΚΤΗΣ LYAPUNOV	45
4.4.1. Ο Απεριοδικός Κρύσταλλος του Erwin Schrödinger	45
4.4.2. Η Σιγμοειδής Εξίσωση (Logistic Equation).....	47

4.4.3. Εκθέτης <i>Lyapunov</i>	52
4.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ, ΚΒΑΝΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΑΣ ΠΑΙΓΝΙΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ: ΜΙΑ ΣΥΝΤΟΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑ	54
4.5.1. Παίγνια και Κυτταρικός Πολλαπλασιασμός.....	54
4.5.2. Προσεγγιστικές Μέθοδοι στη Θεωρία Παίγνιων	56
4.5.3 Κβαντική Βιολογία και Θερμοδυναμικές ιδιότητες του Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού	59
ΜΕΡΟΣ ΙΙ-ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	61
5. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ <i>IN VITRO</i> ΣΥΝΘΗΚΕΣ	62
5.1. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ CCRF-CEM	62
5.2. ΑΠΟΨΥΞΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΑ ΦΥΛΑΞΗ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΓΡΟΥ ΑΖΩΤΟΥ.....	63
6. ΟΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ	65
6.1. ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΜΕΤΡΙΑ	65
6.2. ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ COULTER	69
7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ (TIME SERIES EXPERIMENTS).....	71
8. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	72
ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	73
9. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	74
10. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	77
11. Ο ΧΩΡΟΣ ΦΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ & ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΩΝ LYAPUNOV	81
12. ΑΠΟΤΥΠΩΣΕΙΣ <i>POINCARÉ</i> ΣΤΟ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΟ ΧΩΡΟ ΦΑΣΕΩΝ.....	88
ΜΕΡΟΣ ΙV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	97
13. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	98
14. ΑΝΤΙ ΕΠΙΛΟΓΟΥ.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	102

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. <i>Ισαάκ Νεύτων</i> (αριστερά) έργο του <i>Godfrey Kneller</i> (Λονδίνο, 1689) και <i>Henri Poincaré</i> (δεξιά) (πηγή: www.wikipedia.org).....	2
Εικόνα 2. <i>Robert Hooke</i> (1635).....	7
Εικόνα 3. <i>Francis Collins</i> (1950) (<i>The language of God</i> : Free Press;2006).....	8
Εικόνα 4. Κυτταρική δομή (ευκαρυώτης).....	9
Εικόνα 5. Διακριτά όρια μικροσκοπίων.....	11
Εικόνα 6. Από πού προήλθαν οι ευκαρυώτες; Ευκαρυωτική εξελεκτική θεωρία (πηγή: <i>Alberts et al</i> (2011) p. 69).....	12
Εικόνα 7. Η πληροφορία αποτελείται από 5 χημικά στοιχεία: C, O, H, N, P.....	13
Εικόνα 8. Πεντόζες ριβόζης και δεοξυριβόζης.....	14
Εικόνα 9. Το DNA συμπιεσμένο σε μορφή χρωμοσώματος στον κυτταρικό πυρήνα (πηγή: www.ebooks.edu.gr).....	15
Εικόνα 10. Καρυότυπος αρσενικού ανθρώπου.....	15
Εικόνα 11. Λειτουργία RNA πολυμεράσης κατά τη μεταγραφή.....	16
Εικόνα 12. Από την πληροφορία στην πρωτεΐνη.....	17
Εικόνα 13. Οι φάσεις της μίτωσης.....	20
Εικόνα 14. Ο Κυτταρικός κύκλος (πηγή: http://mde-didaktiki.biol.uoa.gr).....	22
Εικόνα 15. Cd κινάση ενεργοποιείται με την πρόσδεση της κυκλίνης.....	23
Εικόνα 16. Μετάσταση μέσω λεμφικού συστήματος και περιφερικού αίματος (24).....	25
Εικόνα 17 “ <i>The Solvay Conference, probably the most intelligent picture ever taken</i> ”, <i>Βρυξέλλες 1927</i> . Ο <i>Albert Einstein</i> στην πρώτη σειρά στο κέντρο, ο <i>Erwin Schrödinger</i> στην τελευταία σειρά στο κέντρο, ο <i>Werner Heisenberg</i> στην τελευταία σειρά τρίτος από δεξιά, ο <i>Niels Bohr</i> στην δεύτερη σειρά πρώτος από δεξιά και ο <i>Max Planck</i> στην πρώτη σειρά δεύτερος από αριστερά.....	30
Εικόνα 18. <i>Henri Poincare</i> (αριστερά) και <i>Erwin Schrödinger</i> (δεξιά) (πηγή: www.wikipedia.org).....	31
Εικόνα 19. Χάος σε ηλεκτρονικό κύκλωμα (51) (p. 226).....	32
Εικόνα 20. Τυρβώδης ροή σε υγρό με διαφορά θερμοκρασίας (53) (p. 51).....	33
Εικόνα 21. Ο Ελκυστής του Lorenz (<i>Lorenz attractor</i>). Μικρές αλλαγές στους παράγοντες του συστήματος επιφέρουν μεγαλύτερες αλλαγές στη συμπεριφορά του συστήματος. Εδώ παρουσιάζεται η επίδραση από τη μεταβολή του παράγοντα ρ για $\rho=13$ (A), $\rho=14$ (B), $\rho=15$ (C), $\rho=28$ (D).....	35
Εικόνα 22. Η δυναμική δύο ειδών πληθυσμών συναρτήσει του χρόνου (A) και σε διάγραμμα phase-space, όπου φαίνεται η μη-γραμμική δυναμική τους και η εμφάνιση των ελκυστών που είχαν δειχθεί στα μοντέλα του Lorenz (B). Στο διάγραμμα (A) παρατηρούμε την ταλαντωτική μορφή που έχει ο	

πληθυσμός των ειδών που μελετώνται και η άμεση αλληλεπίδραση και αλληλεξάρτηση τους. Όταν μοντελοποιηθούν οι δύο πληθυσμοί ξεχωριστά ο ένας από τον άλλο αλλά με περιορισμούς στους πόρους (C) τότε οι δύο πληθυσμοί γίνονται ασυμπτωτικοί και πλησιάζουν ένα σταθερό σημείο ισορροπίας. Αντίστοιχα η διαγραμματική απεικόνιση ως phase-space, εμφανίζει πάλι ελκυστές κάτι το οποίο είναι σημάδι μη-γραμμικής συμπεριφοράς (D).....	38
Εικόνα 23. Χώρος φάσεων (Phase-space) χρονοσειρών (53) (p. 50).....	41
Εικόνα 24. Παραδείγματα των τομών <i>Poincare</i> . Ένα γράφημα ($P(x)$) τέμνει μια επιφάνεια σε δύο σημεία	43
Εικόνα 25. Παραδείγματα παράξενων ελκυστών (53) (p. 142).	45
Εικόνα 26. Ο Δίας είναι ένα εξ ολοκλήρου ρευστό σε κίνηση και η μεγάλη κόκκινη κηλίδα στο νότιο ημισφαίριο είναι μια τεράστια δίνη από αέρια, φυλακισμένη μέσα σε τεράστιες, οριζόντιες λωρίδες νέφους. Η κηλίδα μπορεί να νοηθεί ως ένα σύστημα που οργανώνεται μόνο του, μια σταθερή περιοχή που δημιουργήθηκε και συντηρήθηκε από το χάος που ήταν υπεύθυνο για όλη την αναταραχή που την περιέβαλε. Μια νησίδα σταθερότητας με δομές σε έναν ωκεανό αστάθειας από μη δομές (76) (<i>Juno Image Gallery, πηγή: NASA</i>).....	46
Εικόνα 27. Γραφική αναπαράσταση της σιγμοειδούς συνάρτησης (21).....	48
Εικόνα 28. Οι τροχιές των τιμών x , y όπως αυτές αντικατοπτρίζονται ως ένα cobweb plot. Όταν οι απεικονίσεις γίνονται περιοδικές, αυτό είναι ένα στοιχείο του χάους (21).	48
Εικόνα 29. Μεγέθυνση τμήματος της σιγμοειδούς συνάρτησης, όπου φαίνεται η αντιστοίχιση των τιμών x , y και πως αυτές συγκλίνουν προς ένα απεριοδικό σημείο. Αυτό αποτελεί ένα χαρακτηριστικό της χαοτικής συμπεριφοράς (21).	49
Εικόνα 30. Το δενδρόγραμμα των τιμών της k (21).....	52
Εικόνα 31. Το δενδρόγραμμα των τιμών της k με τις φάσεις που επικρατούν ανάλογα με αυτό (53) (p. 71).	53
Εικόνα 32. Διαγραμματική αναπαράσταση των βασικών μοντέλων παιγνίων για την πολλαπλασιαστική δυναμική των νεοπλασματικών κυττάρων. Η κλασική θεώρηση για την αύξηση ενός όγκου: Τα γενετικώς μετασηματισμένα κύτταρα (μαύρο χρώμα) πολλαπλασιάζονται. Σε αυτή τη διαδικασία ο κυτταρικός θάνατος λαμβάνει χώρα λόγω του ανταγωνισμού για πόρους (A). Μια από τις βασικές υποθέσεις για την αύξηση των νεοπλασματικών κυττάρων αναφέρεται στη συνεργασία. Τα αρχικά κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) διαιρούνται σε νέους πληθυσμούς (γκρι χρώμα), τα οποία με τη σειρά τους συνεργάζονται για να παράξουν έναν τρίτο πληθυσμό (μαύρο χρώμα) εξελικτικά πιο βέλτιστο και ικανό να συνεχίσει την προαγωγή του όγκου (B). Τελική υπόθεση για την αύξηση των νεοπλασματικών κυττάρων, όπου τα αρχικά κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) γεννούν δύο νέους πληθυσμούς (κόκκινο χρώμα και μαύρο χρώμα) ικανούς να συνεχίσουν τη νεοπλασία αλλά μόνο σε συνεργασία, παράγοντας π.χ. αυξητικούς παράγοντες (Growth Factors A, B) απαραίτητους για τον κάθε πληθυσμό χωρίς τους οποίους κανείς δεν μπορεί να προχωρήσει παρά μόνο σε συνέργεια (C) (Σχήμα προσαρμοσμένο από (1, 85-87)).	56
Εικόνα 33. Πανοραμική διάταξη του συστήματος μικροσκοπίας και ανάλυσης εικόνας (A) και επεξηγηματική παρουσίαση (B) (1).	66
Εικόνα 34. Η μορφολογία των κυττάρων <i>CCRF-CEM</i> . Η λήψη έγινε με ανάστροφο μικροσκόπιο και αντιστροφή φάσης και φίλτρο πολωμένου φωτός (μεγέθυνση $\times 100$) (1).	67
Εικόνα 35. Μικρόμετρο Nikon τύπου MBM 11100 (stage micrometer type A), συνολικού μήκους 1mm και διαβάθμιση 0.01mm (=100 μ m). Παρουσιάζονται, το συνολικό οπτικό πεδίο του μικροσκοπίου σε μεγέθυνση $\times 100$ συμπεριλαμβανομένης της κλίμακας (A) και η κλίμακα με διόρθωση γωνίας 1° μοίρας (B) (1).	68

Εικόνα 36. Η αρχή της μεθόδου <i>Coulter</i> , για τη μέτρηση κυττάρων (1).....	70
Εικόνα 37. Διαγραμματική παρουσίαση της πειραματικής διάταξης των χρονοσειρών για κύτταρα σε εναιώρημα (1).....	71
Εικόνα 38. Ενδεικτικά πειράματα χρονοσειρών με κύτταρα CCRFCEM, από αρχική συγκέντρωση 20cells/ul. Παρουσιάζονται δύο πειράματα (Experiment 1, επάνω και Experiment 2, κάτω).....	75
Εικόνα 39. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).	75
Εικόνα 40. Ενδεικτικά πειράματα χρονοσειρών με κύτταρα CCRFCEM, από αρχική συγκέντρωση 209cells/ul. Παρουσιάζονται δύο πειράματα (Experiment 1, επάνω και Experiment 2, κάτω).....	76
Εικόνα 41. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).	76
Εικόνα 42. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον πραγματικό όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).....	78
Εικόνα 43. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).	78
Εικόνα 44. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον πραγματικό όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).....	79
Εικόνα 45. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).	79
Εικόνα 46. Συγκριτικό διάγραμμα του κυτταρικού πληθυσμού ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 20cell/ul και 209cells/ul.	80
Εικόνα 47. Χώρος φάσεων για την πειραματική διάταξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αρχικό αριθμό κυττάρων 20cell/ul.....	82
Εικόνα 48. Χώρος φάσεων για την πειραματική διάταξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αρχικό αριθμό κυττάρων ~200cell/ul.....	82
Εικόνα 49. Η ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$	83
Εικόνα 50. Υπολογισμός του δείκτη <i>Lyapunov</i> του κυτταρικού πολλαπλασιασμού για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 20cells/ul και 209cells/ul, όπου $x_0=20/\text{max}$ και $x_0'=209/\text{max}$, $\Delta_0= x_0-x_0' =189/\text{max}$. Ο τρόπος υπολογισμού των δεικτών <i>Lyapunov</i> που χρησιμοποιήσαμε περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.4.3. Εξίσωση 22 της παρούσης εργασίας, παίρνοντας ως max πληθυσμό περιβάλλοντος τον μέγιστο αριθμό κυττάρων ανά μικρόλιτρο σύμφωνα με τα δεδομένα του πειράματος λαμβάνοντας υπόψιν και τις δύο αρχικές συγκεντρώσεις. Παρατηρούμε πως η πλειοψηφία των λ_i	

είναι θετικοί (θα αρκούσε ένα $\lambda > 0$), έτσι επιβεβαιώνεται η ευαίσθητη εξάρτηση της δυναμικής από τις αρχικές συνθήκες καθώς και η χαοτική συμπεριφορά του συστήματος..... 87

Εικόνα 51. Η τομή *Poincaré* στον πρώτο κύκλο του χώρου φάσεων με σεσημασμένες τις πρώτες τροχιές. Ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$ 88

Εικόνα 52. Η συγκεντρωτική απεικόνιση όλων των σημείων τομής των κυκλικών τροχιών του χώρου φάσεων ανεξαρτήτως φοράς. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$ 94

Εικόνα 53. Οι τομές *Poincaré* που βρέθηκαν στην προηγούμενη εικόνα (**Εικόνα 51**) αναπαρίστανται στο επίπεδο. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στις απεικονίσεις S και S' και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων. Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$ 95

Εικόνα 54. Οι τομές *Poincaré* της προηγούμενης εικόνας (**Εικόνα 53**) τοποθετήθηκαν σε ζεύγη κατά τέτοιο τρόπο ώστε να φαίνεται η μετάβαση από το S στην απεικόνισή του S' . Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$ 95

Εικόνα 55. Οι τομές *Poincaré* της προηγούμενης εικόνας (**Εικόνα 57**) τοποθετήθηκαν σε ζεύγη κατά τέτοιο τρόπο ώστε να φαίνεται η μετάβαση από το ένα σημείο (του S) του χώρου φάσεων στην αποτύπωση S' . Ο άξονας των x αντιστοιχεί στις απεικονίσεις S και S' που βρέθηκαν από τις τομές *Poincaré* και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων και ο άξονας z αντιστοιχεί στις τομές *Poincaré* που επιχειρήσαμε σε οχτώ διαφορετικές τροχιές του χώρου φάσεων. Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$ 96

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΞΙΣΩΣΕΩΝ

$\beta \cdot Y = F(X, \beta)$, Εξίσωση 1	4
$E(Y X) = f(X, \beta)$, Εξίσωση 2	5
$\rho = \frac{\sigma_{x,y}}{\sigma_x \sigma_y}$, Εξίσωση 3	5
$\frac{dx}{dt} = s(y - x)$	
$\frac{dy}{dt} = x(r - z) - y$, Εξίσωση 4 . Σύστημα εξισώσεων των ατμοσφαιρικών ροών του Lorenz. ...	34
$\frac{dz}{dt} = xy - bz$	
$x(t) = (x_1(t), x_2(t), \dots, x_N(t)), t \in I = (a, b)$, Εξίσωση 5 . Δυναμικό σύστημα συνεχούς χρόνου..	36
$\dot{x}_k = f_k(x, t), k = 1, 2, \dots, N$, Εξίσωση 6	36
$\left. \begin{array}{l} \dot{x}_1 = ax_1 - x_1x_2 \\ \dot{x}_2 = ax_2 - x_1x_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ \cdot \\ \dot{x}_N = ax_N - x_1x_2 \end{array} \right\}$, Εξίσωση 7 , όπου a, b θετικοί αριθμοί.....	36
$x_n = x(t_n) = (x_{1,n}, x_{2,n}, \dots, x_{N,n}), x_{k,n} = x_k(t_n)$, Εξίσωση 8 (55).....	36
$x_{n+1} = g(x_n)$ $x_{k,n+1} = g_n(x_n), k = 1, 2, \dots, N$, Εξίσωση 9	37
$\dot{x} = a + bx + cx^2$, Εξίσωση 10 , όπου αν a, b, c είναι σταθερές η εξίσωση επιδέχεται γενική λύση.	37
$\dot{x} = a + bx_n + cx_n^2$, Εξίσωση 11 , όπου ανεξάρτητα των a, b, c η εξίσωση δεν έχει λύση και περιέχει όλες τις μέχρι τώρα γνωστές μορφές χαοτικής συμπεριφοράς (55).....	37
$\frac{dy}{dt} = x(a - by)$ Εξίσωση 12 . Σύστημα εξισώσεων Predator-Prey των Lotka-Volterra.	37
$\frac{dy}{dt} = -y(g - dx)$	
$\left. \begin{array}{l} \dot{\xi}_1 = a\xi_1, \dots, a\xi_n = -b\xi_2 \\ \dot{\xi}_2 = a\xi_1, \dots, a\xi_n = -b\xi_2 \end{array} \right\}$, Εξίσωση 13	39

$\dot{x} = f(x), U \in \mathbf{R}^N \rightarrow \mathbf{R}^N$, Εξίσωση 14	42
$x_t = kx_t(1 - x_t) = 0 \Rightarrow x_t = 0, x_t = \frac{R-1}{R}$, Εξίσωση 15 , Όπου (x', y') είναι το σημείο της απεικόνισης επαναφοράς του (x, y)	43
$(x_2, y_2) = P(P(x_0, y_0) = P^2(x_0, y_0))$, Εξίσωση 16 , άρα $(x_n, y_n) = P^n(x_0, y_0)$	43
$f(x) = kx(1-x)$, Εξίσωση 17 . Απλοποιημένη μορφή της σιγμοειδούς συνάρτησης.....	47
$x_t = kx_t(1 - x_t) = 0 \Rightarrow x_t = 0, x_t = \frac{R-1}{R}$, Εξίσωση 18 . Απλοποιημένη μορφή της σιγμοειδούς συνάρτησης.....	47
$x_{n+1} = kx_n(1 - x_n), n = 0, 1, 2, \dots, n, \wedge k > 0$, Εξίσωση 19	49
$x_1 = 2x_0, x_2 = 2x_1, \dots, x_{n-1} = 2x_{n-2}, x_n = 2x_{n-1}, x_{n+1} = 2x_n$, Εξίσωση 20	49
$\Delta_0 = x_0 - x'_0 = 0.00001$, Εξίσωση 21	51
$\Delta_n = x_n - x'_n = \Delta_0 e^{\lambda n}$, Εξίσωση 22	52
$\ln\left(\frac{\Delta_n}{\Delta_0}\right) = n\lambda$, Εξίσωση 23	52
$\left\{ \begin{array}{l} \lambda = \frac{1}{n} \ln\left(\frac{dx'_n}{dx}\right) \\ \lambda = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \sum_{i=0}^{n-1} \ln x'_i \end{array} \right\}$, Εξίσωση 24	53
$\frac{dN_j(t)}{dt} = N_j(t)p_{jk}$, Εξίσωση 25	58

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Μετά από πολλά έτη έρευνας, η ικανότητα μας να διαγιγνώσκουμε τον καρκίνο, να τον θεραπεύουμε και να αποτρέπουμε τη μετάσταση είναι ακόμα περιορισμένη. Είναι πολύ πιθανό είτε να μας λείπουν ακόμα πολύ βασικές γνώσεις για τη βιολογία του είτε να κοιτάμε προς τη λάθος κατεύθυνση. Όπως θα δούμε και στις επόμενες ενότητες, υπάρχουν θέματα στην ανάλυση και κατανόηση των πειραματικών δεδομένων, τα οποία ενώ λαμβάνονται ως δεδομένα, δεν είναι. Επί παραδείγματι, πρέπει να αναφέρουμε ότι ενώ στις νεοπλασίες ο κυτταρικός πληθυσμός θεωρείτο ομοιογενής, αποδεικνύεται ότι τελικά δεν είναι. Όχι μόνο δεν είναι αλλά στην πορεία απεδείχθη ότι υπάρχουν μικρότερες οικογένειες κυττάρων, τα βλαστικά καρκινικά κύτταρα, τα οποία φαίνεται να υποκινούν τον καρκινικό πολλαπλασιασμό. Πηγαίνοντας ένα βήμα πιο πέρα, δείχθηκε σε πρόσφατη εργασία ότι και αυτά ακόμα τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα δεν είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη μιας νεοπλασίας (2). Ένα από αυτά, τα οποία θεωρούνταν ως δεδομένα ήταν και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Αναφερόμενοι σε αυτό το φαινόμενο δεν εννοούμε τον κυτταρικό κύκλο, ο οποίος είναι ένα πολύ δύσκολο και περίπλοκο φαινόμενο, αλλά μιλάμε για τη διαίρεση των κυττάρων και την αύξηση του πληθυσμού τους. Το γεγονός, ότι μακροσκοπικά ένας κυτταρικός πληθυσμός αυξάνεται ή μειώνεται θεωρείται ως κάτι δεδομένο. Έχει δειχθεί όμως, ότι η δυναμική που παρουσιάζει ένας πολλαπλασιαζόμενος πληθυσμός μπορεί να γίνει πολύ περίπλοκη και όπως θα δούμε και στις επόμενες ενότητες περιγράφεται και κατανοείται μόνο με τη βοήθεια της χαοτικής μηχανικής.

Έτσι, η αδυναμία μας να προβλέψουμε την πορεία της νεοπλασίας έγκειται στο γεγονός ότι είναι ένα περίπλοκο και πολυπαραγοντικό φαινόμενο που αποτελείται από παράγοντες όπως απόπτωση, εξωκυττάρια σηματοδοτικές οδοί καθώς και ενδοκυττάρια, μεταλλάξεις, μικροπεριβαλλοντικοί παράγοντες, προτεάσες, φλεγμονή, επιγενετικοί παράγοντες και διαφορικός κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Ειδικά, στο τελευταίο είναι αυτό το οποίο θα εστιάσουμε.

Υπάρχουν πολλές θεωρίες, επί παραδείγματι, για τους λόγους τους οποίους οι καλοήθεις όγκοι δεν κάνουν μεταστάσεις. Ο χαμηλός ρυθμός πολλαπλασιασμού, η αδυναμία των κυττάρων αυτών να επιβιώσουν μέσα στον περιβάλλοντα ιστό και εκτός του δικού τους μικροπεριβάλλοντος είναι από τους λόγους που έχουν προταθεί για την ιδιότητα αυτή των κυττάρων. Στον αντίποδα, τα κακοήθη κύτταρα έχουν όλες τις ιδιότητες που λείπουν από τους καλοήθεις όγκους και μάλιστα έχουν τη δυνατότητα του πολλαπλασιασμού σε περιβάλλοντα ακόμα και εχθρικά σε αυτά (3). Την τελευταία δεκαετία διάφορα μοντέλα

κυτταρικού πολλαπλασιασμού και δυναμικής έχουν παρουσιασθεί, τόσο σε συνάρτηση με το χρόνο μόνο όσο και χωρο-χρονικά.

Στο σημείο αυτό πρέπει να ξεχωρίσουμε δύο σημαντικά γεγονότα. Το πρώτο είναι η απαρχή της νεοπλασίας δηλαδή η καρκινογένεση και οι μηχανισμοί της και το δεύτερο είναι, αφού η καρκινογένεση έχει λάβει χώρα, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε με το δεύτερο.

Από τη στιγμή της εμφάνισης του πρώτου κυττάρου (ή των πρώτων μιας και δεν είναι σαφές αν οι νεοπλασίες ξεκινούν από ένα ή περισσότερα κύτταρα) μέχρι το σημείο της διαγνώσεως υπάρχουν πολλά σημαντικά στάδια που πρέπει να γίνουν ώστε να αυξηθεί το νεόπλασμα. Μάλιστα, ο κρίσιμος παράγοντας εδώ είναι ότι ο όγκος δεν γίνεται αντιληπτός παρά μόνο μόλις φτάσει ένα συγκεκριμένο μέγεθος, το οποίο θα προκαλέσει και τα πρώτα συμπτώματα. Μόνο τότε είναι δυνατή η ταυτοποίηση του. Πριν του σημείου τούτου, καμία εικόνα ή γνώση δεν υπάρχει για τη νεοπλασία. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονίσουμε ότι ακόμα και αν υποθέσουμε ότι αυτό θα ήταν εφικτό σε κάποιες συμπαγείς νεοπλασίες, όπως της κοιλιακής χώρας ή του θώρακος, θα εξακολουθούσε να είναι αδύνατο για τις νεοπλασίες του ΚΝΣ, λόγω της ευαίσθητης φύσης του οργάνου αυτού, που αναπτύσσονται σε μια κλειστή κοιλότητα. Άρα χρειαζόμαστε άλλα εργαλεία και γνώση για να μπορέσουμε αποτελεσματικά να αντιμετωπίσουμε αυτού του είδους τις νεοπλασίες. Επί παραδείγματι, θα ήταν εξαιρετικά χρήσιμο να γνωρίζαμε αιματολογικούς δείκτες, οι οποίοι με απόλυτη βεβαιότητα θα έδειχναν την ύπαρξη μιας νεοπλασίας σε πρώιμα στάδια πριν τη διάγνωση, κάτι που όμως προϋποθέτει πολύ βαθιά γνώση των μηχανισμών του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

ΜΕΡΟΣ Ι-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ

Γενικότερα, θα χωρίζαμε τα μοντέλα κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Η πρώτη αφορά στα μοντέλα των αιματολογικών κακοηθειών και ειδικότερα αυτών που αφορούν στο μυελό των οστών. Η δεύτερη κατηγορία αφορά στους συμπαγείς όγκους, που εμφανίζονται ως μάζα κυττάρων με μια συγκεκριμένη ιστολογική μορφή. Ο διαχωρισμός αυτός είναι απαραίτητος διότι οι δύο αυτοί τύποι νεοπλασιών έχουν μια πολύ βασική διαφορά. Η πρώτη κατηγορία αυξάνεται εν είδη κυτταρικού εναιωρήματος ενώ η δεύτερη ως μια συμπαγής μάζα.

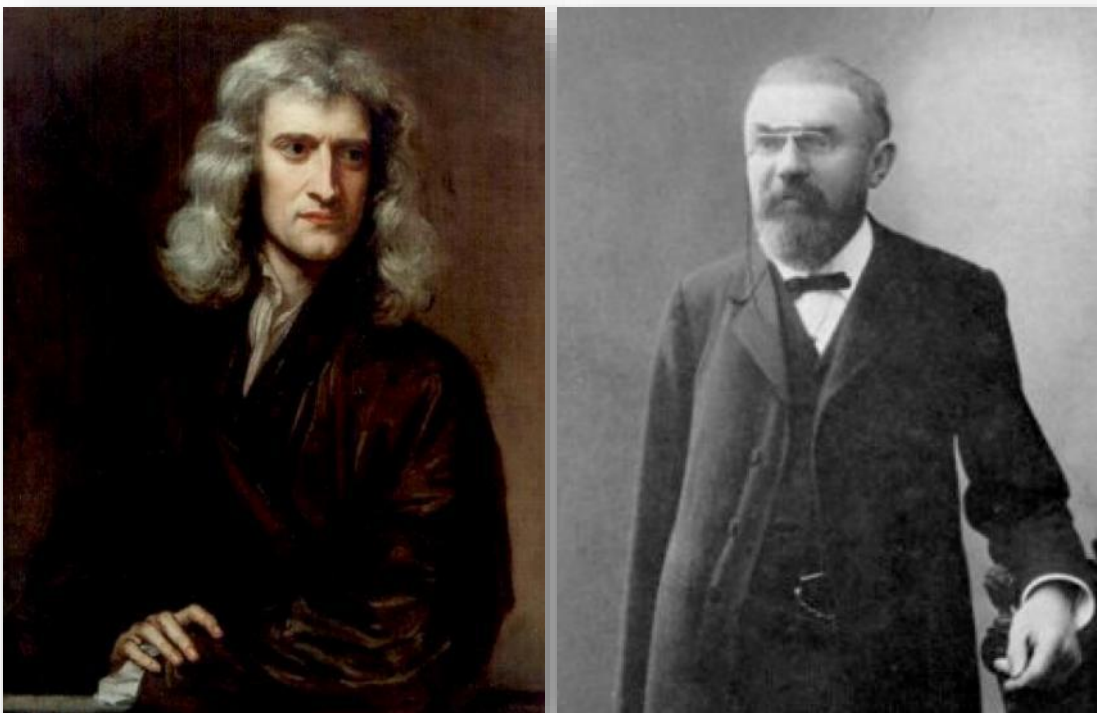
Στη δεύτερη κατηγορία ξεχωρίζουμε δύο μεγάλες υποκατηγορίες, την ανάπτυξη νεοπλάσματος με αγγειογένεση (vascular growth) και την ανάπτυξη άνευ αγγειογένεσης (avascular growth). Η διαφορά έγκειται στο ότι η πρώτη κατηγορία όγκων αυξάνεται με τη βοήθεια αγγειογένεσης και τη δημιουργία αγγείων μέσα στο σώμα του όγκου ενώ η δεύτερη αυξάνεται χωρίς αγγειογένεση.

Ουσιαστικά δεν πρόκειται για διαφορετικούς τρόπους ανάπτυξης αλλά για αλλαγή του μοντέλου πολλαπλασιασμού. Όλες οι συμπαγείς νεοπλασίες ξεκινούν την ανάπτυξή τους χωρίς τη δημιουργία αγγείων και επαφίενται για την τροφοδοσία τους σε θρεπτικά συστατικά από το μηχανισμό της διάχυσης. Όσο όμως ο όγκος μεγαλώνει, ο πυρήνας δηλαδή η κυτταρική μάζα που βρίσκεται προς το κέντρο του όγκου γίνεται νεκρωτική, μη μπορώντας να έχει πρόσβαση σε θρεπτικά συστατικά και η επιφάνεια του όγκου παραμένει ζωντανή. Για να αντιμετωπίσει το πρόβλημα αυτό ο όγκος ξεκινάει τη διαδικασία της αγγειογένεσης, η οποία μπορεί πλέον να μεταφέρει συστατικά στο εσωτερικό του όγκου και με αυτό τον τρόπο να συνεχισθεί ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός.

Τα περισσότερα μοντέλα έχουν προταθεί για τους μη αγγειογενετικούς όγκους, μιας και αποτελούν το πιο εύκολο μοντέλο αλλά και το μόνο που μπορεί να μελετηθεί και πειραματικά *in vitro*. Έχουν προταθεί αρκετά μοντέλα για την περιγραφή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ξεκινώντας από τα γραμμικά, όπου ενδεικτικά αναφέρουμε την καμπύλη ανάπτυξης του *Gompertz*, το μοντέλο της ανάπτυξης πληθυσμών του *Verhulst* (4), από το οποίο προήλθε το μοντέλο των *Lotka-Volterra*, στο οποίο θα αναφερθούμε αμέσως στη συνέχεια, καθώς και η σιγμοειδής καμπύλη (*logistic equation, sigmoid curve*) και άλλες. Η σιγμοειδής καμπύλη είχε ανακαλυφθεί αρχικά από τον *Verhulst*, παρέμεινε άγνωστη για μεγάλο διάστημα, ώσπου επανήλθε στην επιφάνεια από την εργασία των *Pearl* και *Reed*

(1920) (5). Στα μοντέλα αυτά πρέπει να προσθέσουμε τις γραμμικές και μη-γραμμικές αναλύσεις που έχουν προταθεί (6-9).

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφέρουμε ότι λέγοντας μη-γραμμικά συστήματα συμπεριλαμβάνουμε τη *Θεωρία του Χάους* ή αλλιώς *Χαοτική Μηχανική*. Πατέρας της χαοτικής μηχανικής μπορεί να θεωρηθεί ο *Jules Henri Poincaré* (29 Απριλίου 1854 – †17 Ιουλίου 1912) (**Εικόνα 1**), ο οποίος επέλυσε το πρόβλημα των τριών σωμάτων (10). Το πρόβλημα αυτό αφορούσε στη μελέτη της κίνησης τριών σημειακών σωμάτων με συγκεκριμένη μάζα. Το πρόβλημα αυτό είχε αντιμετωπισθεί πρώτα από τον Νεύτωνα (25 Δεκεμβρίου 1642 – †20 Μαρτίου 1727) (**Εικόνα 1**), στο έργο του *Philosophiæ Naturalis Principia Mathematica* και είχε διατυπώσει, πως ο νόμος έλξης των μαζών μπορούσε να εφαρμοσθεί στην επίλυση αυτού του προβλήματος (11). Ο *Poincaré* βρήκε ότι τρία σώματα που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους μπορεί να παρουσιάσουν μη-περιοδική ταλαντωτική συμπεριφορά, δηλαδή να μην συγκλίνουν ούτε να αποκλίνουν προς κάποιο σταθερό σημείο, σε αντίθεση με ότι ήταν γνωστό μέχρι τη στιγμή εκείνη. Πάρα ταύτα, μόλις στα μέσα του 20^{ου} αιώνα διατυπώθηκε ο όρος χάος για να περιγράψει φαινόμενα, που παρουσίαζαν συμπεριφορά ασύμβατη με τα γνωστά γραμμικά συστήματα.



Εικόνα 1. *Ισαάκ Νεύτων* (αριστερά) έργο του *Godfrey Kneller* (Λονδίνο, 1689) και *Henri Poincaré* (δεξιά) (πηγή: www.wikipedia.org).

Από τους διαμορφωτές της ιδέας του χάους, ως φυσικού και μαθηματικού φαινομένου, μπορεί να θεωρηθεί σήμερα ο *Edward Norton Lorenz* (23 Μαΐου 1917 – †16 Απριλίου 2008). Ήταν ο πρώτος που παρατήρησε το γεγονός ότι μικρά συμβάντα μπορεί να έχουν μακροσκοπικά αποτελέσματα. Από τις έρευνες του προέκυψε ο όρος *Παράξενοι Ελκυστές* (*Strange Attractors*) και ο όρος *Το Φαινόμενο της Πεταλούδας* (*The Butterfly Effect*) (12). Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη του αφορούσε στη μεταφορά θερμότητας στην ατμόσφαιρα και ως εκ τούτου, στη μη-περιοδική ρευστοδυναμική ανοικτών συστημάτων, όπως είναι οι ατμοσφαιρικές ροές.

Η θεωρία των μη-γραμμικών συστημάτων επεκτάθηκε και σε άλλα φαινόμενα, εκ των οποίων ένα ήταν η πληθυσμιακή αύξηση. Το απλούστερο μοντέλο ανάπτυξης ή συρρίκνωσης ουσιαστικά λέει ότι ο ρυθμός πολλαπλασιασμού ενός συστήματος είναι ανάλογος προς το μέγεθος του ίδιου του πληθυσμού.

Πέραν όμως των θεωριών για τα μη-γραμμικά συστήματα, αρκετά πρόσφατα, διατυπώθηκαν και θεωρίες που χρησιμοποιούσαν τη *Θεωρία των Παιγνίων*. Η θεωρία αυτή είχε αρχικά διατυπωθεί από τους *von Neumann* και *Morgenstern* (1944) (13) και αργότερα επεκτάθηκε από τον *John Forbes Nash* (1950), ο οποίος προσέθεσε την έννοια της ισορροπίας στα παίγνια και ονομάστηκε έτσι και *Ισορροπία Nash* (14-16).

Η θεωρία αυτή αρχικά διατυπώθηκε για να περιγράψει τις ισορροπίες που εμφανίζονται στα οικονομικά φαινόμενα και τις πολιτικές επιστήμες. Δεν είχε ληφθεί καθόλου τότε υπόψη ότι θα μπορούσε να βρει εφαρμογές και στη βιολογία και πόσο μάλλον στη βιολογία των νεοπλασμάτων. Είναι δε ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι πρώτες αναφορές στη *Θεωρία Παιγνίων* και στην *Εξελικτική Θεωρία Παιγνίων*, όπως ονομάστηκε αργότερα, για τον καρκίνο έγιναν το 1997 (17) και 2001 (18) αντίστοιχα.

Το 2000, η *Wolfrom* και η ομάδα της υποστήριξαν πως ο πολλαπλασιασμός σε καλλιέργεια *Fao* ηπατικών κυττάρων, συμπεριφέρεται ως ένα μη-γραμμικό δυναμικό σύστημα. Αυτό το σύστημα, υπέθεσαν πως πιθανότατα, είναι αιτιοκρατικά χαοτικό, παρόλο που φαίνεται στοχαστικό εκ πρώτης όψεως (9).

Η γνώση του πως μπορούμε να προβλέπουμε την επόμενη κατάσταση (π.χ. πληθυσμός κυττάρων) από την προηγούμενη είναι μείζονος σημασίας, ειδικά σε ασθένειες όπως ο

καρκίνος. Αυτό το εγχείρημα, βέβαια, επιφυλάσσει αρκετές δυσκολίες διότι δεν είναι εύκολο να μοντελοποιήσουμε πιστά τέτοια βιολογικά συστήματα λόγω της πολυπλοκότητάς τους. Για την επίτευξη των παραπάνω, οφείλουμε να προσεγγίσουμε το ζήτημα σφαιρικά και μέσω των επιστημών της βιολογίας, της χημείας, της φυσικής αλλά και μέσω των μαθηματικών ὅπως άλλωστε υποστήριξε ο επιστημονικός πατέρας της κβαντομηχανικής. Ο *Erwin Schrödinger* παρέθεσε τα εξής το Σεπτέμβρη του 1944, στο Δουβλίνο: «Ένας επιστήμονας υποτίθεται ότι έχει πλήρη και ενδελεχή γνώση, από πρώτο χέρι, ορισμένων μόνο θεμάτων και, συνεπώς, δεν πρέπει να γράφει για θέματα που δεν κατέχει κατά απόλυτο τρόπο. Έτσι θεωρούμε ότι τηρείται το *noblesse oblige*» και προτείνει στη συνέχεια «να αποτολμήσουν μερικοί από εμάς μια σύνθεση γεγονότων και θεωριών, ακόμη και με αποσπασματική ή έμμεση γνώση μερικών – διακινδυνεύοντας έστω να γελοιοποιηθούμε».

Κλείνοντας με τα παρακάτω λόγια του *Baruch Spinoza* (*Ηθική, Μέρος IV, Πρόταση 67*): «Ένας ελεύθερος άνθρωπος σκέφτεται λιγότερο από όλα τον θάνατο ὅτι η σοφία του είναι να στοχάζεται, όχι τον θάνατο, αλλά τη ζωή» (19).

1.1. Η ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΩΣ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΜΕΝΩΝ

Οι προσομοιώσεις είναι ένα εξαιρετικά σημαντικό εργαλείο στη μελέτη των φυσικών και κατ' επέκταση βιολογικών φαινομένων. Μια από τις μεθόδους αυτές αφορά στην *παλινδρόμηση* (*regression analysis*). Με την παλινδρόμηση, μια στατιστική τεχνική μοντελοποίησης, αναλύουμε τη σχέση μεταξύ δύο ή περισσότερων μεταβλητών έχοντας σκοπό την πρόβλεψη των τιμών της μιας, μέσω των τιμών της άλλης. Στα προβλήματα παλινδρόμησης διακρίνουμε δύο είδη μεταβλητών: τις ανεξάρτητες ή ελεγχόμενες ή επεξηγηματικές (*independent, predictor, causal, input, explanatory variables*) και τις εξαρτημένες ή απόκρισης (*dependent, response variables*). Όπως αναφέραμε, η Παλινδρόμηση (*Regression*), η οποία ανακαλύφθηκε από τον *Galton*, ερευνά την συσχέτιση μεταξύ μιας εξαρτώμενης μεταβλητής (Y) και μιας ή περισσότερων ανεξάρτητων μεταβλητών (X). Όλα τα μοντέλα παλινδρόμησης περιλαμβάνουν τις εξής μεταβλητές:

- Οι άγνωστες παράμετροι συσχέτισης β (διάνυσμα).
- Οι ανεξάρτητες μεταβλητές X (διάνυσμα).
- Η εξαρτώμενη μεταβλητή Y .

Ένα μοντέλο παλινδρόμησης συσχετίζει το Y σε μία συνάρτηση παλινδρόμησης των X , όπου:

$$\beta \cdot Y = F(X, \beta), \text{ Εξίσωση 1.}$$

Η γενική μορφή των μοντέλων είναι:

$E(Y/X)=f(X,\beta)$, **Εξίσωση 2.**

Μέσω της παλινδρόμησης ψάχνουμε κάποια είδους συνάρτηση, από τις ήδη υπάρχουσες, με την οποία επιθυμούμε να περιγράψουμε και να ταιριάζουν τα δεδομένα που έχουμε καταχωρήσει.

Η ανεξάρτητη μεταβλητή X είναι η ελεγχόμενη μεταβλητή, δηλαδή εκείνη την οποία μπορούμε να καθορίσουμε εξ αρχής τις τιμές της. Η εξαρτημένη μεταβλητή Y είναι εκείνη στην οποία αναζητούμε να καθορίσουμε τις τιμές των ανεξάρτητων μεταβλητών μέσω της μεθόδου. Στις δειγματοληψίες, η διαφορά μεταξύ των ανεξάρτητων και των εξαρτημένων μεταβλητών κάποιες φορές δεν είναι διακριτή γιατί όλες οι μεταβλητές είναι τυχαίες και καμία δεν είναι ελεγχόμενη. Για αυτό το σκοπό συγκεντρώνονται όλα τα δεδομένα που αφορούν τις μεταβλητές που μας ενδιαφέρουν και μέσω της παλινδρόμησης υπολογίζεται η επίδραση των μεταβλητών στη μεταβλητή που επηρεάζουν. Μπορούμε επίσης να προβλέψουμε τη στατιστική σημασία μεταξύ των συσχετίσεων, δηλαδή τον βαθμό εμπιστοσύνης (*confidence*) που είναι το ποσοστό σύνδεσης της αληθινής συσχέτιση με την εκτιμώμενη συσχέτιση.

Δύο τυχαίες μεταβλητές X και Y μπορεί να συσχετίζονται δημιουργώντας την λεγόμενη *συσχέτιση* η οποία καταμετρά τον βαθμό συσχέτισης των μεταβλητών. Οι μεταβλητές μπορούν να είναι μεταξύ τους θετικά ή αρνητικά συσχετισμένες ή και ασυσχέτιστες. Ο *βαθμός της γραμμικής συσχέτισης* δύο τυχαίων μεταβλητών X και Y με διασπορά σ_x^2 και σ_y^2 αντίστοιχα και συν-διασπορά $\sigma_{x,y} = Cov(X,Y) = E(X,Y) - E(X)E(Y)$, υπολογίζεται από τον *συντελεστή συσχέτισης (correlation coefficient)* ρ που ορίζεται ως:

$$\rho = \frac{\sigma_{x,y}}{\sigma_x \sigma_y}, \text{ **Εξίσωση 3.**}$$

Η $\sigma_{x,y}$ παίρνει τιμές από το πεδίο τιμών $D(f)$, των X και Y ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ρ παίρνει τιμές στο διάστημα $[-1, 1]$. Οι τιμές που μπορεί να πάρει το ρ είναι οι εξής:

- $\rho=1$: βέλτιστη θετική συσχέτιση μεταξύ των X και Y ,
- $\rho=0$: μηδενική (γραμμική) συσχέτιση μεταξύ των X και Y ,
- $\rho=-1$: βέλτιστη αρνητική συσχέτιση μεταξύ των X και Y .

Όταν ο συντελεστής συσχέτισης έχει τιμές $\rho=\pm 1$ τότε γνωρίζουμε τις ακριβείς τιμές και των δύο τυχαίων μεταβλητών. Όταν ο συντελεστής συσχέτισης ρ έχει τιμές κοντά στο -1 ή 1

τότε έχουμε ισχυρή (θετική ή αρνητική) γραμμική συσχέτιση των δύο τ.μ. δηλαδή $|\rho| > 0.9$ ενώ για $|\rho| \sim 0$ οι τ.μ. είναι ασυσχέτιστες (20).

Στον αντίποδα των παραπάνω, υπάρχει η αναλυτική λύση, η προσπάθεια δηλαδή, να βρεθεί μια συνάρτηση, η οποία περιγράφει ακριβώς τα δεδομένα και ως εκ τούτου επιτρέπει την πρόβλεψη του φαινομένου ως προς το χρόνο.

1.2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στην επιβεβαίωση ή αμφισβήτηση της υπόθεσης της *Wolfrom et al.*, δηλαδή ότι τα βιολογικά συστήματα και συγκεκριμένα ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός παρουσιάζουν ντετερμινιστικά χαώδεις συμπεριφορές.

Χρησιμοποιώντας την κυτταρική σειρά *CCRF-CEM*, που είχε απομονωθεί από ένα κορίτσι δύο ετών η οποία είχε διαγνωσθεί με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (αντί των *FAO* ηπατικών κυττάρων της *Wolfrom*) και προσομοιώνοντας την βιολογία του ανθρώπινου σώματος όσο το δυνατόν πιο πιστά, μελετώνται οι μη-γραμμικές ιδιότητες των χρονοσειρών που προέκυψαν (21, 22). Οι πειραματικές διαδικασίες έγιναν στο Χωρέμειο Ερευνητικό Εργαστήριο της Α' Παιδιατρικής Κλινικής του ΕΚΠΑ και περιελάμβαναν την καθημερινή μακροχρόνια μέτρηση του κυτταρικού πληθυσμού στα λευχαιμικά κύτταρα *CCRF-CEM* (1, 22). Θεμελιώδη προβληματισμό επιφέρει το γεγονός, πως ο καρκίνος συνήθως διαγιγνώσκεται (ως ψηλαφητή μάζα) αφού προηγουμένως ο πρωτοπαθής όγκος αυξηθεί τόσο ώστε να περιέχει ήδη εκατοντάδες εκατομμύρια κύτταρα με γενετική ποικιλότητα, που πιθανότατα έχουν αρχίσει να μεθίστανται. Εφόσον ο καρκίνος αναπτύσσεται αργά στα πρώιμα στάδιά του (π.χ. ο χρόνος διπλασιασμού του πληθυσμού των κυττάρων του καρκίνου του μαστού συνήθως είναι προσεγγιστικά εκατό ημέρες), η γνώση των μαθηματικών μηχανισμών που διέπουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τα προς μελέτη δυναμικά συστήματα θα συνεισφέρει στην θεραπεία των νεοπλασιών.

2. Ο ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΟΣΜΟΣ

2.1. ΜΙΑ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Πρώτος αποτύπωσε τον ορισμό «κύτταρο» το 1655 ο *Hooke* (**Εικόνα 2**), χρησιμοποιώντας ένα πρωτόγονο μικροσκόπιο, για να περιγράψει μικρούς πόρους σε τομές φελλού. Το 1674, ο *Leeuwenhoek* ανέφερε την ανακάλυψη των πρωτόζωων. Ο ίδιος, το 1683, παρατήρησε για πρώτη φορά το βακτήριο. Το 1833, ο *Brown* περιγράφει με σαφήνεια τον πυρήνα των κυττάρων. Το 1838, οι *Schleiden* και *Shwann* πρότειναν την κυτταρική θεωρία. Συγκεκριμένα, δήλωσαν ότι το εμπύρηνο κύτταρο είναι ο οικουμενικός δομικός λίθος των φυτικών και ζωικών ιστών. Το 1857 ο *Kolliker* περιέγραψε τα μιτοχόνδρια σε μυϊκά κύτταρα. Το 1879 ο *Flemming* περιέγραψε με μεγάλη σαφήνεια τη συμπεριφορά των χρωμοσωμάτων σε ζωικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Το 1953 οι *Watson* και *Crick*, με την συμβολή της εργασίας της *Franklin* και του *Wilkins*, δημοσιεύουν το μοντέλο της διπλής έλικας του DNA (23). Το 2000 ο *Francis Collins*, (**Εικόνα 3**) προϊστάμενος της επιστημονικής ομάδας του *Human Genome Project*, ανακοινώνει τη δημιουργία του πρώτου σχεδιαγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος, μήκους τριών δισεκατομμυρίων γραμμμάτων. Λέγοντας, “*It is a happy day for the world. It is humbling for me, and awe-inspiring, to realize that we have caught the first glimpse of our own instruction book...*”



Εικόνα 2. *Robert Hooke* (1635)¹.

¹ <http://historymed.blogspot.com/2009/07/blog-post.html>



Εικόνα 3. *Francis Collins* (1950) (*The language of God*: Free Press;2006)².

2.2. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΔΟΜΗ

2.2.1. Το Κύτταρο

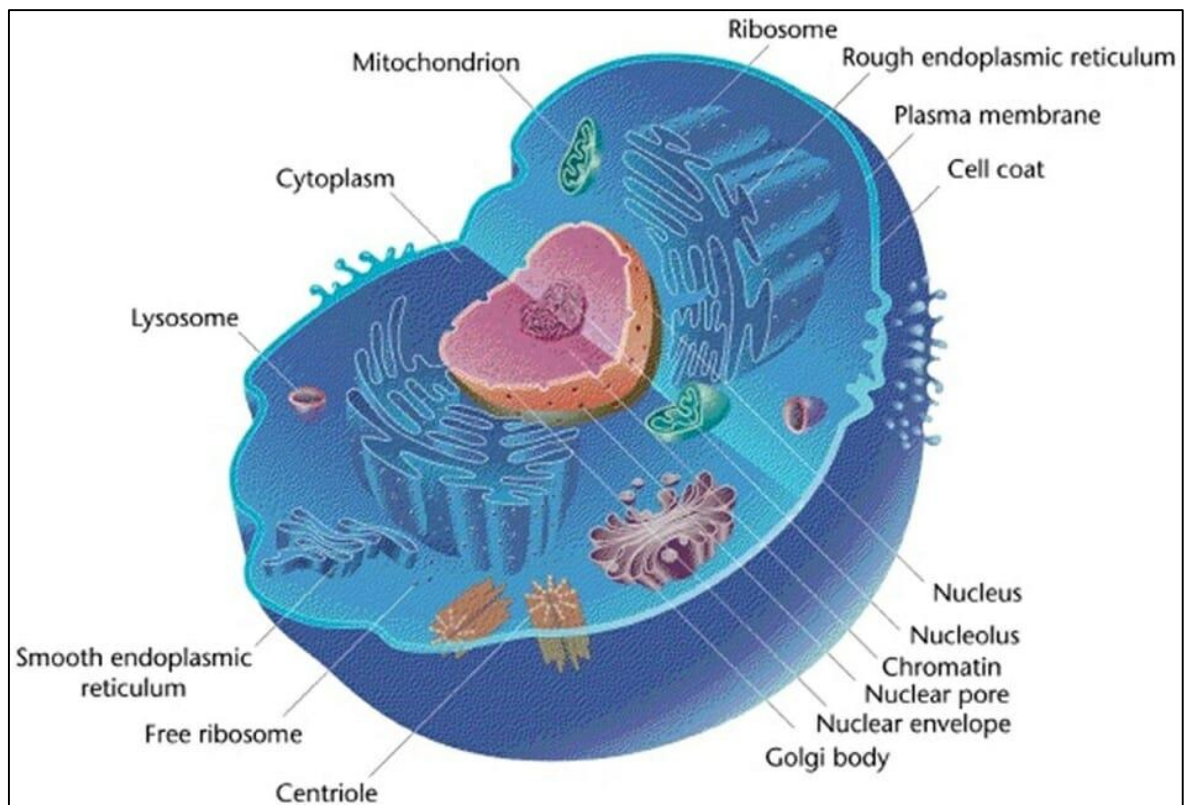
Τι σημαίνει να είσαι ζωντανός; Ποιες είναι οι θεμελιώδεις ιδιότητες που χαρακτηρίζουν τα έμβια όντα και τα διακρίνουν από την άβια ύλη; Όλα τα έμβια όντα αποτελούνται από κύτταρα, μικρές μονάδες, οι οποίες περιβάλλονται από μεμβράνη και είναι γεμάτες με ένα πυκνό υδατικό διάλυμα χημικών ουσιών. Διαθέτουν δε την αξιοσημείωτη ικανότητα να 'αυξάνουν και να διαιρούνται στα δύο, δημιουργώντας αντίγραφα του εαυτού τους. Οι απλούστερες μορφές ζωής είναι τα κύτταρα.

Από όλα τα είδη κυττάρων που αποκαλύπτονται με το μικροσκόπιο, τα βακτήρια έχουν την απλούστερη δομή, εφόσον ουσιαστικά δεν περιέχουν οργανίδια (ούτε καν πυρήνα). Οι οργανισμοί που αποτελούνται από κύτταρα χωρίς πυρήνα καλούνται προκαρυώτες, ενώ εκείνοι των οποίων τα κύτταρα διαθέτουν πυρήνα ονομάζονται ευκαρυώτες. Τα προκαρυωτικά κύτταρα συχνά φέρουν ένα αδρό προστατευτικό περίβλημα, το κυτταρικό τοίχωμα, κάτω από το οποίο βρίσκεται η κυτταρική μεμβράνη που περικλείει ένα χώρο ο οποίος περιέχει το κυτταρόπλασμα και το DNA. Αναπαράγονται σχετικά γρήγορα, υπό ευνοϊκές συνθήκες και με άφθονη τροφή. Συγκεκριμένα ένα βακτήριο διπλασιάζεται περίπου μέσα σε 20 λεπτά. Έτσι μέσα σε 11 ώρες με συνεχείς αναδιπλασιασμούς μπορεί να

² https://en.wikipedia.org/wiki/Francis_Collins

δημιουργήσει 8 δισεκατομμύρια απογόνους (αριθμός που υπερβαίνει το σημερινό πληθυσμό της Γης) (24).

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι πιο περίτεχνα από τα βακτήρια. Μερικά διαβιούν αυτόνομα ως μονοκύτταροι οργανισμοί (π.χ. αμοιβάδες, ζυμομύκητες), ενώ άλλα διαβιούν σε πολυκύτταρα συναθροίσματα. Όλοι οι σύνθετοι πολυκύτταροι οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των φυτών, των ζώων και των μυκήτων, σχηματίζονται από ευκαρυωτικά κύτταρα (**Εικόνα 4**).



Εικόνα 4. Κυτταρική δομή (ευκαρυώτης)³.

Ο πυρήνας αποτελεί την αποθήκη πληροφοριών, αφού εμπεριέχει τα μόρια DNA, επιμήκη πολυμερή που κωδικοποιούν τη γενετική εξειδίκευση του οργανισμού. Τα μιτοχόνδρια (οργανίδια του κυτταροπλάσματος που περιέχουν το δικό τους DNA) είναι οι γεννήτριες παραγωγής χημικής ενέργειας για τις ανάγκες του κυττάρου. Αξιοποιούν την ενέργεια που απελευθερώνεται από την οξείδωση μορίων της τροφής, π.χ. σάκχαρα, προκειμένου να παράγουν τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), το βασικό χημικό καύσιμο που συντηρεί τις

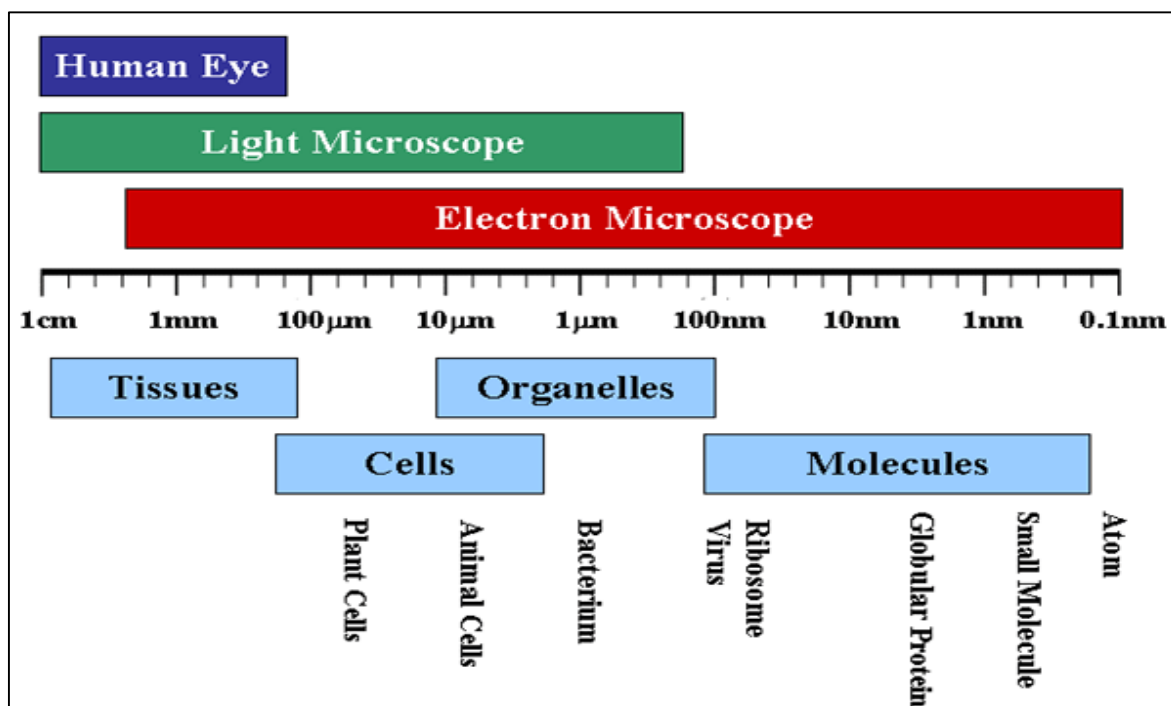
³ <https://biologydictionary.net/eukaryotic-cell/>

περισσότερες δραστηριότητες του κυττάρου. Η όλη διεργασία αποκαλείται κυτταρική αναπνοή (το μιτοχόνδριο καταναλώνει οξυγόνο και απελευθερώνει διοξείδιο του άνθρακα) (25). Άλλες διεργασίες επιτελούνται από αντίστοιχες ειδικές δομές, κυτταρικά οργανίδια, που βρίσκονται στο χώρο μεταξύ του πυρήνα και της κυτταρικής μεμβράνης, μέσα στο κυτταρόπλασμα ὅπως το λυσόσωμα («συνεργείο καθαρισμού» του κυττάρου), το κυστίδιο («δοχείο» μεταφοράς από και προς την κυτταρική μεμβράνη), το κεντρόσωμα (βοηθά στο διαχωρισμό του γενετικού υλικού κατά την κυτταρική διαίρεση), το ριβοσωμάτιο (συμμετέχει ενεργά στην πρωτεϊνσύνθεση), το ενδοπλασματικό δίκτυο (εκεί συντίθενται συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης, λιπίδια και ορμόνες) και το σύμπλεγμα *Golgi* (καθορίζει τον επόμενο προορισμό των πρωτεϊνών που ταξιδεύουν σε αυτό μέσω των κυστιδίων) (26).

2.2.2. Ο Μικρόκοσμος-Η Κλίμακα

Τα κύτταρα δεν είναι ορατά με γυμνό μάτι. Η ανακάλυψη του μικροσκοπίου (η οποία έχει αποδοθεί στους Ολλανδούς *Χανς Γιάνσεν, Ζακαρίας Γιάνσεν και Χανς Λιπερσέι*) το δέκατο έβδομο αιώνα για πρώτη φορά κατέστησε τα κύτταρα ορατά. Με τη βοήθεια ενός καλού μικροσκοπίου, μέσα στο κυτταρόπλασμα μπορούμε να διακρίνουμε ειδικά συστατικά και κατόπιν να τα ταξινομήσουμε. Ωστόσο, λεπτομέρειες για δομές μικρότερες από 0.2 μm (~ το μισό του μήκους κύματος του ορατού φωτός) δεν μπορούν να διακριθούν με συμβατικό οπτικό μικροσκόπιο. Η εφεύρεση του φωτονικού μικροσκοπίου οδήγησε στην ανακάλυψη των κυττάρων, εν τούτοις οι ιδιότητες του ίδιου του φωτός θέτουν περιορισμούς στις λεπτομέρειες που μπορεί να αποκαλύψουν. Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια, τα οποία επινοήθηκαν τη δεκαετία του 1930, ξεπερνούν τους περιορισμούς αυτούς χρησιμοποιώντας ως πηγή φωτός δέσμες ηλεκτρονίων (27) (**Εικόνα 5**).

Ο λόρδος Κέλβιν χρησιμοποίησε το κάτωθι παράδειγμα για να συλλάβουμε το πόσο μικρά είναι τα άτομα. *«Ας υποθέσουμε ότι μπορούσες να σημαδέψεις τα μόρια του νερού που περιέχονται σε ένα ποτήρι ἔ και μετά έριχνες το νερό στον ωκεανό και τον ανακάτευες καλά-καλά, έτσι που τα σημαδεμένα μόρια να κατανεμηθούν ομοιόμορφα στις επτά θάλασσες ἔ τότε, αν έπαιρνες ένα ποτήρι νερό από οποιοδήποτε σημείο του ωκεανού, θα έβρισκες μέσα του καμιά εκατοστή από τα σημαδεμένα σου μόρια»* (19).



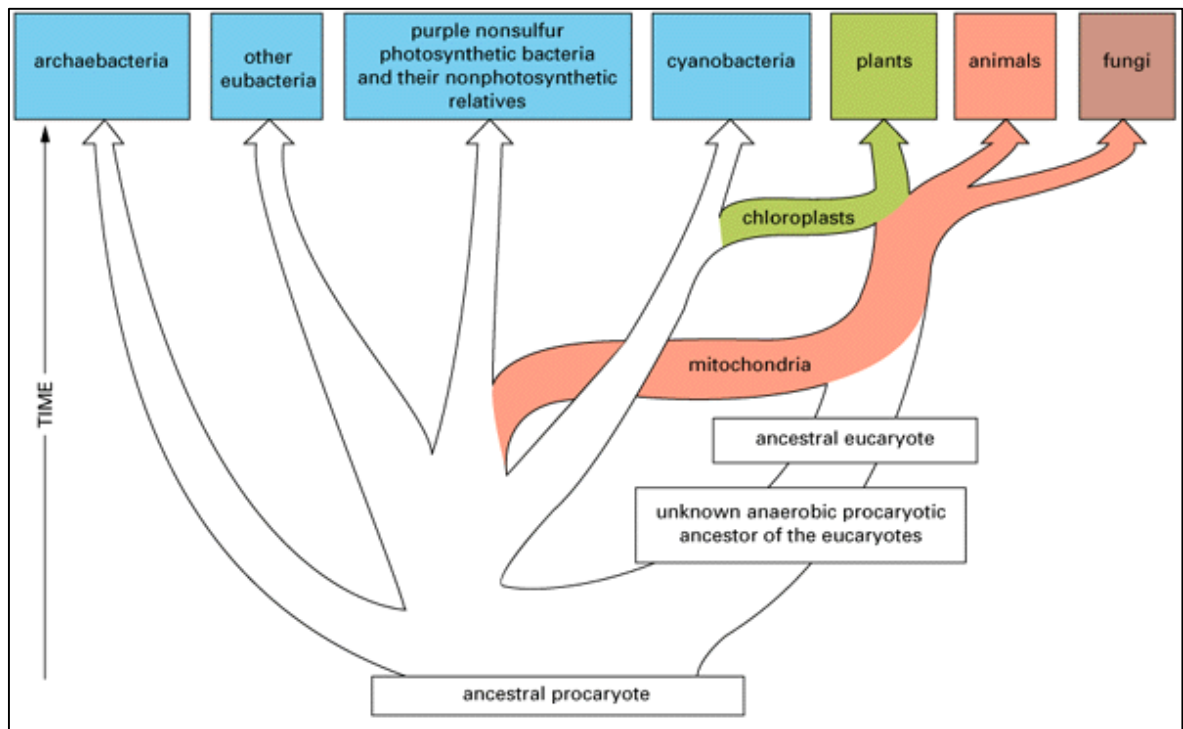
Εικόνα 5. Διακριτά όρια μικροσκοπίων⁴.

2.2.3. Η Ευκαρυωτική Εξελικτική Θεωρία

Για να κατανοήσουμε τη συμπεριφορά των σημερινών κυττάρων και οργανισμών πρέπει να κατανοήσουμε την ιστορία τους, ανατρέχοντας στην προέλευση των πρώτων κυττάρων που εμφανίστηκαν πάνω στη Γη. Η θεωρία της εξέλιξης του Δαρβίνου, που δημοσιεύθηκε το 1859, έδειξε ότι η τυχαία παραλλαγή και η φυσική επιλογή προάγουν τη δημιουργία οργανισμών με νέα χαρακτηριστικά, με αποτέλεσμα να ερμηνεύει την εμφάνιση της ποικιλότητας σε οργανισμούς με κοινούς προγόνους. Σε συνδυασμό με την κυτταρική θεωρία, παρέχει μια θεώρηση όλης της ζωής, από τα πρώτα βήματά της έως τις μέρες μας, με τη μορφή ενός οικογενειακού δένδρου των κυττάρων. Η εξέλιξη προσφέρει μία απρόσμενη, αλλά συνάμα και οριστική, ερμηνεία για τις μεγάλες ομοιότητες που εμφανίζουν τα σημερινά κύτταρα ως προς τη βασική τους οργάνωση. Αυτό συμβαίνει επειδή όλα έχουν κληρονομήσει τις γενετικές οδηγίες τους από τον ίδιο κοινό πρόγονο. Έχει υπολογιστεί ότι το αρχέγονο κύτταρο εμφανίστηκε πριν από 3.5 έως 3.8 δισεκατομμύρια χρόνια και υποθέτουμε ότι περιείχε μια πρωταρχική εκδοχή του οικογενειακού μηχανισμού που διέπει κάθε σύγχρονη μορφή ζωής πάνω στη Γη. Μέσω μεταλλάξεων, οι απόγονοι σταδιακά διαφοροποιήθηκαν, απέκλιναν και κάλυψαν κάθε γωνιά της Γης με έμβια όντα,

⁴ www.jic.ac.uk/microscopy/images/scale

αξιοποιώντας τις δυνατότητες του μηχανισμού με ανεξάντλητη επινοητικότητα (Εικόνα 6) (24).



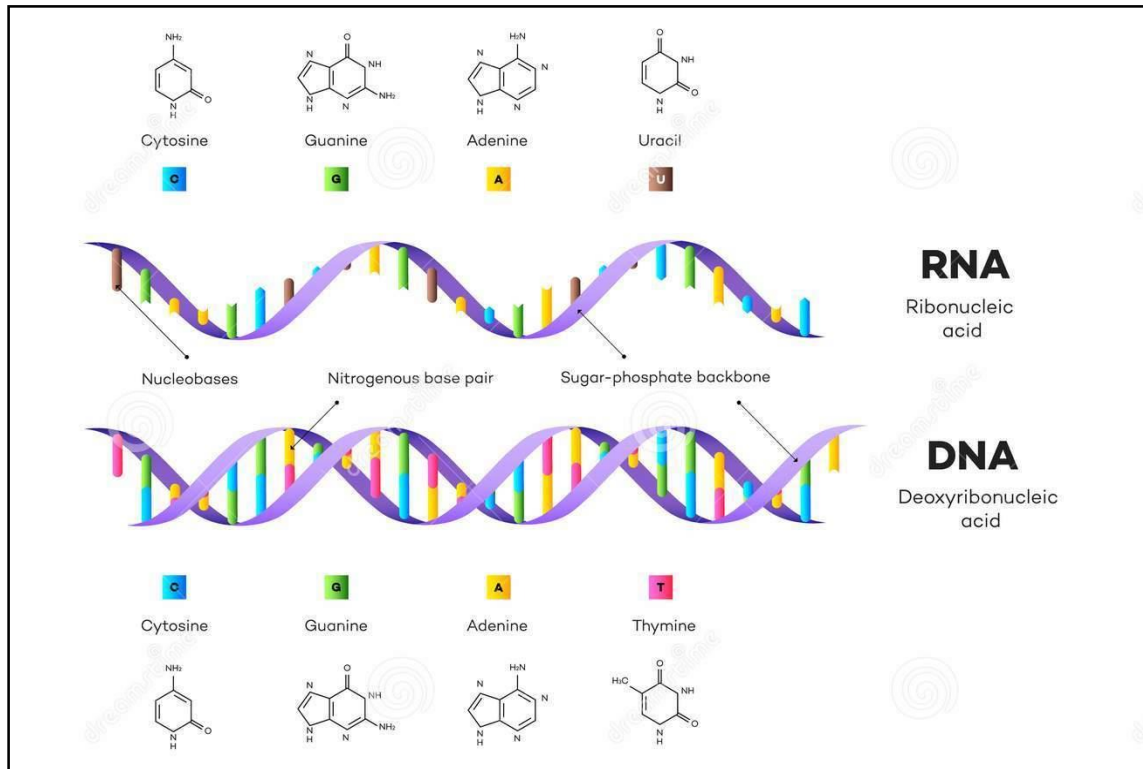
Εικόνα 6. Από πού προήλθαν οι ευκαρυώτες; Ευκαρυωτική εξελεκτική θεωρία (πηγή: *Alberts et al* (2011) p. 69).

2.3. Η ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ

Η εκτίμηση του σημαντικού ρόλου που έχει η γενετική στην ιατρική επιστήμη, προϋποθέτει την κατανόηση της φύσης του γενετικού υλικού, του τρόπου οργάνωσής του στο γονιδίωμα και της διαδικασίας με την οποία μεταβιβάζεται από το ένα κύτταρο στο άλλο κατά την κυτταρική διαίρεση και από τη μια γενιά στην επόμενη, κατά την αναπαραγωγή. Το γονιδίωμα αποτελείται από μεγάλες ποσότητες της χημικής ένωσης δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA), η οποία φέρει στη δομή της τη γενετική πληροφορία που κατευθύνει όλες τις διαδικασίες που καθιστούν τον οργανισμό λειτουργικό. Κάθε εμπύρνηνο κύτταρο του ανθρώπου διαθέτει το δικό του αντίγραφο γονιδιώματος, το οποίο εκτιμάται ότι περιέχει περίπου 25.000 γονίδια. Τα γονίδια είναι κωδικοποιημένα στο DNA του γονιδιώματος, το οποίο εντοπίζεται στον πυρήνα κάθε κυττάρου, οργανωμένο σε έναν αριθμό ραβδόμορφων σχηματισμών, των χρωμοσωμάτων. Η επίδραση των γονιδίων και της κληρονομικότητας σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις είναι προφανής και προέρχεται από την κωδικοποιημένη πληροφορία του DNA. Οι γνώσεις μας σχετικά με τη φύση και την ταυτότητα των γονιδίων, καθώς και με τη σύσταση του γονιδιώματος έχουν αυξηθεί

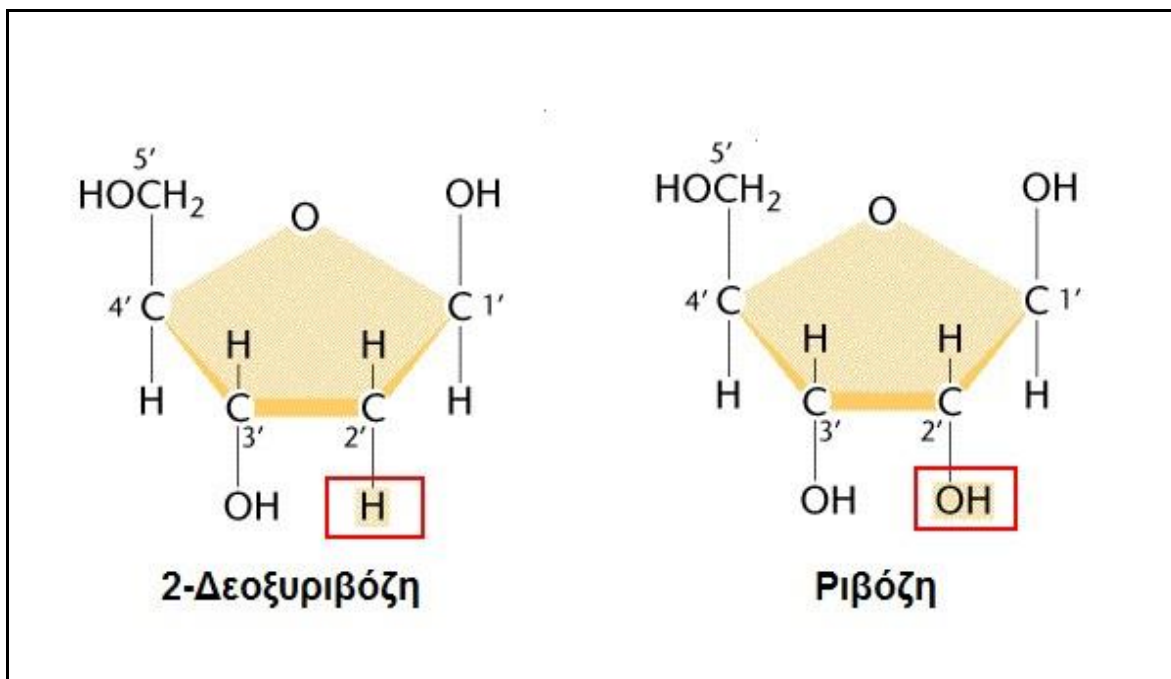
εκθετικά κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, με αποκορύφωμα τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του DNA σχεδόν ολόκληρου του γονιδιώματος του ανθρώπου, το 2003 (F.Collins, Human Genome Project) (28).

Το DNA είναι ένα μακρομόριο που αποτελείται από νουκλεοτίδια. Κάθε νουκλεοτίδιο DNA αποτελείται από μια πεντόζη (ένα σάκχαρο με πέντε άτομα άνθρακα, συγκεκριμένα τη δεοξυριβόζη), ενωμένη με μια φωσφορική ομάδα και μια αζωτούχο βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μια από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T). Αντίστοιχα, το κάθε νουκλεοτίδιο του RNA αποτελείται από το σάκχαρο ριβόζη και η αζωτούχος βάση θυμίνη αντικαθίσταται από την ουρακίλη (U) (29) (Εικόνα 7, Εικόνα 8). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα. Μια πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός.



Εικόνα 7. Η πληροφορία αποτελείται από 5 χημικά στοιχεία: C, O, H, N, P.⁵

⁵ www.dreamstime.com



Εικόνα 8. Πεντόζες ριβόζης και δεοξυριβόζης⁶.

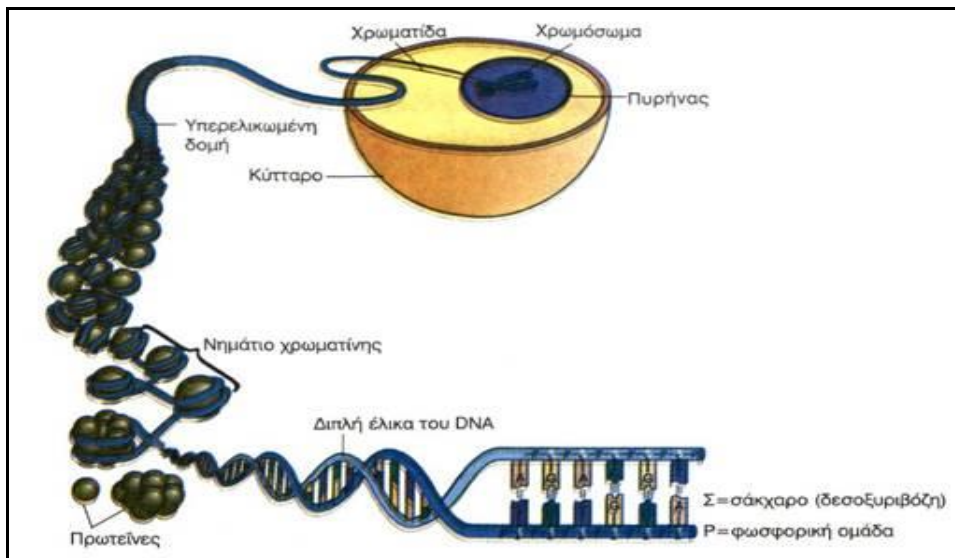
Η αδενίνη συνδέεται με τη θυμίνη με δύο δεσμούς υδρογόνου και η γουανίνη με την κυτοσίνη με τρεις δεσμούς υδρογόνου. Έτσι το μόριο του DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν στο χώρο μια δεξιόστροφη διπλή έλικα (30). Στο γονιδίωμα, αυτές οι πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες (με τη μορφή της διπλής έλικας) αποτελούνται από χιλιάδες εκατομμύρια νουκλεοτίδια που κυμαίνονται από περίπου 50 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων (για το μικρότερο χρωμόσωμα, το χρωμόσωμα 21) έως 250 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων (για το μεγαλύτερο χρωμόσωμα, το χρωμόσωμα 1) (**Εικόνα 9**).

Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο (γαμέτη) αποτελείται από περίπου 3×10^9 ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 (22 αυτοσωμικά ζεύγη και ένα φυλετικό XX ή XY) ζεύγη χρωμοσωμάτων (**Εικόνα 10**). Η διάμετρος του πυρήνα ενός ανθρώπινου κυττάρου είναι περίπου 5 έως 8 μm και στον χώρο αυτόν εμπεριέχεται DNA μήκους 2 μέτρων. Αυτό ισοδυναμεί με ένα μπαλάκι του τένις που περιέχει 40 χιλιόμετρα εξαιρετικά λεπτής κλωστής.

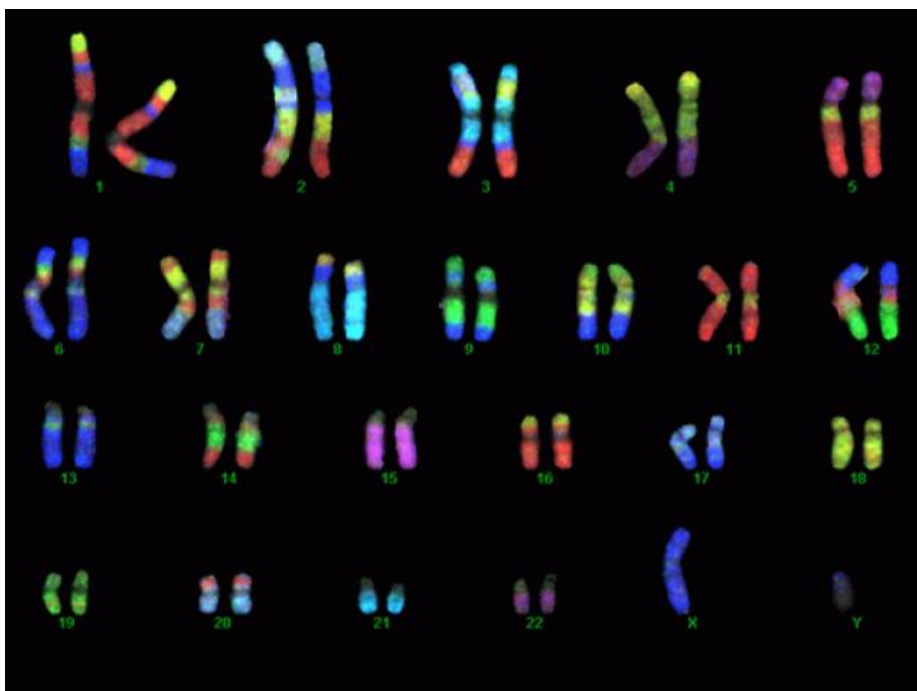
Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Η απεικόνιση μεταφασικών χρωμοσωμάτων σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος, όπου φαίνεται ο αριθμός και το μέγεθος των χρωμοσωμάτων και δίνονται πληροφορίες για το

⁶ [https://www.mun.ca/biology/scarr/Deoxyribose versus Ribose.html](https://www.mun.ca/biology/scarr/Deoxyribose%20versus%20Ribose.html)

είδος, το φύλο και τυχόν χρωμοσωμικές ανωμαλίες, καλείται καρυότυπος. Τα χρωμοσώματα μελετώνται ευχερέστερα στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος, αλλά επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν κύτταρα οποιουδήποτε αναπτυσσόμενου ιστού συμπεριλαμβανομένων του μυελού των οστών, καλλιεργημένων ινοβλαστών του δέρματος ή κυττάρων αμνιακού υγρού και χορειακών λαχνών (31).



Εικόνα 9. Το DNA συμπιεσμένο σε μορφή χρωμοσώματος στον κυτταρικό πυρήνα (πηγή: www.ebooks.edu.gr)



Εικόνα 10. Καρυότυπος αρσενικού ανθρώπου⁷.

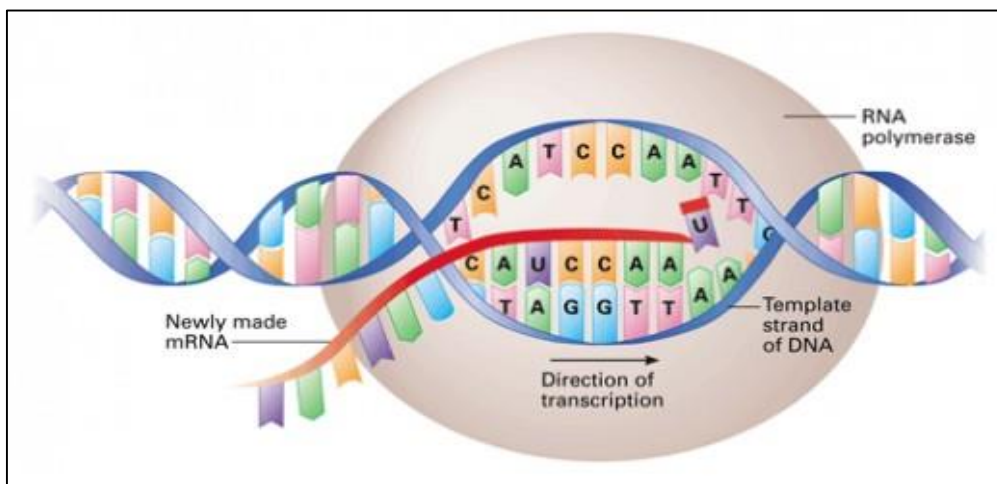
⁷www.ivf-ioannina.gr

2.4. Η ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑ ΜΕΤΑΦΡΑΖΕΤΑΙ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ

Από τις αρχές της δεκαετίας του 1950, έγινε σαφές ότι οι κληρονομικές πληροφορίες των κυττάρων κωδικοποιούνται στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του DNA. Πώς όμως το κύτταρο αποκωδικοποιεί τις πληροφορίες; Με ποιο τρόπο οι γενετικές οδηγίες που είναι γραμμένες σ' ένα αλφάβητο μόλις τεσσάρων γραμμάτων κατευθύνουν το σχηματισμό ενός βακτηρίου, μιας μύγας ή ενός ανθρώπου; Απομένει να μάθουμε πολλά σχετικά με το πώς οι πληροφορίες που αποθηκεύονται στα γονίδια ενός οργανισμού παράγουν ακόμα και το απλούστερο μονοκύτταρο βακτήριο, παρόλο που ο ίδιος ο κώδικας του DNA έχει αποκρυπτογραφηθεί και η γλώσσα των γονιδίων μπορεί πλέον να διαβαστεί (24).

Πώς, λοιπόν, μεταφράζονται οι πληροφορίες που περιέχονται στη γραμμική αλληλουχία του RNA σε μια γραμμική αλληλουχία ενός πολύ διαφορετικού από χημική άποψη συνόλου υπομονάδων, δηλαδή τα αμινοξέα στις πρωτεΐνες;

Το πρώτο στάδιο της γονιδιακής έκφρασης είναι η μεταγραφή, κατά την οποία η διπλή έλικα του DNA ανοίγει προσωρινά στο σημείο του γονιδίου κι έπειτα με τη βοήθεια ενζύμων (RNA πολυμεράση) δημιουργείται μια συμπληρωματική αλυσίδα RNA από την γενετική πληροφορία που βρίσκεται εκεί (**Εικόνα 11**). Ειδικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων του DNA υποδεικνύουν στην RNA πολυμεράση την αφετηρία και το τέρμα της μεταγραφής. Στην περίπτωση που το RNA που δημιουργείται είναι αγγελιοφόρο RNA (mRNA), τότε μόλις ολοκληρωθεί η μεταγραφή αυτό ταξιδεύει στα ριβοσώματα του κυτταροπλάσματος για το δεύτερο στάδιο, τη μετάφραση, κατά το οποίο κωδικοποιούνται οι πρωτεΐνες (32).



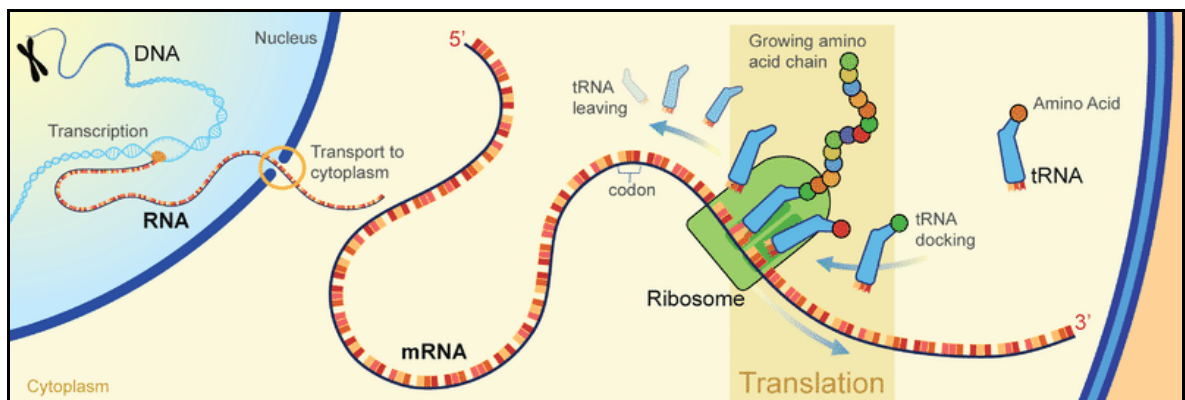
Εικόνα 11. Λειτουργία RNA πολυμεράσης κατά τη μεταγραφή⁸.

⁸www.owlcation.com

Στο ευκαρυωτικό DNA, τα περισσότερα γονίδια χωρίζονται σε αρκετές μικρότερες κωδικοποιημένες περιοχές (εξόνια), ανάμεσα στις οποίες παρεμβάλλονται μη κωδικοποιημένες περιοχές (εσόνια). Τα εσόνια (ιντρόνια) αφαιρούνται από το πρωτογενές μετάγραφο στον πυρήνα με τη διεργασία της συρραφής του RNA (από τα snRNA).

Στο κυτταρόπλασμα, το mRNA έλκει μόρια μεταφορικού RNA (tRNA) καθένα από τα οποία φέρει ένα αμινοξύ. Καθώς το ριβόσωμα κινείται κατά μήκος της αλυσίδας του mRNA, τα μόρια του tRNA προσκολλώνται στο mRNA με συγκεκριμένη ακολουθία. Αυτή καθορίζεται από την αντιστοίχιση των κωδικονίων - τριάδων από αζωτούχες βάσεις στην αλυσίδα του mRNA - με τις συμπληρωματικές τους τριάδες βάσεων - τα αντικωδικόνια - πάνω στο tRNA. Έτσι, το αμινοξύ αποδεσμεύεται από το tRNA και συνδέεται στο προηγούμενο αμινοξύ με πεπτιδικό δεσμό, σχηματίζοντας μια πεπτιδική αλυσίδα. Όταν το ριβόσωμα φθάσει σε ένα κωδικόνιο λήξης στο τέλος του mRNA, ολοκληρώνεται η μακριά πεπτιδική αλυσίδα. Η σειρά των αμινοξέων θα καθορίσει πώς αυτή η αλυσίδα θα αναδιπλωθεί σε τελική πρωτεΐνη (33).

Η παραπάνω διαδικασία, αποτελεί ένα κρυπτογράφημα επινοημένο από τη φύση, το οποίο, μετά από τρία και πλέον δισεκατομμύρια χρόνια εξέλιξης τελικά επιλύθηκε, σε ένα βαθμό, από ένα «προϊόν» της εξέλιξης, τον άνθρωπο (**Εικόνα 12**) (24).



Εικόνα 12. Από την πληροφορία στην πρωτεΐνη⁹.

Οι πρωτεΐνες, οι οποίες παράγονται κατά την μετάφραση, είναι υπεύθυνες για μια σειρά κυτταρικών λειτουργιών όπως ο σχηματισμός και η διατήρηση της κυτταρικής δομής, η προστασία και η άμυνα (αιμοσφαιρίνη G), η κατάλυση χημικών αντιδράσεων (ένζυμα), η

⁹www.pinterest.com

κίνηση (ακτίνη και μυοσίνη κατά τη μυϊκή συστολή), η αποθήκευση (μυϊκές πρωτεΐνες στα θηλαστικά, π.χ. μυογλοβίνη), η μεταφορά (αιμοσφαιρίνη). Ορισμένες πρωτεΐνες μεταφέρουν σήματα από ένα κύτταρο σε ένα άλλο ή από την πλασματική μεμβράνη στον πυρήνα. Άλλες δρουν ως τοξίνες, ορμόνες, αντιψυκτικά μόρια, ελαστικές ίνες ή ακόμα και πηγές φωταύγειας (34).

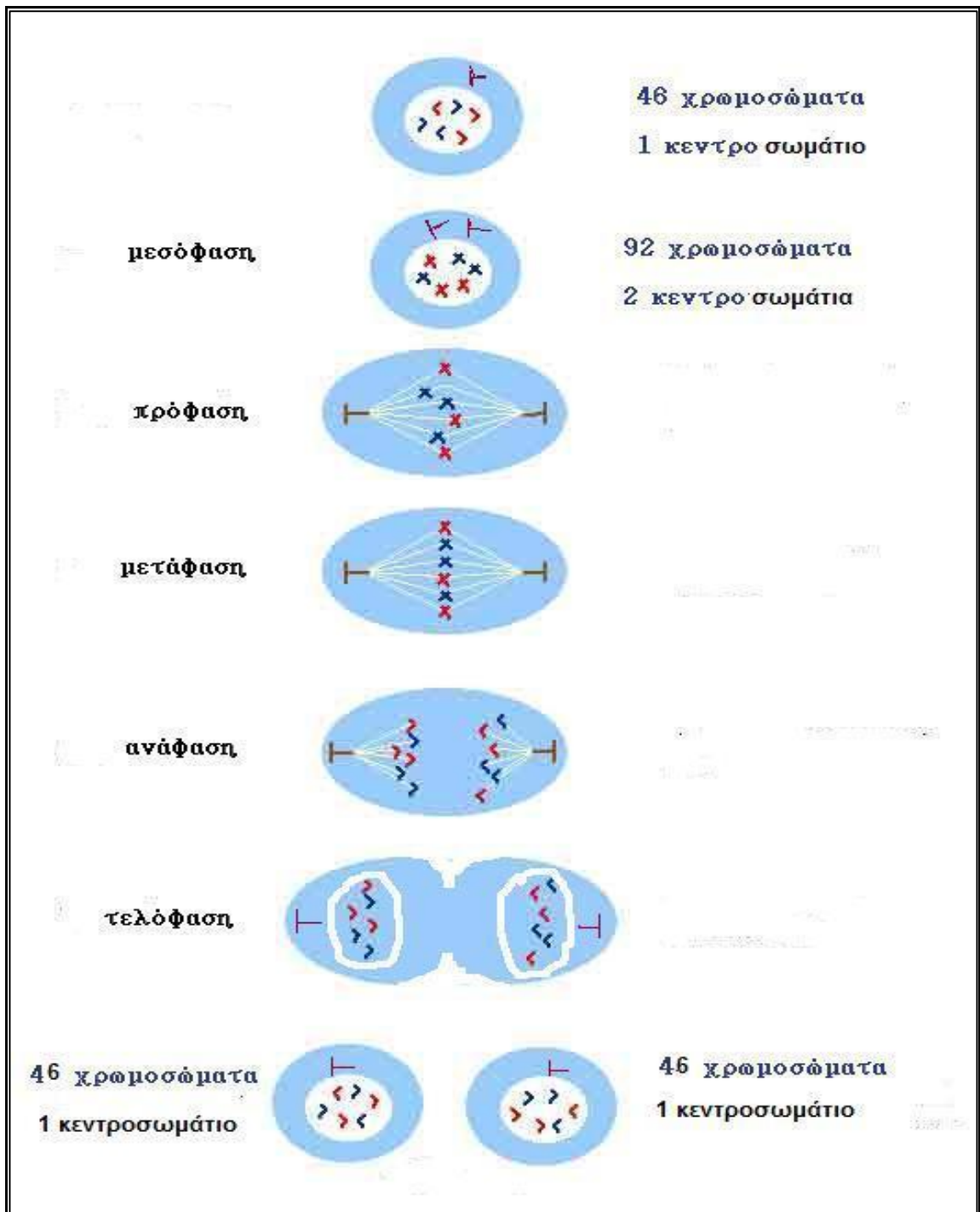
2.5. Ο ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

2.5.1. Ο Κυτταρικός Κύκλος

Τα κύτταρα παράγονται από κύτταρα και ο μοναδικός τρόπος για την παραγωγή περισσότερων κυττάρων είναι η διαίρεση των προϋπαρχόντων. Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί, από το μονοκύτταρο βακτήριο έως το πολυκύτταρο θηλαστικό, θεωρείται ότι προκύπτουν από επανειλημμένους κύκλους κυτταρικής αύξησης και διαίρεσης που χρονικά ανάγονται στην αρχή της ζωής, πολύ πριν από τρία δισεκατομμύρια χρόνια. Ένα κύτταρο αναπαράγεται διεκπεραιώνοντας μια ιεραρχική ακολουθία συμβάντων κατά τη διάρκεια των οποίων διπλασιάζει το περιεχόμενό του κι έπειτα διαιρείται στα δύο. Αυτός ο κύκλος διπλασιασμού και διαίρεσης γνωστός ως κυτταρικός κύκλος, είναι ο βασικός μηχανισμός με τον οποίο αναπαράγονται όλα τα έμβια όντα (24).

Υπάρχουν δύο είδη κυτταρικής διαίρεσης: η μίτωση και η μείωση. Γενικά, η μίτωση αποτελεί τον τρόπο διαίρεσης των σωματικών κυττάρων και μέσω αυτής επιτυγχάνεται η αύξηση του σώματος, η διαφοροποίηση και η αναγέννηση των ιστών. Η μιτωτική διαίρεση οδηγεί στη δημιουργία δύο θηγατρικών κυττάρων, καθένα από τα οποία διαθέτει τα ίδια χρωμοσώματα και γονίδια με το πρόγονο κύτταρο. Αντίθετα, κατά τη μείωση διαιρούνται μόνο τα κύτταρα της γαμετικής σειράς. Με τη διαδικασία της μείωσης παράγονται οι γαμέτες, καθένας από τους οποίους διαθέτει μόνο 23 χρωμοσώματα – ένα από το κάθε ζεύγος των ομόλογων αυτοσωματικών και επιπλέον, είτε ένα χρωμόσωμα X, είτε ένα Y (28).

Η κυριότερη λειτουργία του κυττάρου είναι να διπλασιάσει επακριβώς την τεράστια ποσότητα του DNA των χρωμοσωμάτων και στη συνέχεια να μοιράσει ισότιμα τα αντίγραφα σε γενετικώς ταυτόσημα θηγατρικά κύτταρα. Η διάρκεια του κυτταρικού κύκλου ποικίλλει ανάλογα με το είδος του κυττάρου. Υπό ιδανικές συνθήκες, ένας μονοκύτταρος σακχαρομύκητας μπορεί να διαιρείται περίπου κάθε δύο ώρες, ενώ τα ηπατοκύτταρα ενός θηλαστικού διαιρούνται λιγότερο από μία φορά το χρόνο κατά μέσο όρο. Παρατηρώντας στο μικροσκόπιο, τα δύο πιο εντυπωσιακά συμβάντα του κυτταρικού κύκλου είναι η διαίρεση του πυρήνα, διεργασία γνωστή ως μίτωση και η διαίρεση του κυττάρου, γνωστή και ως κυτταροκίνηση. Συλλογικά, οι δύο αυτές διεργασίες συνιστούν τη φάση M του κυτταρικού κύκλου. Σ' ένα συνηθισμένο κύτταρο θηλαστικού, ολόκληρη η φάση M διαρκεί περίπου μια ώρα, δηλαδή αποτελεί ένα πολύ μικρό κλάσμα του συνολικού κυτταρικού κύκλου (**Εικόνα 13**).



Εικόνα 13. Οι φάσεις της μίτωσης¹⁰.

Η περίοδος που παρεμβάλλεται ανάμεσα σε δυο φάσεις Μ καλείται μεσόφαση. Στο μικροσκόπιο, η μεσόφαση έχει την απατηλή όψη ενός ήρεμου διαλείμματος, κατά τη διάρκεια του οποίου το κύτταρο απλώς αυξάνει σε μέγεθος. Στην πραγματικότητα όμως, η μεσόφαση είναι μια πολύ δραστήρια περίοδος για το κύτταρο και διαιρείται στις υπόλοιπες

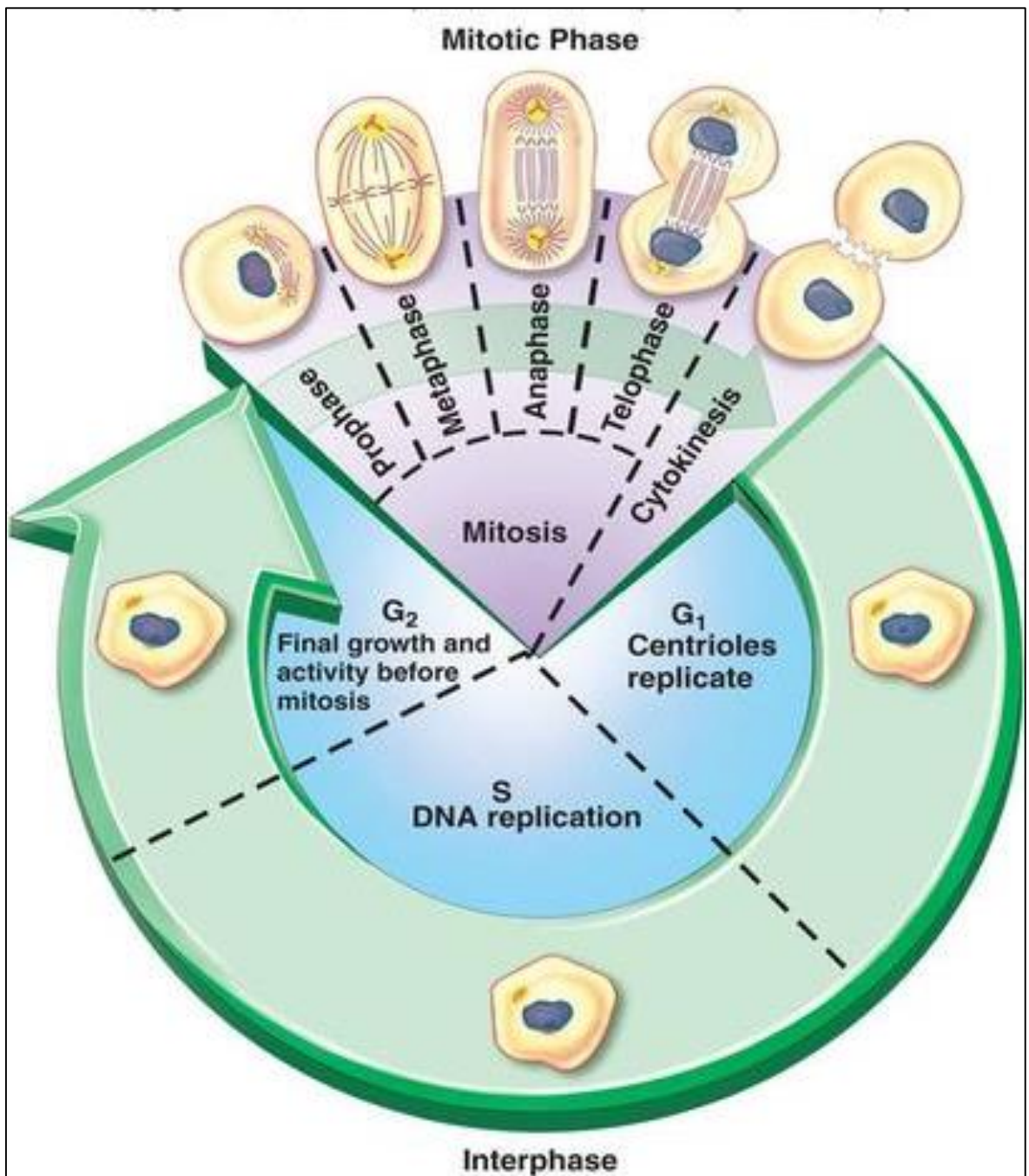
¹⁰i.lampos.wordpress.com

τρεις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Κατά τη φάση S (S=synthesis=σύνθεση), το κύτταρο αντιγράφει το DNA του πυρήνα του, απαραίτητη προϋπόθεση για να συμβεί η κυτταρική διαίρεση. Η φάση S πλαισιώνεται από δυο φάσεις κατά τις οποίες το κύτταρο συνεχίζει να αυξάνει. Η φάση G_1 είναι το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης M και την αρχή της φάσης S, ενώ η φάση G_2 το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης S και την αρχή της φάσης M. Κατά τη διάρκεια αυτών των φάσεων, το κύτταρο ελέγχει το εσωτερικό και το εξωτερικό περιβάλλον για να επιβεβαιώσει ότι οι προετοιμασίες έχουν ολοκληρωθεί και ότι οι συνθήκες είναι κατάλληλες, πριν προχωρήσει στις μεγάλες ανακατατάξεις της φάσης S και της μίτωσης. Υπάρχουν συγκεκριμένα χρονικά σημεία στις φάσεις G_1 και G_2 όπου το κύτταρο παίρνει μια απόφαση αν θα προχωρήσει στην επόμενη φάση ή αν θα σταματήσει έτσι ώστε να έχει περισσότερο χρόνο να προετοιμαστεί (35).

Κατά τη διάρκεια όλης της μεσόφασης, ένα κύτταρο συνεχίζει να μεταγράφει τα γονίδια του, να συνθέτει πρωτεΐνες και να αυξάνει μάζα. Συλλογικά, οι φάσεις G_1 και G_2 προσφέρουν επιπρόσθετο χρόνο στο κύτταρο για να αυξηθεί και να διπλασιάσει τα κυτταροπλασματικά οργανίδια του. Αν η μεσόφαση διαρκούσε μόνο όσο θα χρειαζόταν για να πραγματοποιηθεί η αντιγραφή του DNA, το κύτταρο δεν θα διέθετε το χρόνο για να διπλασιάσει τη μάζα του προτού διαιρεθεί, άρα θα γινόταν μικρότερο μετά από κάθε κυτταρική διαίρεση. Μετά την αντιγραφή του DNA στη φάση S, τα δύο αντίγραφα κάθε χρωμοσώματος παραμένουν στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους. Το πρώτο σαφές σήμα ότι ένα κύτταρο είναι έτοιμο να εισέλθει στη φάση M είναι η προοδευτική συμπίκνωση των χρωμοσωμάτων του. Καθώς η συμπίκνωση προχωρεί, τα χρωμοσώματα πρώτα γίνονται ορατά στο φωτονικό μικροσκόπιο σαν μακριές κλωστές, οι οποίες σταδιακά γίνονται βραχύτερες και παχύτερες. Αυτή η συμπίκνωση αποτρέπει το μέρδεμα των χρωμοσωμάτων κι επομένως διευκολύνει το διαχωρισμό τους κατά τη διάρκεια της μίτωσης (24) (Εικόνα 14).

2.5.2. Σύστημα Ελέγχου του Κυτταρικού Κύκλου

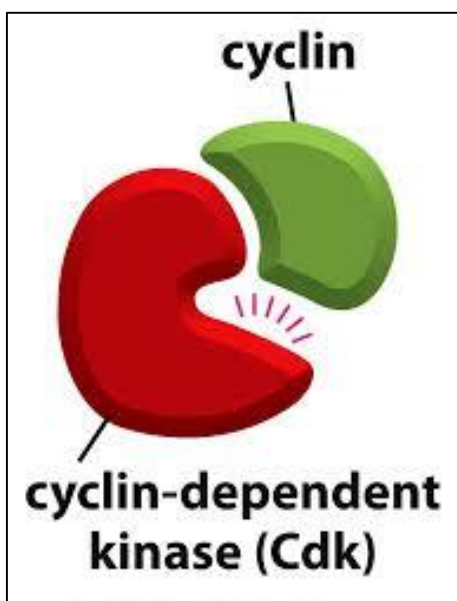
Προκειμένου να διπλασιάσουν το DNA και τα οργανίδια τους και να διαιρεθούν σωστά, τα ευκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν ένα σύνθετο δίκτυο ρυθμιστικών πρωτεϊνών, το σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Περιλαμβάνει μια ομάδα πρωτεϊνικών συμπλόκων, όπου κάθε σύμπλοκο αποτελείται από μια ρυθμιστική υπομονάδα γνωστή ως κυκλίνη και από μια καταλυτική υπομονάδα γνωστή ως πρωτεϊνική κινάση που εξαρτάται από την κυκλίνη (Cd κινάση) (Εικόνα 15).



Εικόνα 14. Ο Κυτταρικός κύκλος (πηγή: <http://mde-didaktiki.biol.uoa.gr>)

Η συγκέντρωση των κυκλίνων αυξάνει και ελαττώνεται σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους του κυτταρικού κύκλου και έτσι πυροδοτεί συγκεκριμένα συμβάντα. Οι Cd κινάσες ενεργοποιούνται κυκλικά είτε από την πρόσδεση μορίων κυκλίνης ή από τη φωσφορυλίωση ορισμένων αμινοξέων. Αυτό το σύστημα διασφαλίζει ότι τα συμβάντα του κυτταρικού κύκλου θα διαδραματιστούν με τη σωστή σειρά και κάθε διεργασία θα έχει ολοκληρωθεί πριν ξεκινήσει η επόμενη. Το σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου χρησιμοποιεί κατάλληλα «μοριακά φρένα» ικανά να σταματήσουν τον κύκλο σε διάφορα σημεία ελέγχου (checkpoints). Έτσι το σύστημα ελέγχου δεν πυροδοτεί το επόμενο βήμα

του κύκλου αν προηγουμένως δεν προετοιμαστεί το κύτταρο. (36) Ένα σημείο ελέγχου λειτουργεί στη φάση G_1 και επιτρέπει στο κύτταρο να εξακριβώσει αν το περιβάλλον ευνοεί τον πολλαπλασιασμό προτού δεσμευτεί στη φάση S. Στα ζώα, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός εξαρτάται από τον επαρκή εφοδιασμό του κυττάρου σε θρεπτικές ουσίες και από σήματα του εξωτερικού περιβάλλοντος. Αν οι εξωκυττάρια συνθήκες είναι δυσμενείς, τα κύτταρα σταματούν στη φάση G_1 και μπορεί ακόμα να περάσουν σε μια κατάσταση ηρεμίας γνωστή ως G_0 . Πολλά κύτταρα, μεταξύ των οποίων τα νευρικά, παραμένουν σε φάση G_0 διαβίου. Ένα άλλο σημείο ελέγχου λειτουργεί στη φάση G_2 και επιτρέπει στο σύστημα να σταματά προτού πυροδοτήσει τη μίτωση μέχρις ότου επιδιορθωθούν τυχόν βλάβες του DNA και ολοκληρωθεί η αντιγραφή του. Τέλος, ένα τρίτο σημείο ελέγχου λειτουργεί στη φάση της μίτωσης και διασφαλίζει ότι τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα βρίσκονται σωστά προσδεμένα στη μιτωτική άτρακτο πριν το διαχωρισμό και την κατανομή τους στα δύο θυγατρικά κύτταρα. Το σημείο ελέγχου της φάσης G_1 έχει, επίσης, ιδιαίτερη σημασία επειδή είναι το σημείο του κυτταρικού κύκλου όπου το σύστημα ελέγχου μπορεί να ρυθμιστεί από σήματα που προέρχονται από άλλα κύτταρα. Έτσι, το σύστημα ελέγχου παίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση του αριθμού των κυττάρων που απαρτίζουν τους ιστούς του σώματος. Στον καρκίνο, το σύστημα ελέγχου δυσλειτουργεί και τα κύτταρα διαιρούνται ανεξέλεγκτα (24).



Εικόνα 15. Cd κινάση ενεργοποιείται με την πρόσδεση της κυκλίνης¹¹.

¹¹www.oregonstate.edu

2.6. ΚΑΡΚΙΝΟΣ

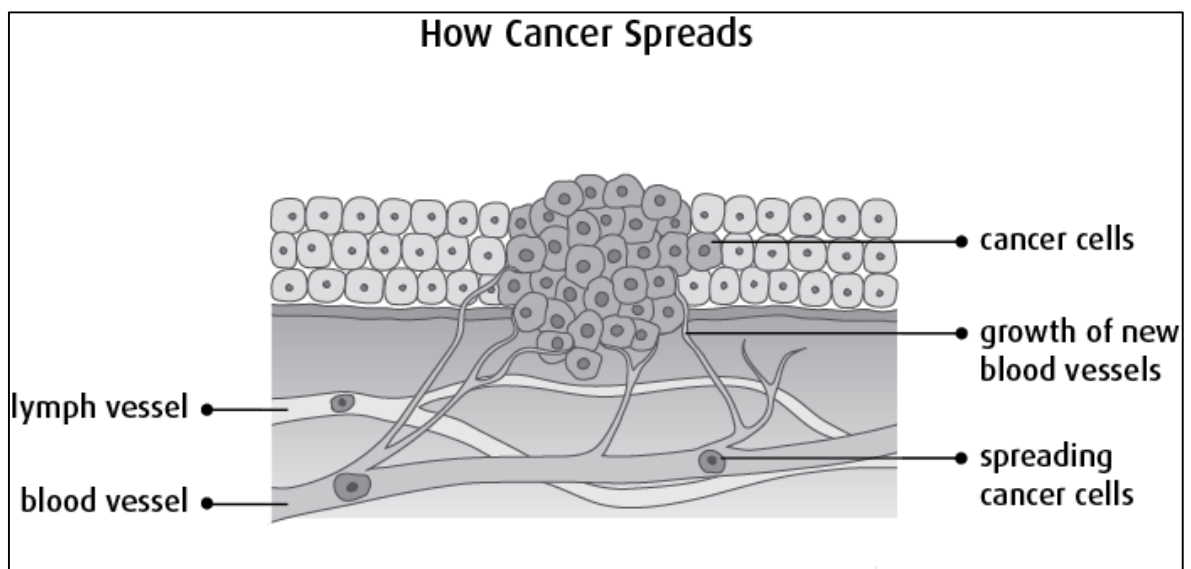
Υπάρχει ένα τίμημα για την ικανότητά του ανθρώπου να ανανεώνει και να επιδιορθώνει το σώμα του. Οι προσεκτικά ρυθμιζόμενοι μηχανισμοί που ελέγχουν αυτές τις διεργασίες μπορεί να απορρυθμιστούν, οδηγώντας σε καταστροφικές συνέπειες. Η ανανέωση των ιστών προϋποθέτει την ύπαρξη περίπλοκων μηχανισμών ελέγχου για συντονισμό της συμπεριφοράς κάθε ξεχωριστού κυττάρου για τις ανάγκες ολόκληρου του οργανισμού. Το κύτταρο πρέπει να διαιρείται όταν χρειάζονται νέα κύτταρα αυτού του είδους και να σταματά να διαιρείται όταν δεν χρειάζονται. Πρέπει να ζει όσο είναι απαραίτητο και να πεθαίνει όταν πρέπει. Πρέπει να διατηρεί τον κατάλληλα εξειδικευμένο χαρακτήρα του και να καταλαμβάνει τη σωστή θέση χωρίς να ξεστρατίζει σε άλλες επικράτειες (24).

Ο καρκίνος αποτελεί μια γενετική ασθένεια, η οποία προκύπτει από αλλαγές σε συγκεκριμένα γονίδια. Δεν είναι όμως τις περισσότερες φορές μια κληρονομική ασθένεια, γιατί στις κληρονομικές ασθένειες η γενετική αλλαγή υπάρχει στα χρωμοσώματα των γενετικών κυττάρων και συνεπώς μεταβιβάζεται στους απογόνους. Αντίθετα, οι γενετικές αλλαγές που οδηγούν στους περισσότερους καρκίνους, προέρχονται από αλλαγές του DNA στα σωματικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της ζωής του ατόμου. Εξαιτίας των γενετικών αλλαγών τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. Αρχικά συνιστούν μία μάζα και αργότερα ένα συμπαγή όγκο ή νεόπλασμα, που αυξάνεται απεριόριστα. Τα καρκινικά κύτταρα αναπαράγονται αφηφώντας τους φυσιολογικούς περιορισμούς και μπορούν να αποικίζουν σε χώρους που κανονικά αποτελούν την επικράτεια άλλων κυττάρων. Ορισμένα κύτταρα του δημιουργούμενου όγκου, αν έχουν υποστεί τις κατάλληλες γενετικές αλλαγές διεισδύουν στους υγιείς ιστούς.(37) Μερικά κύτταρα του όγκου έχουν την ικανότητα να αποσπώνται και με την κυκλοφορία του αίματος και της λέμφου να μεταναστεύουν σε άλλους ιστούς και όργανα. Εκεί συνεχίζουν την ανεξέλεγκτη διαίρεσή τους και σχηματίζουν δευτεροπαθείς όγκους. Η διαδικασία καλείται μετάσταση και οι όγκοι που έχουν την ικανότητα μετάστασης χαρακτηρίζονται ως κακοήθεις. Όσο περισσότερο έχει διασπαρεί ο καρκίνος, τόσο δυσκολότερο είναι να αντιμετωπιστεί (38) **(Εικόνα 16)**.

Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση. Τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Ο καρκίνος σε γενετικό επίπεδο είναι το αποτέλεσμα της μετατροπής πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, της απουσίας λειτουργικότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων και της αδρανοποίησης των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA (39). Για ποιο λόγο όμως το κύτταρο να φέρει γονίδια τα οποία κάτω από

συγκεκριμένες συνθήκες θα οδηγήσουν στην καταστροφή του; Τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, ενεργοποιώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, σε περιπτώσεις που αυτός είναι απαραίτητος όπως στην επούλωση τραυμάτων. Μια γονιδιακή μετάλλαξη ή μια χρωμοσωμική ανωμαλία (συνήθως μετατόπιση), μπορούν να προκαλέσουν τη μετατροπή πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν οδηγώντας τελικά το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό (30) (**Εικόνα 16**).

Οι όγκοι ταξινομούνται ανάλογα με τον ιστό και τον κυτταρικό τύπο από τον οποίο προέρχονται. Οι καρκίνοι του επιθηλιακού ονομάζονται καρκινώματα. Οι καρκίνοι του συνδετικού, του νευρικού και του μεσεγχυματικού ιστού (όπως τα οστά και οι μύες) σαρκώματα, ενώ αυτοί που διασπείρονται μέσω του μυελού των οστών, το λεμφικό σύστημα και το περιφερικό αίμα, καλούνται λευχαιμίες ή λεμφώματα (28).



Εικόνα 16. Μετάσταση μέσω λεμφικού συστήματος και περιφερικού αίματος (24).

3. ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) (ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL)) ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ

3.1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ

Η λευχαιμία είναι νεόπλασμα του αιμοποιητικού συστήματος, αγνώστου αιτιολογίας, με βλάβη του γονιδιώματος του κυττάρου και διαταραχή στον πολλαπλασιασμό, στη διαφοροποίηση και στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση)· αποτέλεσμα είναι η δημιουργία μονοκλωνικού πληθυσμού και η έκπτωση της λειτουργίας του μυελού των οστών με μοιραία έκβαση αν αφηθεί χωρίς θεραπεία. Αν και ο όρος λευχαιμία συνήθως θεωρείται συνώνυμος με αυξημένο αριθμό λευκοκυττάρων του περιφερικού αίματος, εντούτοις υπάρχουν περιπτώσεις με φυσιολογικό αριθμό ή και ελαττωμένο. Οι λευχαιμίες διακρίνονται σε οξείες και χρόνιες. Η διάκριση αυτή δεν αντιπροσωπεύει την ταχύτητα που η νόσος εξελίσσεται, αλλά στηρίζεται κυρίως σε μορφολογικά κριτήρια. Έτσι, στη χρόνια λευχαιμία υπερισχύει ο τύπος του ώριμου κυττάρου, ανάλογα προς τα φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα, ενώ στην οξεία ο τύπος του άωρου κυττάρου. Η χρόνια λευχαιμία είναι καθεαυτή νόσος των ενηλίκων ενώ η οξεία είναι κυρίως νόσος της παιδικής ηλικίας (1, 40).

Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) ή *Acute lymphoblastic leukemia* (ALL) είναι μια ετερογενής πάθηση, η οποία αντιπροσωπεύει την εξαλλαγή (ογκοποίηση) και κλωνική αύξηση κυττάρων της λεμφικής σειράς που έχουν παραμείνει σε συγκεκριμένο στάδιο της διαφοροποίησής τους και είναι ανίκανα για εξέλιξη σε περισσότερο ώριμες μορφές. Σε άτομα με ALL, οι λεμφοβλάστες υπερπαράγονται στο μυελό των οστών και συνεχώς πολλαπλασιάζονται, προκαλώντας την αναστολή της παραγωγής των φυσιολογικών κυττάρων-όπως των ερυθρών, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων στο μυελό των οστών και τη διασπορά σε άλλα όργανα (41, 42).

3.2. ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Κάθε μέρα ο μυελός των οστών παράγει περισσότερα από 500 δισεκατομμύρια κύτταρα: ερυθρά αιμοσφαίρια (μεταφέρουν οξυγόνο), αιμοπετάλια (πήζουν το αίμα) και λευκά αιμοσφαίρια (υπεύθυνα για την άμυνα του οργανισμού). Ο μυελός των οστών είναι ο ρευστός ιστός που βρίσκεται μέσα στα οστά και περιέχει αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, δηλαδή τις πρόδρομες μορφές τους. Στην περίπτωση της λευχαιμίας, αντικαθίσταται το

«άρρωστο» ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενή με ένα «υγιές», μέσω μεταμόσχευσης μυελού των οστών από έναν υγιή και συμβατό δότη (πιθανότητα συμβατότητας είναι 1:4 μεταξύ αδερφών, ενώ σε άλλες περιπτώσεις ξεπερνά το 1:20.000). Προκειμένου η μεταμόσχευση να έχει επιτυχία, είναι απολύτως απαραίτητο ο δότης και ο λήπτης να παρουσιάζουν ιστική συμβατότητα, δηλαδή ομοιότητα ως προς ειδικά μόρια (αντιγόνα του συστήματος HLA) που εκφράζουν πάνω στα κύτταρά τους. Τα HLA αντιγόνα είναι διαφορετικά σε κάθε άτομο και καθορίζουν τον «Ιστική Ταυτότητά» του. Αν επιλυθεί το θέμα της συμβατότητας, τότε τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα συλλέγονται από τον εθελοντή δότη και μεταμοσχεύονται στον ασθενή, ο οποίος πλέον είναι ικανός να αναγεννήσει έναν υγιή μυελό των οστών: «Οι μεταμοσχεύσεις αποτελούν πλέον καθημερινή χειρουργική πρακτική, πάνω στην οποία στηρίζουν τις ελπίδες τους χιλιάδες άνθρωποι σε όλον τον κόσμο», υπογραμμίζει ο π. Νικόλαος Χατζηνικολάου (Αστροφυσική Harvard & Μηχανολογία και Βιοϊατρική Τεχνολογία MIT).

3.3. Η ΟΓΚΟΓΟΝΟΣ ΚΙΝΑΣΗ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Η Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία (ΧΜΛ) χαρακτηρίζεται από υπερπαραγωγή λευκών αιμοσφαιρίων. Σχεδόν πάντα οφείλεται σε μια ειδική μετάλλαξη (χρωμοσωμική μετάλλαξη), η οποία επιδρά στο γονίδιο *AbI* που κωδικοποιεί μια σηματοδοτική πρωτεΐνη, μια κινάση της τυροσίνης. Η μετάλλαξη δημιουργεί μια ογκογόνο μορφή γονιδίου *AbI*. Η αντίστοιχη πρωτεΐνη είναι υπερδραστήρια, φωσφορυλιώνει άλλες πρωτεΐνες ενώ δεν θα έπρεπε κι έτσι δημιουργεί ένα ενδοκυττάριο σήμα που προάγει την υπέρμετρη παραγωγή λευκών αιμοσφαιρίων.

Έτσι, σχεδιάστηκε ένα μικρό μόριο το οποίο αναστέλλει τη δραστηριότητα της κινάσης, ονόματι *Gleevec*. Το *Gleevec* προσδέεται στο θύλακο πρόσδεσης του *ATP* πάνω στην υπερδραστήρια κινάση κι έτσι την εμποδίζει να μεταφέρει μια φωσφορική ομάδα από το *ATP* σε μια τυροσίνη των πρωτεϊνών – στόχων της. Η αναστολή εμποδίζει την προώθηση ενός σήματος για πολλαπλασιασμό και επιβίωση των κυττάρων.

3.4. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΟΛΛ

Η ΟΛΛ είναι ο συχνότερος τύπος λευχαιμίας της παιδική ηλικίας και αποτελεί το 80% όλων των λευχαιμιών. Αποτελεί επίσης τη συχνότερη μορφή καρκίνου της παιδικής ηλικίας

αντιπροσωπεύοντας το 35% όλων των κακοηθειών. Απαντάται σε όλες τις φυλές και παρουσιάζεται συνήθως στην ηλικία μεταξύ των 3 με 5 ετών. Η αιτία της ΟΛΛ μπορεί να είναι ακόμα άγνωστη, αλλά πολλοί αιτιολογικοί παράγοντες έχουν αναφερθεί, όπως η γενετική προδιάθεση, περιβαλλοντικοί ή λοιμογόνιοι παράγοντες κλπ. Επίσης, ασθενείς με χρωμοσομικές ανωμαλίες ή και αυξημένη θραυστότητα χρωμοσωμάτων, με γενετικές ανωμαλίες και ανοσοανεπάρκειες έχουν αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν ΟΛΛ (40).

Ο αριθμός των λευκοκυττάρων στην ΟΛΛ ποικίλλει. Το 53% των περιπτώσεων έχει συνήθως αριθμό λευκοκυττάρων κατά τη διάγνωση λιγότερο των $10.000/mm^3$, ενώ το 20% έχει λευκοκύτταρα άνω των $50.000/mm^3$. Η πλειονότητα των ασθενών έχει συνήθως αναιμία, 45% έχουν επίπεδα αιμοσφαιρίνης κάτω των 7g/dl και 45% έχουν επίπεδα μεταξύ 7-11 g/dl. Τέλος, ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι κάτω των $100.000/mm^3$ στο 75% των ασθενών (40).

3.5. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ CCRF-CEM

Η συγκεκριμένη κυτταρική σειρά (CCRF-CEM), εκφράζει τα αντιγόνα $CD4^+$ (43) και $CD34^+$ (44). Αρχικά είχε απομονωθεί από ένα καυκάσιο κορίτσι δύο ετών με καρυότυπο 46, XX. Η αρχική διάγνωση ήταν λεμφοσάρκωμα, το οποίο εξελίχθηκε αργότερα σε οξεία λευχαιμία (45). Η λήψη των κυττάρων και η μετέπειτα κατεργασία, έγινε μετά από χορήγηση των θεραπευτικών σχημάτων (45). Οι διάφορες μελέτες που έγιναν στην κυτταρική αυτή σειρά έδειξαν ότι η παρατεταμένη καλλιέργειά τους επέφερε μικρές αλλαγές στη μορφολογία και φαινότυπο με εξαίρεση την εμφάνιση μικρών σωματίων στον πυρηνίσκο (46). Επίσης η CCRF-CEM έχει φανεί να παρουσιάζει δραστηριότητα έκκρισης καταλάσης, κάτι το οποίο οδηγεί στο συμπέρασμα ότι χρησιμοποιείται μηχανισμός αυτοκρινούς σηματοδότησης με συμμετοχή στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (47).

4. ΧΑΟΣ ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

“Nothing in Nature is random... A thing appears random only through the incompleteness of our knowledge”

B.Spinoza

“Randomness is an inevitable accident which owes the actions of immutable laws of nature”

A.Bierce

4.1. ΧΑΟΣ, ΤΙ ΚΥΡΙΑΡΧΕΙ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ; ΤΥΧΗ Ή ΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ;

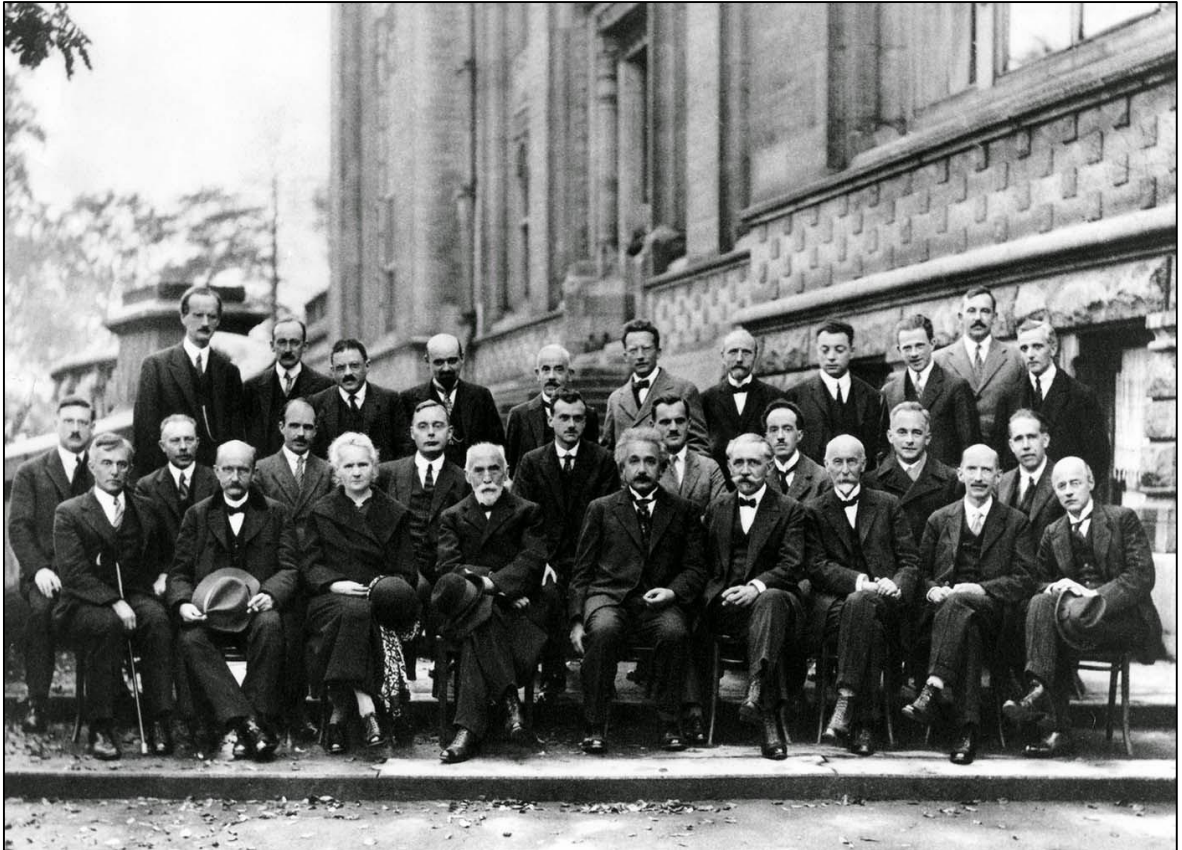
4.1.1. Από τον Ησίοδο στον Poincaré

Από τα πρώτα κιόλας χρόνια της εμφάνισης του ανθρώπου στη γη, οι έννοιες της τάξης και του χάους, του προβλέψιμου και του απρόβλεπτου, του καθοριστικού και του τυχαίου έπαιξαν ρόλο στον τρόπο που ο άνθρωπος αντιλαμβανόταν τη φύση γύρω του. Η πρώτη αναφορά στον όρο «χάος» στην Ελληνική ιστορία γίνεται από τον *Ησίοδο*, τον 8^ο π.Χ. αιώνα, στο έργο του *Θεογονία*, με την έννοια του «κενού» που υπήρχε στον κόσμο πριν δημιουργηθεί η γη. Ο *Αριστοτέλης* (4^{ος} αιώνας π.Χ.) υποστήριξε ότι η φύση διέπεται από αιτιοκρατικούς νόμους και λειτουργεί σύμφωνα με κανόνες. Η *Αριστοτέλεια* λογική επηρέασε τους επιστήμονες του 17^{ου} αιώνα όπως ο *Κέπλερ*, ο *Λαπλάς* και ο *Νεύτωνας*, οι οποίοι όρθωσαν το ντετερμινισμό (αιτιοκρατική ερμηνεία του σύμπαντος) ως ένα ακλόνητο οχυρό. Τον 19^ο αιώνα ο *L. Boltzmann* υπέπεσε σε αντιφάσεις στην προσπάθεια του να συνδέσει τη Νευτώνεια Μηχανική με τη Θερμοδυναμική, οι οποίες σε συνδυασμό με την ενδογενή αβεβαιότητα των νόμων της Κβαντομηχανικής του 20^{ου} αιώνα (*Erwin Schrödinger, Werner Heisenberg, Max Planck, Albert Einstein & Niels Bohr*) κατάφεραν να πλήξουν την απόλυτη κυριαρχία του ντετερμινισμού. (Εικόνα 17).

Η απάντηση στις αντιφάσεις αυτές, είχε δοθεί λίγο πριν την εκπνοή του 19^{ου} αιώνα από τον *Henri Poincaré*. Απλά, έπρεπε να περάσουν μερικές δεκαετίες για να ερμηνευτούν σωστά τα αποτελέσματά του. Ο *Poincaré* απέδειξε ότι ακόμα και στα πιο απλά προβλήματα της Μηχανικής και της Αστρονομίας, υπάρχουν λύσεις (ή τροχιές) που εξαρτώνται τόσο ευαίσθητα από την επιλογή των αρχικών συνθηκών, ώστε η εξέλιξή τους στο χρόνο να είναι για μεγάλα διαστήματα εντελώς απρόβλεπτη. Ακόμα και τα απλούστερα ντετερμινιστικά συστήματα της Φυσικής που περιγράφονται από μη γραμμικές εξισώσεις και κινούνται σε ένα χώρο τριών τουλάχιστον διαστάσεων, έχουν περιοχές όπου οι λύσεις τους είναι τόσο ασταθείς, ώστε ακόμα και ελάχιστες μετατοπίσεις της αρχικής τους κατάστασης να οδηγούν

σε τεράστιες αλλαγές στην εξέλιξη της κίνησης τους. Οι περιοχές αυτές, 70 χρόνια αργότερα, ονομάστηκαν χαοτικές και η έντονη αστάθεια που τις χαρακτηρίζει, χάος (48) (Εικόνα 18).

Ένα παράδειγμα δυναμικού συστήματος αποτελεί το ηλιακό μας σύστημα. Σήμερα γνωρίζουμε ότι, λόγω επίδρασης των άλλων πλανητών, οι τροχιές της Γης και της Σελήνης δεν είναι τελείως κλειστές, επειδή δεν περνούν ποτέ ακριβώς από το ίδιο σημείο.



Εικόνα 17 “*The Solvay Conference, probably the most intelligent picture ever taken*”, Βρυξέλλες 1927. Ο *Albert Einstein* στην πρώτη σειρά στο κέντρο, ο *Erwin Schrödinger* στην τελευταία σειρά στο κέντρο, ο *Werner Heisenberg* στην τελευταία σειρά τρίτος από δεξιά, ο *Niels Bohr* στην δεύτερη σειρά πρώτος από δεξιά και ο *Max Planck* στην πρώτη σειρά δεύτερος από αριστερά¹².

¹² www.rarehistoricalphotos.com



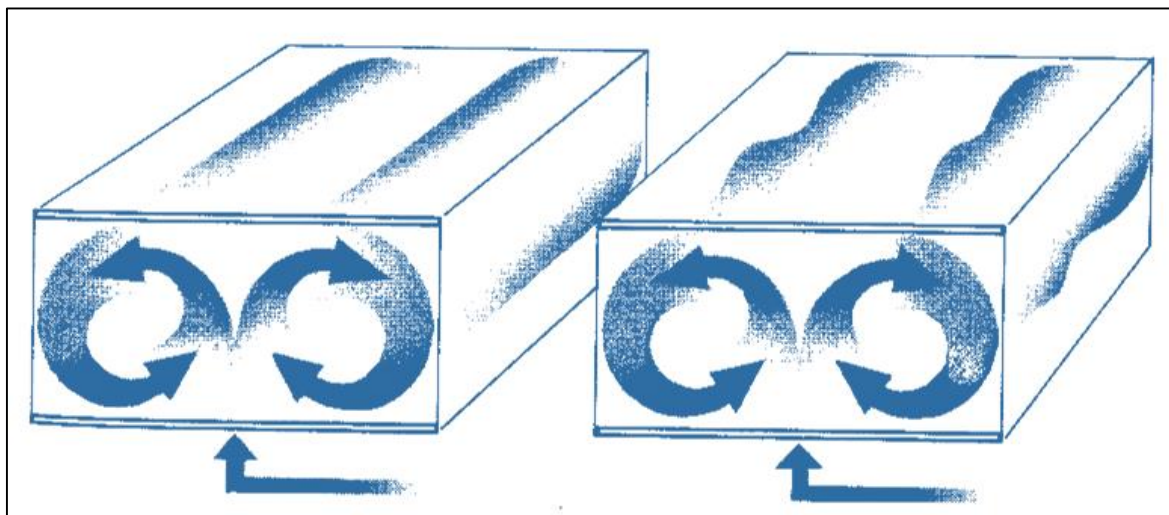
Εικόνα 18. *Henri Poincare* (αριστερά) και *Erwin Schrödinger* (δεξιά) (πηγή: www.wikipedia.org).

Πιστεύουμε βέβαια ότι είναι ευσταθείς, αφού όλα τα μέχρι σήμερα δεδομένα δείχνουν ότι για εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια στο παρελθόν οι πλανήτες του ηλιακού συστήματος κινούνται πάνω σε παρόμοιες σχεδόν περιοδικές τροχιές. Αν όμως αφαιρέσουμε τη Σελήνη από τους υπολογισμούς μας, οι μικρές ευσταθείς ταλαντώσεις του άξονα περιστροφής της Γης γύρω από τον εαυτό της θα αρχίσουν να γίνονται μεγαλύτερες, με αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση της θερμοκρασίας, την εξάτμιση των υδάτων και την εξαφάνιση κάθε είδους ζωής από τον πλανήτη μας (48).

Το χάος μπορεί να εμφανιστεί και στην κίνηση ενός μόνον ατόμου (ή μορίου), αρκεί αυτό να ικανοποιεί τις εξής βασικές προϋποθέσεις: Να περιγράφεται το λιγότερο από τρεις μεταβλητές που είναι συζευγμένες μεταξύ τους με μη-γραμμικές δυνάμεις μιας μορφής (όπως οι κρούσεις ενός κύβου σε μια συμπαγή επιφάνεια). Παραδείγματος χάρη αρκεί μια ελάχιστη διαφοροποίηση στον τρόπο της ρίψης ενός ζαριού για να επιτευχθεί ένα εντελώς διαφορετικό αποτέλεσμα. Δεν χρειάζεται, δηλαδή, απαραίτητα να έχει κανείς τρισεκατομμύρια μόρια) για να παρατηρήσει τέτοιες χαοτικές συμπεριφορές (49).

Τέλος, αξιοσημείωτο αποτελεί το γεγονός της κατασκευής ηλεκτρονικών κυκλωμάτων σε εργαστήριο, όπου χρησιμοποιήθηκαν πυκνωτές, αντιστάσεις, διακόπτες, πηνία, ταλαντωτές,

Από τις έρευνες του προέκυψε ο όρος *Παράξενοι Ελκυστές* (*Strange Attractors*) και ο όρος «*Το Φαινόμενο της Πεταλούδας*» (*The Butterfly Effect*) (12). Στον *Lorenz* άρεσε να μιλάει για τη μεταφορά της θερμότητας σε ένα φλιτζάνι ζεστό καφέ. Ήταν μια από τις αμέτρητες υδροδυναμικές διαδικασίες του σύμπαντός μας. *Πώς μπορούμε να υπολογίσουμε πόσα γρήγορα θα κρυώσει ένα φλιτζάνι καφές; Αν ο καφές είναι απλώς ζεστός, η θερμότητά του θα διασκορπιστεί χωρίς καμία απολύτως υδροδυναμική κίνηση, δηλαδή παραμένει σε μια σταθερή κατάσταση. Αν όμως είναι αρκετά ζεστός, τότε μια θερμική ανακατάταξη θα φέρει το ζεστό καφέ από το κάτω μέρος του φλιτζανιού πάνω, στην πιο κρύα επιφάνεια. Όταν ένα υγρό ή αέριο θερμαίνεται από κάτω, οργανώνονται ρεύματα σε κυλινδρικό σχήμα. Το θερμό ρευστό ανεβαίνει από τη μία πλευρά, χάνει θερμότητα και κατεβαίνει από την άλλη πλευρά. Όταν η θερμότητα αυξηθεί περισσότερο, δημιουργείται μια αστάθεια και οι περιστροφές δημιουργούν έναν κυματισμό που κινείται μπρος πίσω κατά μήκος των κυλίνδρων. Σε ακόμα μεγαλύτερες θερμοκρασίες, η ροή γίνεται άγρια και στροβιλώδης (τυρβώδης) (Εικόνα 20) (49, 53).*



Εικόνα 20. Τυρβώδης ροή σε υγρό με διαφορά θερμοκρασίας (53) (p. 51).

Πιο συγκεκριμένα, ο *Lorenz* εστίασε τη μελέτη του στη μεταφορά θερμότητας στην ατμόσφαιρα και ως εκ τούτου, στη μη-περιοδική ρευστοδυναμική ανοικτών συστημάτων, όπως είναι οι ατμοσφαιρικές ροές. Περιέγραψε το σύστημα μεταβολής κλίματος πάνω από μία λίμνη με τρεις, σχετικά απλές, διαφορικές εξισώσεις, όπως φαίνεται παρακάτω:

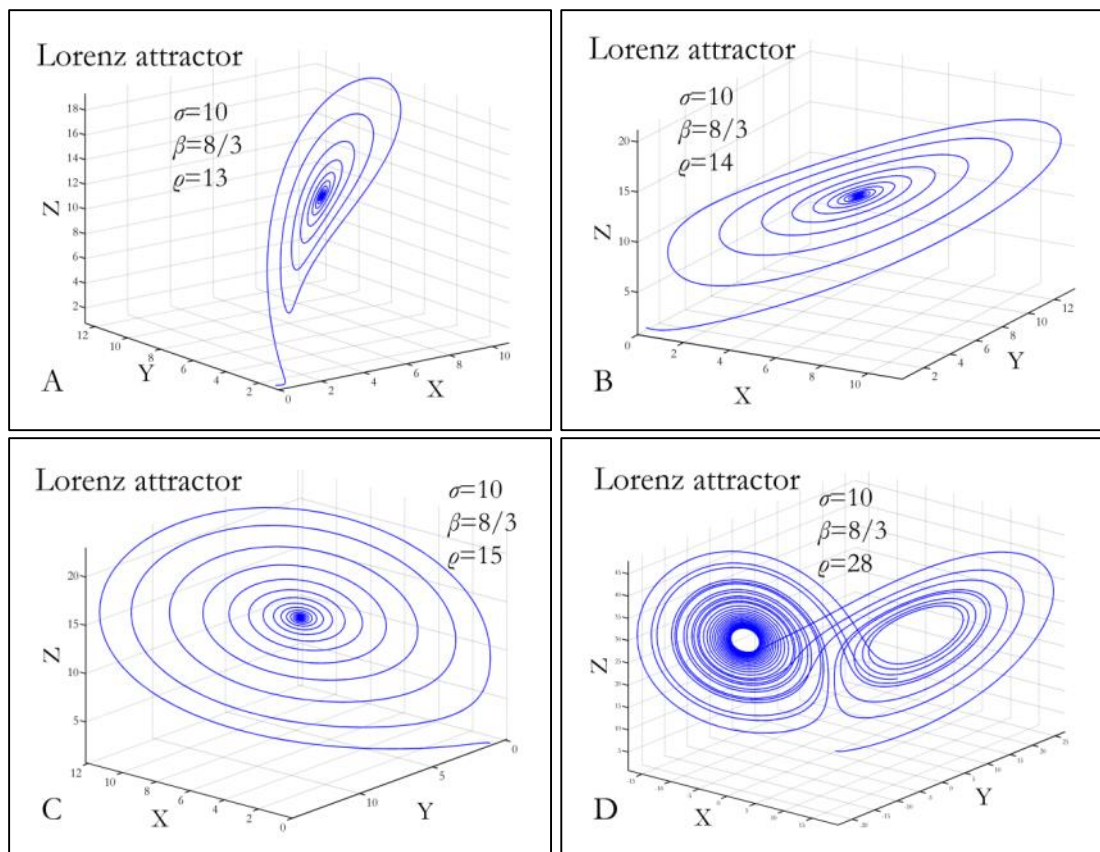
$$\frac{dx}{dt} = s(y - x)$$

$$\frac{dy}{dt} = x(r - z) - y, \text{ Εξίσωση 4. Σύστημα εξισώσεων των ατμοσφαιρικών ροών του Lorenz.}$$

$$\frac{dz}{dt} = xy - bz$$

Τα x, y, z περιγράφουν την κατάσταση του συστήματος για χρόνο t και τα s, r, b είναι οι παράμετροι του συστήματος, όπου $s, r, b > 0$. Ο Lorenz άλλαξε την παράμετρο r , η οποία ήταν ανάλογη της διαφοράς θερμοκρασίας μεταξύ της λίμνης και των πιο υψηλών στρωμάτων αέρα στην ατμόσφαιρα. Όσο το r ήταν μικρό ($0 < r < 1$) η άνοδος του αέρα εξασθενούσε και το σύστημα επανερχόταν γρήγορα σε απόλυτη ηρεμία. Όταν το r έγινε μεγαλύτερο του 1, εμφανίστηκαν δύο νέες ευσταθείς καταστάσεις ισορροπίας που συνδέονται με την περιοδική ανακύκλωση του θερμού και του ψυχρού αέρα. Όσο αύξανε το r , παρατήρησε ότι οι ταλαντώσεις του συστήματος πλησίαζαν μία από τις ευσταθείς αυτές καταστάσεις, διατηρώντας την περιοδικότητά τους. Μόλις όμως το r ξεπέρασε μια συγκεκριμένη τιμή (κοντά στο 25) οι ταλαντώσεις έγιναν ασταθείς και οι λύσεις των εξισώσεων άρχισαν να διαγράφουν πολύπλοκες τροχιές (48). Έτσι, αντικατέστησε τους όρους s, r, b με τις τιμές $s=10, b=8/3, r=28$ και το διάγραμμα που προέκυψε φαίνεται στην ακόλουθη εικόνα (Εικόνα 23D). Αντιστοίχως φάνηκε ότι οι παράγοντες του συστήματος των διαφορικών εξισώσεων επηρεάζουν το σύστημα που μελετούσε ο Lorenz, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 21).

Η θεωρία των μη-γραμμικών συστημάτων επεκτάθηκε και σε άλλα φαινόμενα, εκ των οποίων ένα ήταν η πληθυσμιακή αύξηση. Το απλούστερο μοντέλο ανάπτυξης ή συρρίκνωσης ουσιαστικά λέει ότι ο ρυθμός πολλαπλασιασμού ενός συστήματος είναι ανάλογος προς το μέγεθος του ίδιου του πληθυσμού. Η μεγέθυνση ή συρρίκνωση ενός πληθυσμού είναι άμεση συνάρτηση του πολλαπλασιασμού του, δηλαδή των γεννήσεων ή θανάτων αν αναφερόμεθα σε ολόκληρους οργανισμούς ή της κυτταρικής διαίρεσης ή κυτταρικού θανάτου αν αναφερόμεθα σε κυτταρικά συστήματα (1, 22) (Εικόνα 21).



Εικόνα 21. Ο Ελκυστής του Lorenz (*Lorenz attractor*). Μικρές αλλαγές στους παράγοντες του συστήματος επιφέρουν μεγαλύτερες αλλαγές στη συμπεριφορά του συστήματος. Εδώ παρουσιάζεται η επίδραση από τη μεταβολή του παράγοντα ρ για $\rho=13$ (A), $\rho=14$ (B), $\rho=15$ (C), $\rho=28$ (D).

4.2. ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Ο *E. Lorentz* όρισε το δυναμικό σύστημα ως εξής: “*Dynamical system: A deterministic system. Also, liberally, a system with a slight amount of randomness, provided that the qualitative behavior would not be appreciably changed if the randomness was somehow removed.*” Δηλαδή, χαρακτηρίζει ένα δυναμικό σύστημα ως ντετερμινιστικό, το οποίο διαθέτει μια μικρή υποψία τυχαιότητας, με την προϋπόθεση όμως, πως όταν αυτή εκλείψει η ποιοτική συμπεριφορά του δεν θα μεταβληθεί αισθητά (54).

Δυναμικό σύστημα ορίζεται ως ένα οποιοδήποτε σύνολο αλληλεπιδρώντων φυσικών, χημικών, βιολογικών μεταβλητών που εξελίσσονται στο χρόνο σύμφωνα με συγκεκριμένους νόμους. Η μόνη ανεξάρτητη μεταβλητή του είναι ο χρόνος, ο οποίος μπορεί να είναι είτε συνεχής, είτε διακριτός. Ένα δυναμικό σύστημα συνεχούς χρόνου απαιτεί για τη μελέτη του την επίλυση (συνήθων) διαφορικών εξισώσεων, ενώ ένα δυναμικό σύστημα διακριτού χρόνου περιγράφεται από εξισώσεις διαφορών. Το ότι η ανεξάρτητη μεταβλητή

τους είναι διακριτή σημαίνει ότι δεν τα παρατηρούμε συνεχώς, αλλά κατά τακτά χρονικά διαστήματα.

Ας θεωρήσουμε ένα N -διάστατο χώρο εξαρτημένων μεταβλητών $x_k(t)$, για $k=1, 2, \dots, N$, που έχουν ως μόνη ανεξάρτητη μεταβλητή τους το χρόνο t και αποτελούν συνιστώσες του διανύσματος:

$$x(t) = (x_1(t), x_2(t), \dots, x_N(t)), t \in I = (a, b), \text{ Εξίσωση 5. Δυναμικό σύστημα συνεχούς χρόνου.}$$

Η εξέλιξη στο χρόνο των διανυσμάτων αυτών, δίνεται από το παρακάτω σύστημα διαφορικών εξισώσεων:

$$\dot{x}_k = f_k(x, t), k = 1, 2, \dots, N, \text{ Εξίσωση 6.}$$

Παράδειγμα ενός δυναμικού συστήματος συνεχούς χρόνου αποτελεί το σύστημα αλληλεπιδρόντων Οργανισμών *Lotka-Volterra*. Έστω $x_1(t)$ και $x_2(t)$ είναι οι πληθυσμοί δύο ζώντων οργανισμών, που αναπτύσσονται και αλληλεπιδρούν (αλληλοτρώνονται, πολλαπλασιάζονται κ.λπ.) με τρόπο που μπορεί – σύμφωνα με το αποτέλεσμα κάποιων παρατηρήσεων - να περιγραφεί από εξισώσεις της μορφής (σύστημα διαφορικών εξισώσεων):

$$\left. \begin{array}{l} \dot{x}_1 = ax_1 - x_1x_2 \\ \dot{x}_2 = ax_2 - x_1x_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ \cdot \\ \dot{x}_N = ax_N - x_1x_2 \end{array} \right\}, \text{ Εξίσωση 7, όπου } a, b \text{ θετικοί αριθμοί.}$$

Η μελέτη των εξισώσεων αυτών μπορεί να απαντήσει σε ερωτήματα σχετικά με την εξέλιξη των πληθυσμών x_1, x_2 στο μέλλον.

Ενώ, για δυναμικό σύστημα διακριτού χρόνου ισχύει:

$$x_n = x(t_n) = (x_{1,n}, x_{2,n}, \dots, x_{N,n}), x_{k,n} = x_k(t_n), \text{ Εξίσωση 8 (55).}$$

Η εξέλιξη στο χρόνο του διανύσματος, για t διακριτό δίνεται από το παρακάτω σύστημα διαφορών:

$$x_{n+1} = g(x_n)$$

$$x_{k,n+1} = g_n(x_n), k = 1, 2, \dots, N, \text{ Εξίσωση 9.}$$

Η ανεξάρτητη μεταβλητή n μετράει τις χρονικές στιγμές που παρατηρούμε το σύστημα, ενώ η συνάρτηση g προσδιορίζει το νόμο της εξέλιξής του (56).

Οι διανυσματικές συναρτήσεις f και g αποτελούν την «μαθηματικοποίηση» του φαινομένου και φυσικά διαφέρουν ανάλογα με τους φυσικούς νόμους που διέπουν κάθε φαινόμενο. Ο Ευκλείδειος χώρος R^N στον οποίο εξελίσσονται τα διανύσματα $x(t)$ και x_n λέγεται και χώρος φάσεων του συστήματος. Ουσιαστικά αυτή η εξίσωση διαφορών αποτελεί μια τροχιά ενός δυναμικού συστήματος και υποδηλώνει ότι η κατάσταση του συστήματος για διακριτό χρόνο $t+1$ (π.χ. για την $t+1$ ημέρα καταμέτρησης των κυττάρων μιας καλλιέργειας) είναι μια συνάρτηση της κατάστασης του συστήματος για χρόνο t (57).

Τέλος, αν και αριθμητικά, δηλαδή με τη χρήση υπολογιστών, οι εξισώσεις διαφορών είναι πολύ πιο εύκολο να επιλυθούν από τις διαφορικές, η μαθηματική τους ανάλυση παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες λόγω της ανεξάρτητης μεταβλητής n που παίρνει μόνο ακέραιες τιμές. Για παράδειγμα, η μη γραμμική διαφορική εξίσωση πρώτης τάξης του *Riccati*:

$$\dot{x} = a + bx + cx^2, \text{ Εξίσωση 10, όπου αν } a, b, c \text{ είναι σταθερές η εξίσωση επιδέχεται γενική λύση.}$$

Η αντίστοιχη εξίσωση διαφορών περιγράφεται ως:

$$\dot{x} = a + bx_n + cx_n^2, \text{ Εξίσωση 11, όπου ανεξάρτητα των } a, b, c \text{ η εξίσωση δεν έχει λύση και περιέχει όλες τις μέχρι τώρα γνωστές μορφές χαοτικής συμπεριφοράς (55).}$$

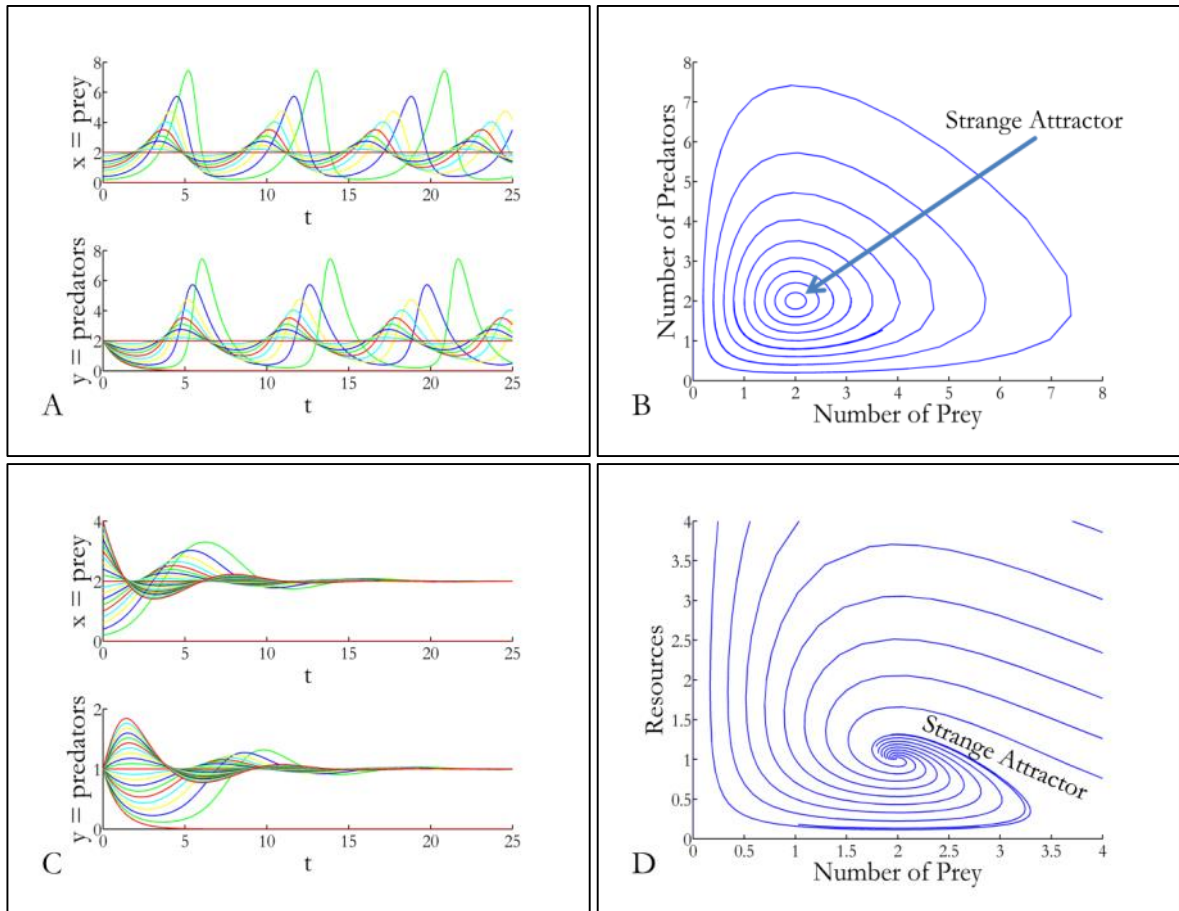
Ως εκ τούτου, όπως αναφέραμε και στα εισαγωγικά σχόλια της παρούσης εργασίας, ένα από τα πρώτα ζητήματα που μελετήθηκαν στην πληθυσμιακή αύξηση στα συστήματα βιολογίας ήταν το μοντέλο *Θύτη-Θύματος*. Το μοντέλο αυτό αφορούσε στη μελέτη της πληθυσμιακής αυξομείωσης σε ένα οικοσύστημα, περιγράφοντας τον τρόπο με τον οποίο τα ζώα-κυνηγοί και αυτά στη χαμηλότερη βαθμίδα της αλυσίδας αλληλεπιδρούσαν επηρεάζοντας το ένα τον πληθυσμό του άλλου (58-60). Το προτεινόμενο μοντέλο ήταν σχετικά απλό, αλλά όπως θα δούμε παρουσίαζε εξαιρετικά περίπλοκη δυναμική, δηλαδή ήταν της μορφής:

$$\frac{dy}{dt} = x(a - b \cdot y)$$

$$\frac{dx}{dt} = -y(g - dx)$$

Εξίσωση 12. Σύστημα εξισώσεων *Predator-Prey* των *Lotka-Volterra*.

Φάνηκε ότι αυτό το απλό σύστημα παρουσίαζε μη-γραμμική δυναμική, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 22**.



Εικόνα 22. Η δυναμική δύο ειδών πληθυσμών συναρτήσει του χρόνου (**A**) και σε διάγραμμα phase-space, όπου φαίνεται η μη-γραμμική δυναμική τους και η εμφάνιση των ελκυστών που είχαν δείχθει στα μοντέλα του Lorenz (**B**). Στο διάγραμμα (**A**) παρατηρούμε την ταλαντωτική μορφή που έχει ο πληθυσμός των ειδών που μελετώνται και η άμεση αλληλεπίδραση και αλληλεξάρτηση τους. Όταν μοντελοποιηθούν οι δύο πληθυσμοί ξεχωριστά ο ένας από τον άλλο αλλά με περιορισμούς στους πόρους (**C**) τότε οι δύο πληθυσμοί γίνονται ασυμπτωτικοί και πλησιάζουν ένα σταθερό σημείο ισορροπίας. Αντίστοιχα η διαγραμματική απεικόνιση ως phase-space, εμφανίζει πάλι ελκυστές κάτι το οποίο είναι σημάδι μη-γραμμικής συμπεριφοράς (**D**).

Αυτό που εύκολα μπορεί κανείς να παρατηρήσει είναι το γεγονός ότι δύο στοιχεία επικρατούν στα δυναμικά μη-γραμμικά συστήματα, το πρώτο είναι οι ταλαντώσεις και το δεύτερο είναι οι εμφάνιση ελκυστών ή αποθητών στη δυναμική τους. Στο θέμα αυτό θα αναφερθούμε εκτενέστερα στην αμέσως επόμενη υπο-ενότητα.

4.3. ΧΩΡΟΣ ΦΑΣΕΩΝ, ΕΛΚΥΣΤΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΥΠΩΣΕΙΣ POINCARÉ

4.3.1. Χώρος Φάσεων (Phase-Space)

Ως χώρο των φάσεων θεωρούμε μια περιοχή μέσα στην οποία μπορεί να μελετηθεί ένα δυναμικό σύστημα, όπου η κατάσταση του κάθε χρονική στιγμή αναπαρίσταται με ένα σημείο (61). Ο χώρος φάσεων ενός δυναμικού συστήματος ορίζεται ως ο μαθηματικός χώρος κάθετων συντεταγμένων οι οποίες αναπαριστούν όσες μεταβλητές χρειάζονται για να προσδιοριστεί η στιγμιαία κατάσταση του συστήματος. Για παράδειγμα, η κατάσταση ενός σωματιδίου που κινείται σε μία διάσταση αναπαρίσταται από την θέση του και τη ταχύτητά του, συνεπώς ο χώρος φάσεων του είναι ένα επίπεδο. Ενώ, ένα σωματίδιο που κινείται σε τρεις διαστάσεις θα έχει έναν 6-διάστατο χώρο φάσεων, ο οποίος θα αποτελείται από τρεις διευθύνσεις χώρου και τρεις ταχύτητας. Την θέση της ταχύτητας μπορούν να την πάρουν κι άλλες μεταβλητές, όπως για παράδειγμα η ορμή. Έτσι η κατάσταση του συστήματος κάθε στιγμή αναπαρίσταται ως ένα σημείο στο χώρο φάσεων. Όλες οι πληροφορίες που αφορούν το σωματίδιο περιέχονται στις συντεταγμένες αυτού του σημείου. Καθώς το σύστημα μεταβάλλεται (π.χ. χρονικά), το σημείο μετακινείται σε μια νέα θέση στο χώρο των φάσεων, ακολουθώντας μια τροχιά (διάγραμμα φάσεων). Μία ομάδα τέτοιων τροχιών ονομάζεται πορτρέτο φάσεων (62).

4.3.2. Σημεία Ισορροπίας (Fixed Points)

Κάθε φορά που αντιμετωπίζουμε ένα μη γραμμικό δυναμικό σύστημα, είτε αυτό είναι μη γραμμικές διαφορικές εξισώσεις, είτε αποτελείται εξισώσεις διαφορών, το πρώτο πράγμα που κάνουμε είναι να βρούμε τα σημεία ισορροπίας του ($x_{t+1} = x_t$), δηλαδή τα $x_k = \bar{x}$ σταθ. ($k=1,2$ για x_1, x_2) στα οποία $\dot{x}=0$. Το αμέσως επόμενο ερώτημα είναι αν τα σημεία είναι ευσταθή ή ασταθή, δηλαδή αν τοποθετήσουμε το σύστημά μας σε ένα από αυτά, ποια θα είναι η κίνησή του, αν υποστεί μια μικρή διαταραχή. Για να πραγματοποιηθεί μια τέτοια τοπική ανάλυση, π.χ. στο σύστημα που αναφέρθηκε με τους πληθυσμούς που αλληλεπιδρούν και αλληλοτρώνονται (*Lotka-Volterra*), θέτουμε $x_1 = \bar{x} + \xi_1$ και $x_2 = \bar{x} + \xi_2$ ($\xi \ll 1$) και γραμμικοποιούμε τις εξισώσεις (απορρίπτουμε τους μη γραμμικούς όρους ξ_1, ξ_2) καταλήγοντας στις:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{\xi}_1 = a\xi_1, \dots, a\xi_n = -b\xi_2 \\ \dot{\xi}_2 = a\xi_1, \dots, a\xi_n = -b\xi_2 \end{array} \right\}, \text{ Εξίσωση 13.}$$

Η εξίσωση αυτή ισχύει και για τα δύο σημεία ισορροπίας. Είναι προφανές ότι το σημείο $(0,0)$ είναι ασταθές (σαγματικό) σταθερό σημείο, εφόσον η κίνηση κοντά του έχει μια συνιστώσα που μεγαλώνει εκθετικά στον χρόνο, ενώ το σημείο (b, a) είναι ευσταθές (στη συγκεκριμένη περίπτωση λέγεται ελλειπτικό, αφού διαγράφονται ελλείψεις γύρω του) (55). Για να συμπεράνουμε αν το σημείο ισορροπίας είναι ολικά ευσταθές θα πρέπει το σύστημα να προσεγγίζει το σημείο ανεξαρτήτως των αρχικών συνθηκών (63).

4.3.3. Ελκυστές (Attractors)

Ο ελκυστής εμφανίζεται όταν η τροχιά ενός ντετερμινιστικού συστήματος στο χώρο φάσεων συγκλίνει σε μία συμπιεσμένη ομάδα σημείων. Η ανίχνευση ενός ελκυστή λίγων διαστάσεων συχνά προϋποθέτει χαοτικά δυναμικά συστήματα (57).

Η διάσταση του χώρου καταστάσεων ή φάσεων ενός δυναμικού συστήματος είναι ο αριθμός των διαφορικών εξισώσεων (για συνεχές t) πρώτης τάξης που απαιτούνται να το περιγράψουν. Στον χώρο αυτό, η κίνηση παρουσιάζει γενικά μια από τις ακόλουθες μορφές καθώς αυξάνεται ο χρόνος (64):

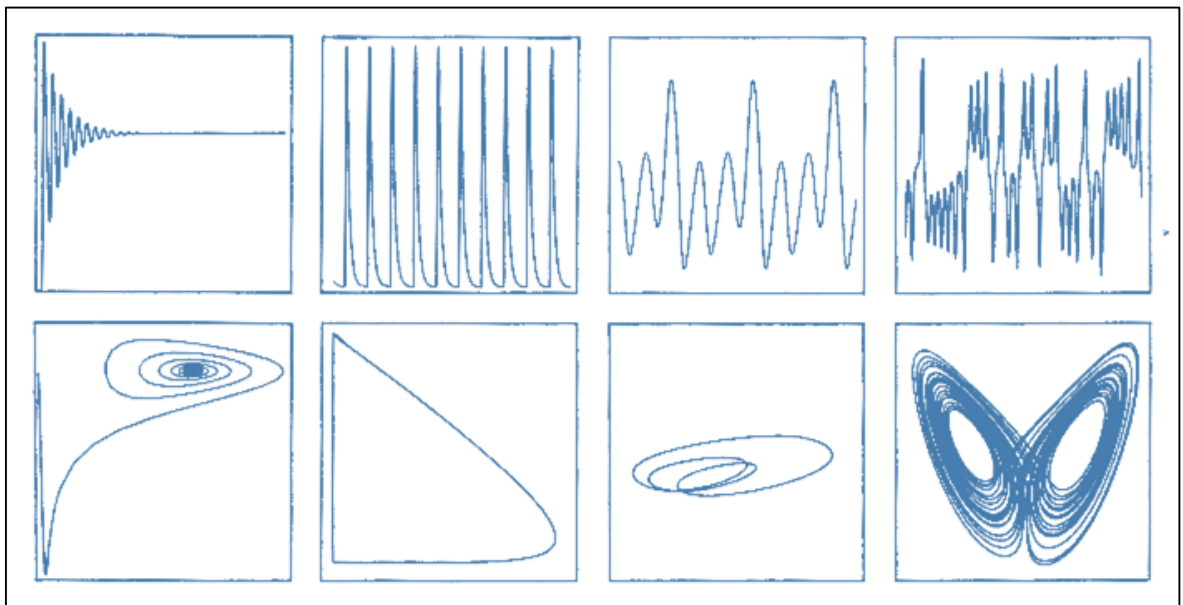
- Σύγκλιση προς (ή απόκλιση από) απομονωμένα σταθερά σημεία του χώρου φάσεων, ή σημεία ισορροπίας (όπου $x_{k+1}=x_k$), αναλόγως αν αυτά αποτελούν ευσταθείς (ή ασταθείς) κόμβους.
- Ταλαντώσεις που είναι περιοδικές, αν οι τροχιές χαρακτηρίζονται από n συχνότητες $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$ ρητώς εξαρτημένες μεταξύ τους, ή σχεδόν περιοδικές αν οι συχνότητες αυτές είναι ρητώς ανεξάρτητες.
- Χαοτική συμπεριφορά, κατά την οποία η κίνηση είναι απεριοδική, πεπερασμένη και χαρακτηρίζεται από ένα συνεχές (γενικά μη διακριτό) φάσμα συχνοτήτων και εξαιρετικά ευαίσθητη εξάρτηση από τις αρχικές συνθήκες.

Και στις τρεις περιπτώσεις ενδέχεται η τελική μορφή κίνησης να είναι ελκυστής του δυναμικού συστήματος. Στις δύο πρώτες περιπτώσεις ο εν λόγω ελκυστής λέγεται κανονικός ενώ στην τρίτη λέγεται παράξενος (strange attractor) (65).

Η παρακάτω κατηγοριοποίηση χρονοσειρών πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό του χάους, όπως αναφέρεται και στην μορφή c) πιο πάνω (**Εικόνα 23**):

- Απεριοδική χρονοσειρά, σημαίνει πως η ίδια κατάσταση δεν επαναλαμβάνεται ποτέ δύο φορές.
- Πεπερασμένη, υποδηλώνει πως η κατάσταση παραμένει εντός κάποιων ορίων χωρίς να προσεγγίζει ποτέ το άπειρο (∞).

3. Ντετερμινιστική, σημαίνει πως υπάρχει ένας ορισμένος κανόνας εξέλιξης, έτσι ώστε η δυναμική του συστήματος να μην εξαρτάται από την τυχαιότητα. Θεωρητικά σε ένα ντετερμινιστικό σύστημα αρκεί η γνώση του x_0 για τον υπολογισμό των μελλοντικών τιμών του x_k .
4. (Ευαίσθητη) Εξάρτηση από τις αρχικές συνθήκες: Συνεπάγεται πως δύο σημεία που είναι αρχικά «κοντά» θα απομακρυνθούν αισθητά καθώς αυξάνεται το t (ο χρόνος). Αυτή είναι μια βασική διάσταση στη θεωρία του χάους. Υποδηλώνει πως μπορούμε να προβλέψουμε τι θα γίνει βραχυπρόθεσμα, αλλά όχι μακροπρόθεσμα εφόσον δεν θα γνωρίζουμε με βεβαιότητα τις ακριβείς αρχικές μεταβλητές σε ένα πραγματικό σύστημα (63).



Εικόνα 23. Χώρος φάσεων (Phase-space) χρονοσειρών (53) (p. 50).

Οι παραδοσιακές χρονοσειρές (πάνω) και οι τροχιές στο χώρο των φάσεων (κάτω) είναι δύο τρόποι παρουσίασης των ίδιων στοιχείων και απεικόνιση της μακροπρόθεσμης συμπεριφοράς ενός συστήματος. Το πρώτο (αριστερά) σύστημα συγκλίνει σε μια ευσταθή κατάσταση σε ένα σημείο του χώρου φάσεων. Το δεύτερο σχήμα επαναλαμβάνεται περιοδικά, σχηματίζοντας κυκλική τροχιά. Το τρίτο επαναλαμβάνεται με έναν πιο πολύπλοκο ρυθμό «βαλς», έναν κύκλο με «περίοδο τρία», ενώ το τέταρτο είναι χαοτικό (49).

4.3.4. Αποτυπώσεις *Poincaré* (*Poincaré Maps*)

Οι απεικονίσεις *Poincaré*, πήραν το όνομά τους από τον εμπνευστή τους *Henri Poincaré*, στον οποίο αναφερθήκαμε στην εισαγωγή της παρούσης εργασίας. Η βασική ιδιότητα της απεικόνισης αυτής είναι ότι δίνει μια διαφορετική οπτική σε συνεχείς περίπλοκες συναρτήσεις, των οποίων οι τροχιές δηλαδή τα γραφήματα είναι περίπλοκα για να μελετηθούν. Έτσι, αυτό που ειπώθηκε ήταν ότι αντί κανείς να μελετήσει ολόκληρη την τροχιά/γράφημα που διαγράφει μια συνάρτηση αρκεί να βρει τα σημεία τομής ή διέλευσης του γραφήματος από ένα επίπεδο δύο διαστάσεων. Έστω λοιπόν ότι το γράφημα S_f της συνάρτησης f τέμνει το επίπεδο σε δύο σημεία A και B . Αν το A είναι η k φορά που τέμνει το επίπεδο και B είναι η $k+1$ φορά που η συνάρτηση τέμνει το επίπεδο, τότε αποδεικνύεται ότι υπάρχει μια απεικόνιση $G:G(A)=B$. Με τον τρόπο αυτό ένα δυναμικό σύστημα n διαστάσεων μετασχηματίζεται σε $n-1$ διαστάσεις. Παραθέτουμε στην επόμενη εικόνα (**Εικόνα 24**) μερικά πολύ ενδιαφέροντα παραδείγματα καθώς και την τομή *Poincaré* διαγραμματικά.

Η συνολική εργασία του *Poincaré* στις περιοδικές λύσεις των διαφορικών εξισώσεων ήταν εξαιρετικής σημασίας και αποτελούν την βάση πολλών επιτευγμάτων μέχρι και σήμερα. Η θεμελιώδης ιδέα του *Poincaré* ήταν αντί να μελετήσει όλη τη τροχιά, θα επικεντρωνόταν στα ίχνη (τομές) αυτής πάνω σε ένα επίπεδο κάθετο στην τροχιά (66) (**Εικόνα 24**).

Η τομή *Poincaré* ορίζεται ως η στροβοσκοπική απεικόνιση των τροχιών του χώρου φάσματος ανά περίοδο $T = \frac{2\pi}{\omega}$ μελετώντας το εγκάρσιο επίπεδο Σ μια τροχιάς γ μίας ροής φ_t με $\dot{x} = f(x), x \in \mathbf{R}^N$, χωρίς να μελετάει όλο το N -διάστατο δυναμικό σύστημα (67). Μετατρέπει μία συνεχή γραμμή σε ομάδα σημείων, διατηρώντας την ουσία της κίνησης ενός ελκυστή παραδείγματος χάρη. Αρκεί να επιλεγθεί κατάλληλο Σ και να γίνει η ανάλυση των σημείων που επιτυγχάνουν να επιστρέψουν μέσω της τροχιάς τους στο κάθετο επίπεδο, έτσι ώστε να μας παρέχουν αρκετές πληροφορίες. Πιο συγκεκριμένα, θεωρούμε το σύστημα:

$$\dot{x} = f(x), U \in \mathbf{R}^N \rightarrow \mathbf{R}^N, \text{ Εξίσωση 14.}$$

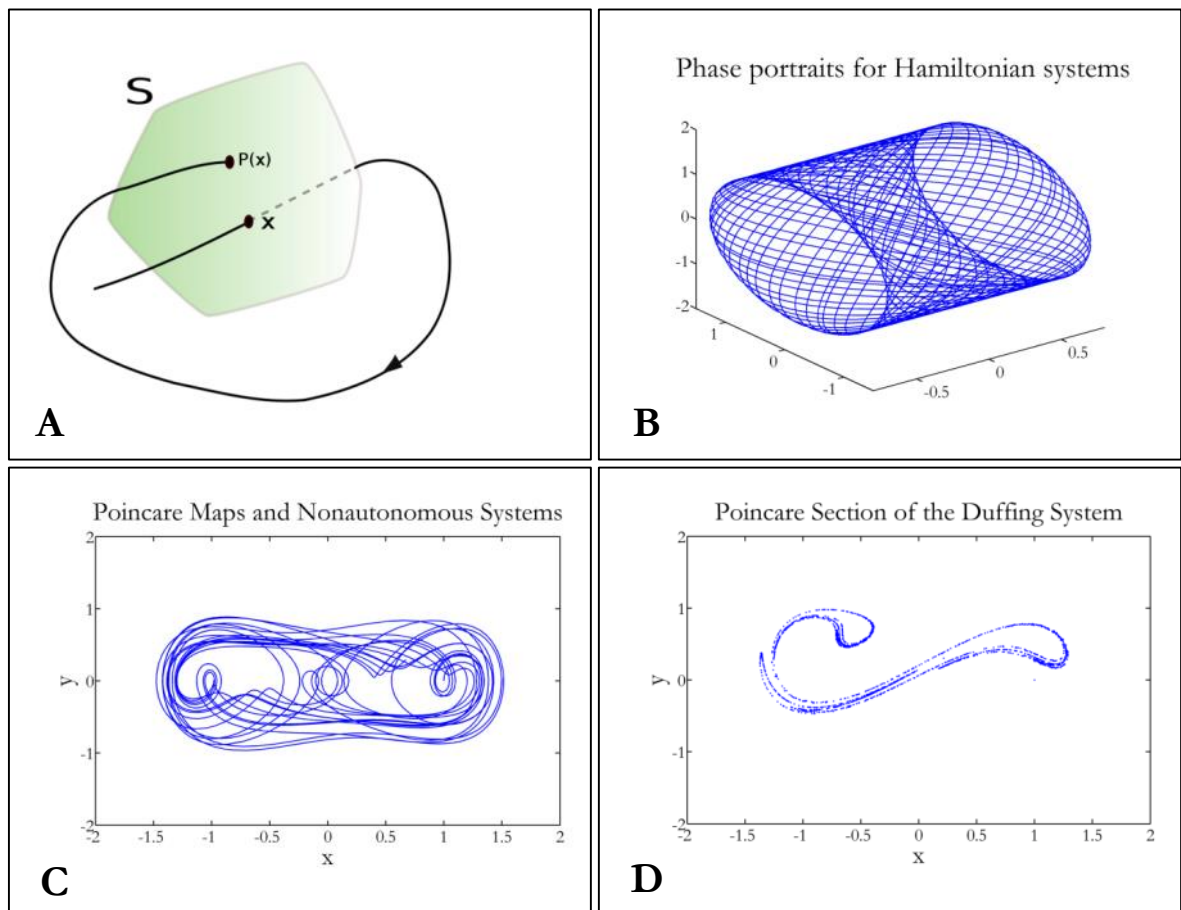
Υποθέτουμε ότι η ροή φ_t η οποία προκύπτει από την παραπάνω εξίσωση έχει περίοδο T , άρα $\varphi(t+T, x_0) = \varphi(t, x_0)$ και ότι η κάθετη τομή Σ στο διάνυσμα του x διάστασης $n-1$, δηλαδή η απεικόνιση *Poincaré* $P(x): V \in \Sigma \rightarrow \Sigma$, συσχετίζει διάνυσμα του x (το \bar{x}) στο V , με το σημείο $P(\bar{x})$ της πρώτης «επιστροφής» στο Σ (68).

Συνεπώς από το πρώτο σημείο στο επίπεδο Σ , ακολουθώντας τη διεύθυνση της ροής και εφόσον η τροχιά τέμνει (με την ίδια φορά) το Σ προκύπτει το δεύτερο σημείο, και αντίστοιχα το τρίτο, το τέταρτο (εάν αυτά υπάρχουν) κλπ. Η διαδικασία αυτή αναπαρίσταται ως απεικόνιση μέσω του τελεστή P τέτοιος ώστε:

$x_i = kx_i(1-x_i) = 0 \Rightarrow x_i = 0, x_i = \frac{R-1}{R}$, **Εξίσωση 15**, Όπου (x',y') είναι το σημείο της απεικόνισης επαναφοράς του (x,y) .

Για όλες τις επιτυχείς επαναφορές ισχύει ότι:

$(x_2, y_2) = P(P(x_0, y_0)) = P^2(x_0, y_0)$, **Εξίσωση 16**, άρα $(x_n, y_n) = P^n(x_0, y_0)$.



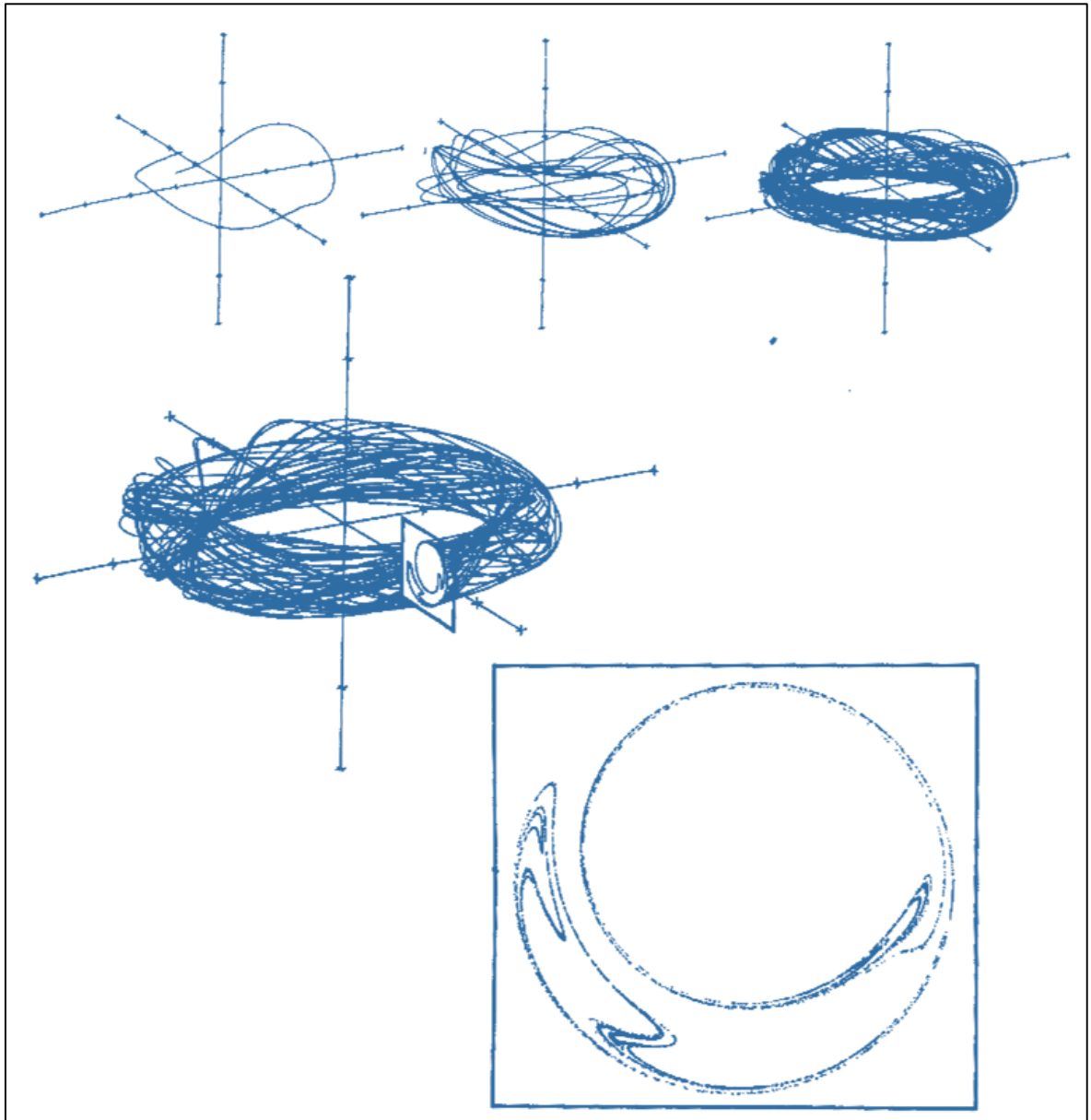
Εικόνα 24. Παραδείγματα των τομών *Poincare*. Ένα γράφημα $(P(x))$ τέμνει μια επιφάνεια σε δύο σημεία

Το σημείο όπου ο $P(x)$ το αντιστοιχεί στον εαυτό του, δηλαδή $P(x_0)=x_0$ είναι σημείο ισορροπίας (69). Για να αναλύσει την κίνηση των τροχιών στο χώρο φάσεων, ο Πουανκαρέ φαντάστηκε μία επίπεδη επιφάνεια, που θα τρυπούσαν οι τροχιές και θα κατέγραφε το

ακριβές σημείο όπου θα τη διαπερνούσαν. Το μεγάλο της προτέρημα είναι ότι απλοποιεί το πρόβλημα της παρατήρησης. Αν ένας πλανήτης ακολουθεί αδιάκοπα την ίδια τροχιά στον ουρανό, όπως πίστευε ο Νεύτων, τότε ο ίδιος κύκλος θα παρατηρείται και στον χώρο φάσεων. Αυτός ο κύκλος θα διαπερνά το επίπεδο του Πουανκαρέ σε ένα και μοναδικό σημείο. Μια πιο περίπλοκη κίνηση, που επαναλαμβάνεται μετά από τέσσερα περάσματα, μεταφράζεται σε τέσσερα σημεία του επιπέδου αυτού. Μια κίνηση που δεν επαναλαμβάνεται ποτέ, γεννά άπειρα σημεία. Τα σημεία του επιπέδου του Πουανκαρέ εμφανίζουν σχέδια των οποίων η πολυπλοκότητα αντικατοπτρίζει άμεσα την πολυπλοκότητα της κίνησης στον πραγματικό χώρο. Εξετάζοντας τα σχέδια αυτά, ο *Poincaré* συνάντησε το χάος. Ιδιοφυώς διέβλεψε μέσα από τα σχέδια αυτού του κατακόρυφου επιπέδου ότι υπήρχαν καταστάσεις όπου μια πολύ μικρή αλλαγή στην αρχική θέση ή ταχύτητα ενός από τα τρία σώματα μπορούσε να αλλοιώσει εντελώς την τροχιά του. Η μικρή αυτή αλλαγή μπορούσε να το κάνει να μεταπηδήσει από τη σταθερότητα στο χάος (70, 71).

Μερικά από τα πλεονεκτήματα που προσφέρουν οι αποτυπώσεις *Poincaré* στη μελέτη συνήθων διαφορικών εξισώσεων είναι τα ακόλουθα:

1. Η αποτύπωση (τομή) *Poincaré* οδηγεί στην εξάλειψη τουλάχιστον μίας από τις μεταβλητές του προβλήματος, λύνοντας έτσι ένα πρόβλημα λιγότερων διαστάσεων.
2. Στην περίπτωση προβλημάτων λίγων σχετικά διαστάσεων (κάτω από 5), οι αποτυπώσεις *Poincaré* παρέχουν μια αντιπροσωπευτική εικόνα των δυναμικών χαρακτηριστικών του συστήματος (72).
3. Την λεπτομερή παρουσίαση της δομής ενός ελκυστή. Το παρακάτω παράδειγμα χαοτικού συστήματος διαθέτει πάνω από 8000 σημεία, όπου καθένα από αυτά παριστάνει μια ολοκληρωμένη τροχιά γύρω από τον ελκυστή. Ουσιαστικά το σύστημα υποβλήθηκε σε «δειγματοληψία» σε κανονικά χρονικά διαστήματα (49) (**Εικόνα 25**).
4. Τέλος μπορεί να διευκολύνει το ερώτημα περί τροχιακής ευστάθειας μιας περιοδικής τροχιάς μιας συνήθους διαφορικής εξίσωσης (HALE 1980), απλοποιώντας το σε πρόβλημα εύρεσης της ευστάθειας κάποιου σημείου ισορροπίας του χάρτη (73).



Εικόνα 25. Παραδείγματα παράξενων ελκυστών (53) (p. 142).

4.4. Ο «ΑΠΕΡΙΟΔΙΚΟΣ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΣ», Η ΣΙΓΜΟΕΙΔΗΣ ΕΞΙΣΩΣΗ (LOGISTIC EQUATION) ΚΑΙ Ο ΔΕΙΚΤΗΣ *LYAPUNOV*

4.4.1. Ο Απεριοδικός Κρύσταλλος του *Erwin Schrödinger*

Σε αρκετά δυναμικά συστήματα παρατηρείται μακροσκοπική τάξη (στα σχήματα ρευμάτων μεταφοράς μέσα σε ένα δοχείο με θερμαινόμενο νερό, στους τυφώνες, στους ανεμοστρόβιλους, στην ερυθρά κηλίδα του πλανήτη Δία κ.α.), η οποία όμως δεν αντικατοπτρίζεται στο μοριακό επίπεδο. Έχοντας στην διάθεση μας, ένα πανίσχυρο μικροσκόπιο με το οποίο θα διακρίνουμε τα μεμονωμένα μόρια, διαπιστώνουμε ότι η κίνηση

τους είναι σχεδόν ολοκληρωτικά τυχαία. Σε μοριακό επίπεδο, υπάρχει μόνο χάος – αλλά μεροληπτικό χάος – το οποίο μπορεί να δημιουργήσει τάξη μακροσκοπικά. Τάξη από το χάος, δηλαδή, κάτι που συγκλίνει εννοιολογικά με την «τάξη από την αταξία» του *Erwin Schrödinger* (70, 74).

Τάξη από το χάος, σύμφωνα με τον *I. Prigogine*, δημιουργείται μακράν της ισορροπίας, αφού σε ένα ισόρροπο σύστημα, τα μόρια κινούνται άτακτα προς κάθε κατεύθυνση (στατιστική κατανομή *Maxwell-Boltzman*), έτσι οι δομές προκύπτουν μέσω μη αναστρέψιμων διεργασιών. Η μη αναστρεψιμότητα αποτελεί τη βάση των δομών που παρατηρούνται στο σύμπαν (δομή του Ήλιου, της Γης, γεωλογικοί σχηματισμοί) (**Εικόνα 26**) (75).



Εικόνα 26. Ο Δίας είναι ένα εξ ολοκλήρου ρευστό σε κίνηση και η μεγάλη κόκκινη κηλίδα στο νότιο ημισφαίριο είναι μια τεράστια δίνη από αέρια, φυλακισμένη μέσα σε τεράστιες, οριζόντιες λωρίδες νέφους. Η κηλίδα μπορεί να νοηθεί ως ένα σύστημα που οργανώνεται μόνο του, μια σταθερή περιοχή που δημιουργήθηκε και συντηρήθηκε από το χάος που ήταν υπεύθυνο για όλη την αναταραχή που την περιέβαλε. Μια νησίδα σταθερότητας με δομές σε έναν ωκεανό αστάθειας από μη δομές (76) (*Juno Image Gallery*, πηγή: *NASA*).

Οι βάσεις για τη μελέτη των μη-γραμμικών συστημάτων μπήκαν από τα τέλη του 19ου αιώνα και ωρίμασαν στα μέσα του 20ου αιώνα. Δεν είναι μεγάλο το χρονικό διάστημα στο οποίο τέτοια φαινόμενα μελετώνται και υπάρχει ένα μεγάλο κενό στη μελέτη τους και στην εφαρμογή τους στα βιολογικά συστήματα. Γιατί όμως είναι απαραίτητο να δημιουργήσουμε μοντέλα για τη μελέτη των φυσικών και κατ' επέκταση των βιολογικών και επίσης βιοϊατρικών φαινομένων; Ο λόγος είναι η δυνατότητα για πρόβλεψη. Τα μοντέλα αποτελούν μια προσέγγιση του πως λειτουργεί ο φυσικός κόσμος (22, 77). Όσο καλύτερα μπορούμε να περιγράψουμε ένα φαινόμενο, τόσο καλύτερα το έχουμε κατανοήσει. Το πρόβλημα όμως με τα βιολογικά φαινόμενα είναι ότι αποτελούν πολυδιάστατες οντότητες, που δεν μπορούν να

περιγραφούν με τα συμβατικά μέσα που διαθέτουμε. Επί παραδείγματι, ο Schrödinger περιέγραψε το χρωμόσωμα ως μια μορφή ασύμμετρου κρυστάλλου, ο οποίος κατά την άποψή του είναι ο υλικός φορέας της ζωής. «*Το πιο ουσιαστικό μέρος ενός ζωντανού οργανισμού – η ίνα του χρωμοσώματος – μπορεί κάλλιστα να ονομαστεί απεριοδικός κρύσταλλος*» (19). Ακόμα παραμένει ένα μυστήριο, ο τρόπος που ακόμα και η μεταγραφή λαμβάνει χώρα, αφού νέα ευρήματα δείχνουν πως στη διαδικασία αυτή σημαντικό ρόλο παίζει η τρισδιάστατη δομή της χρωματίνης. Άρα δεν έχουμε απλά έναν ασύμμετρο κρύσταλλο αλλά έναν ασύμμετρο κρύσταλλο, που αλλάζει δομή ανάλογα με τις συνθήκες, που προκύπτουν (1).

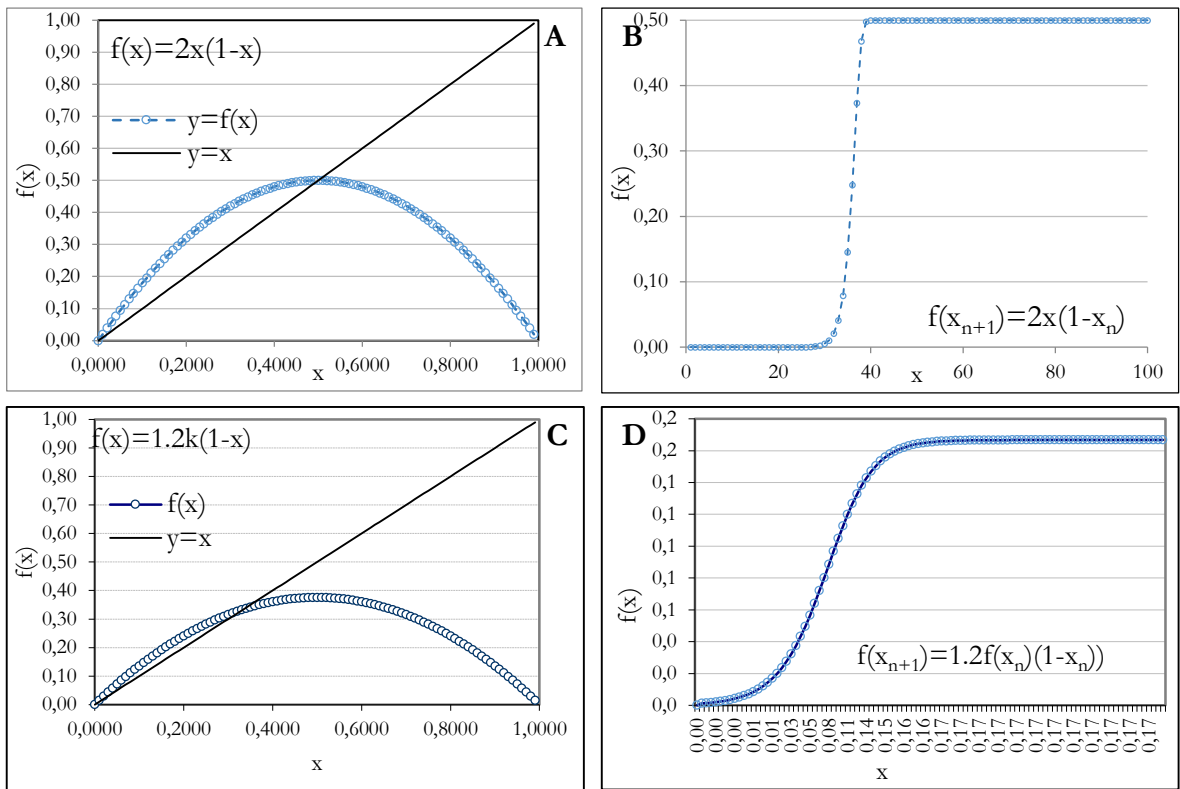
4.4.2. Η Σιγμοειδής Εξίσωση (Logistic Equation)

Οι αρχικές υποθέσεις για την κυτταρική ανάπτυξη ήταν ότι ακολουθούσαν γραμμική πορεία. Μια από τις πλέον γνωστές και αρκετά μελετημένες συναρτήσεις της κυτταρικής ανάπτυξης είναι η σιγμοειδής συνάρτηση της μορφής:

$f(x)=kx(1-x)$, **Εξίσωση 17**. Απλοποιημένη μορφή της σιγμοειδούς συνάρτησης.

Παρά το γεγονός ότι η συνάρτηση αυτή παρουσιάζει εξαιρετικά απλή μορφή, έχει αποδειχθεί ότι είναι μη-γραμμικής φύσεως (78) (**Εικόνα 27**). Έχει δειχθεί ότι ο παράγοντας k είναι αυτός που καθορίζει τη διαφορά μεταξύ γραμμικότητας και μη γραμμικότητας (**Εικόνα 28, Εικόνα 29**). Μάλιστα ο *Robert May* (1976) τονίζει στη περίληψη ενός άρθρου του πως ακόμα και μια απλή μη γραμμική απεικόνιση μπορεί να έχει πολύ πολύπλοκες δυναμικές συμπεριφορές. Καταλήγει λέγοντας: “*an evangelical plea for the introduction of these difference equations into elementary mathematics courses, so that students’ intuition may be enriched by seeing the wild things that simple nonlinear equations can do.*” αναφερόμενος στη σιγμοειδή εξίσωση (79). Παράδειγμα εξάρτησης από τον παράγοντα k , της γραμμικής ή όχι συμπεριφοράς του συστήματος αποτελούν τα παρακάτω διαγράμματα. Έστω μια μη γραμμική εξίσωση διαφορών με παράγοντα $k=2.9$ και $k= 3.52$ αντίστοιχα. Εάν επιλύσουμε την εξίσωση με σκοπό την εύρεση των σημείων ισορροπίας θα προκύψουν οι εξής ρίζες (63):

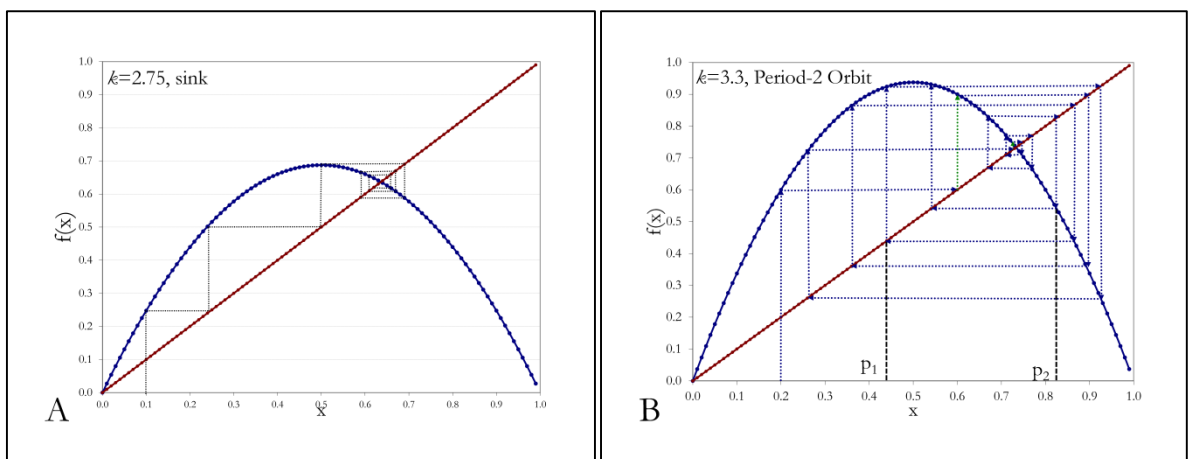
$x_t = kx_t(1 - x_t) = 0 \Rightarrow x_t = 0, x_t = \frac{R-1}{R}$, **Εξίσωση 18**. Απλοποιημένη μορφή της σιγμοειδούς συνάρτησης.



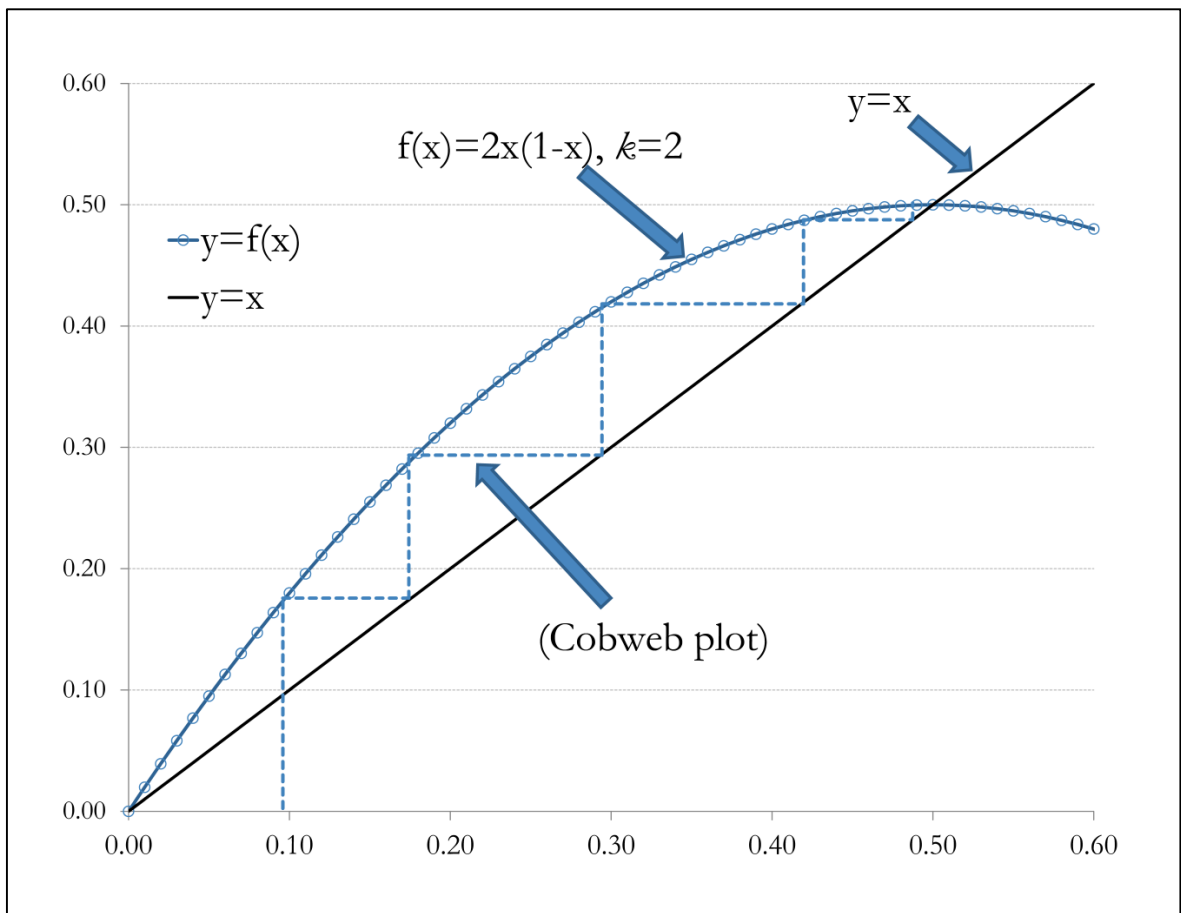
Εικόνα 27. Γραφική αναπαράσταση της σιγοειδούς συνάρτησης (21).

Αναλυτικότερα, όσον αφορά τη μελέτη της εξέλιξης ενός πληθυσμού οργανισμών σε ένα περιβάλλον, η παρακάτω εφαρμογή είναι διαφωτιστική. Έστω ότι ο μέγιστος αριθμός οργανισμών που μπορεί να υποστηρίξει ένα συγκεκριμένο περιβάλλον είναι $N=1000$

οργανισμοί και ότι $x_n = \frac{P_n}{N}$.



Εικόνα 28. Οι τροχιές των τιμών x , y όπως αυτές αντικατοπτρίζονται ως ένα cobweb plot. Όταν οι απεικονίσεις γίνονται περιοδικές, αυτό είναι ένα στοιχείο του χάους (21).



Εικόνα 29. Μεγέθυνση τμήματος της σιγμοειδούς συνάρτησης, όπου φαίνεται η αντιστοίχιση των τιμών x , y και πως αυτές συγκλίνουν προς ένα απεριόριστο σημείο. Αυτό αποτελεί ένα χαρακτηριστικό της χαοτικής συμπεριφοράς (21).

Ο παράγοντας $x_n = \frac{P_n}{N}$ είναι το ποσοστό που αντιστοιχεί στους P_n οργανισμούς της n -οστής γενιάς. Η εξέλιξη του πληθυσμού ικανοποιεί την εξίσωση:

$$x_{n+1} = kx_n(1-x_n), n = 0, 1, 2, \dots, n, \wedge k > 0, \text{ Εξίσωση 19.}$$

Οι συνθήκες του προβλήματος απαιτούν τα x_n να ανήκουν στο διάστημα $[0, 1]$, οπότε η παράμετρος k παίρνει τιμές στο διάστημα $[0, 4]$. Το ερώτημα τώρα είναι αν αρχίσουμε με λίγους οργανισμούς στην αρχή, δηλαδή $x_0 = 0,01$ (1000/100=10 οργανισμοί) πώς θα εξελιχθούν αυτοί στη συνέχεια. Ας υποθέσουμε επίσης ότι οι οργανισμοί αρχικά διπλασιάζονται, δηλαδή $k=2$. Οπότε θα έχουμε:

$$x_1 = 2x_0, x_2 = 2x_1, \dots, x_{n-1} = 2x_{n-2}, x_n = 2x_{n-1}, x_{n+1} = 2x_n, \text{ Εξίσωση 20.}$$

Από την εξίσωση αυτή, παρατηρείται μια εκθετική αύξηση του αριθμού των οργανισμών από γενιά σε γενιά εφόσον ο όρος x_n^2 μπορεί να αγνοηθεί όσο τα x_n είναι μικρά. Καθώς όμως τα x_n αυξάνονται, μεγαλώνει και ο όρος x_n^2 , ο οποίος αντιπροσωπεύει τις απώλειες του πληθυσμού (π.χ. ανταγωνισμός οργανισμών λόγω περιορισμένης τροφής). Έτσι, ο αριθμός των οργανισμών μειώνεται μέχρι να φτάσει στα επίπεδα όπου υπάρχει αρκετή τροφή για να αυξηθεί και πάλι. Τι θα συμβεί τελικώς; Υπάρχει περίπτωση να μειωθεί ο πληθυσμός τόσο πολύ που τελικά να πεθάνουν όλοι οι οργανισμοί; Είναι δυνατόν ο αριθμός τους να σταθεροποιηθεί σε μια συγκεκριμένη τιμή (π.χ. 500 οργανισμοί); Μπορεί να ταλαντώνεται περιοδικά ανάμεσα σε διαφορετικές τιμές (π.χ. 300, 400 και 600 οργανισμοί) και αν ναι, θα είναι οι ταλαντώσεις αυτές ευσταθείς;

Για $x_0=0.1$ και $k=2$ τα x_n τείνουν γρήγορα σε ευσταθές σημείο ισορροπίας, αφού ο πληθυσμός των οργανισμών θα ισορροπήσει τελικά στον αριθμό 500. Ενώ για $k=0.5$ οδηγούμαστε στην πλήρη εξαφάνιση των οργανισμών (σημείο ισορροπίας στο $\bar{x}=0$) (48). Αν οι οργανισμοί αυξάνονται με επιταχυνόμενους δηλαδή $k=3$ υπάρχει σύγκλιση στο σημείο $\bar{x}=2/3$ (667 οργανισμοί), η οποία όμως είναι πιο αργή.

Αν δηλαδή οι οργανισμοί αρχικά (όταν έχουν περισσότερη τροφή και δεν υφίσταται ανταγωνισμός) τριπλασιάζονται σε κάθε γενιά, τότε ο πληθυσμός τους θα τείνει σε σημείο ισορροπίας, αλλά με τόσο αργό ρυθμό που πρέπει να μας βάλει σε σκέψεις. Έτσι, δοκιμάζοντας για $k=3.2$ προκύπτει $\bar{x}=2/3$, το οποίο όμως είναι τώρα ασταθές σημείο ισορροπίας. Τα x_n τείνουν σε μία ταλάντωση (περιοδική τροχιά) ανάμεσα σε δύο τιμές.

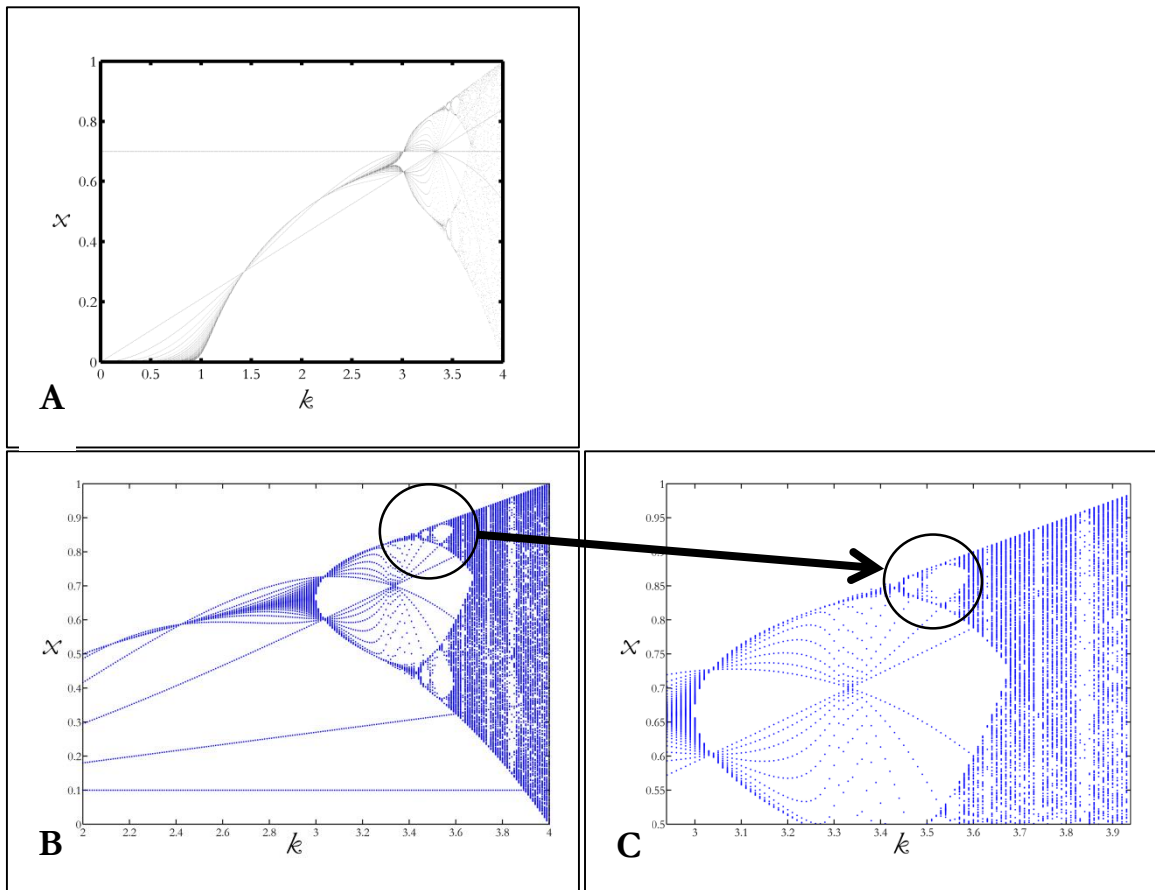
Θα ήταν μάλλον απίθανο ένας πληθυσμός σε ένα κλειστό περιβάλλον να παραμένει πάντα σταθερός. Άλλωστε, σε παρόμοια συστήματα παρατηρούνται συχνά περιοδικές αυξομειώσεις πληθυσμών, αφού και η τροφή με την οποία συντηρούνται δεν αναπαράγεται συνεχώς με τον ίδιο ρυθμό. Το διάστημα τιμών του k που μένει να μελετηθεί δεν είναι πολύ μεγάλο, αφού για $k>4$ θα υπάρχουν x_n από τα οποία θα προκύψουν $x_{n+1} > 1$, πράγμα που είναι ασυμβίβαστο με την έννοια του x_n . Έστω, λοιπόν, $k=3.9$ και μία αρχική τιμή x_0 , τότε οι αριθμοί που παράγονται από το δυναμικό σύστημα φαίνονται εντελώς τυχαίοι. Παρατηρείται ότι το x_{n+1} είναι τελείως απρόβλεπτο και ότι οι οργανισμοί αυξομειώνονται με έναν πραγματικά χαοτικό τρόπο. Πώς εισχώρησε η «τυχειότητα» σε μία τόσο σαφώς ντετερμινιστική διαδικασία;

Θεωρούμε δύο διαφορετικά x_0 που όμως βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο, π.χ. $x_0=0.11915$ και $x_0'=0.11916$. Η αρχική διαφορά των τροχιών μας λοιπόν είναι:

$$\Delta_0 = |x_0 - x_0'| = 0.00001, \text{ Εξίσωση 21.}$$

Οι δύο τροχιές ξεκίνησαν τόσο κοντά η μια στην άλλη και απομακρύνονται πολύ γρήγορα μεταξύ τους. Η απόκλισή τους είναι τόσο ραγδαία, ώστε μετά από 15 μόνο επαναλήψεις η διαφορά τους Δ_{15} έχει φτάσει στο πρώτο δεκαδικό ψηφίο, από το πέμπτο δεκαδικό που ήταν στην αρχή. Αυτό σημαίνει πως ένα ελάχιστο σφάλμα στην αρχική μας συνθήκη, στο πέμπτο, δέκατο ή εκατοστό ψηφίο θα αυξηθεί εκθετικά, ώστε μετά από ένα μικρό αριθμό επαναλήψεων καταλήγει και σε αποτέλεσμα 100% λάθος (48).

Ο *R. May* και άλλοι επιστήμονες αντί να χρησιμοποιούν μεμονωμένα διαγράμματα για να δείχνουν τη συμπεριφορά πληθυσμών με διαφορετικούς βαθμούς γονιμότητας χρησιμοποίησαν το «διχαλωτό διάγραμμα», ώστε να συγκεντρώσουν όλες τις πληροφορίες σε μία μόνο εικόνα. Το διάγραμμα δείχνει πως οι μεταβολές σε μια παράμετρο μεταβάλλουν την τελική συμπεριφορά του συστήματος. Οι τιμές της παραμέτρου εκτείνονται από αριστερά προς τα δεξιά. Ο τελικός πληθυσμός σημειώνεται στον κατακόρυφο άξονα. Με μια έννοια, η αύξηση της τιμής της παραμέτρου σημαίνει ότι το σύστημα διαταράσσεται εντονότερα, δηλαδή ότι αυξάνεται η μη γραμμικότητά του. Όταν η παράμετρος παίρνει τιμές μικρότερες του 1 (αριστερά), ο πληθυσμός τείνει να εξαφανιστεί. Καθώς η τιμή αυξάνεται (κέντρο) αυξάνεται και η τιμή ισορροπίας του πληθυσμού. Στη συνέχεια καθώς η παράμετρος αυξάνεται και άλλο, η ισορροπία «σπάζει» σε δύο, όπως ακριβώς η αύξηση θερμότητας που μεταφέρεται από ένα ρευστό προκαλεί αστάθεια, ο πληθυσμός αρχίζει να εναλλάσσεται ανάμεσα σε δύο διαφορετικά επίπεδα. Οι διακλαδώσεις συμβαίνουν όλο και πιο γρήγορα. Τότε το σύστημα γίνεται χαοτικό (δεξιά) και ο πληθυσμός παίρνει άπειρες στο πλήθος διαφορετικές τιμές (49) (**Εικόνα 30, Εικόνα 31**).



Εικόνα 30. Το δενδρόγραμμα των τιμών της k (21).

4.4.3. Εκθέτης *Lyapunov*

Ο εκθέτης *Lyapunov*, ο οποίος πήρε το όνομα του από τον Ρώσο μαθηματικό *Aleksandr Mikhailovich Lyapunov (1857-1918)*, χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της εξάρτησης από τις αρχικές συνθήκες, ένα γεγονός χαρακτηριστικό της χαοτικής συμπεριφοράς (80). Χρησιμοποιώντας, ως παράδειγμα την εφαρμογή των πολλαπλασιαζόμενων οργανισμών οι οποίοι ακολουθούσαν τη σιγμοειδή συνάρτηση εξέλιξης, η διαφορά μεταξύ των τροχιών για $k=3,9$ αυξάνεται εκθετικά με το n . Άρα:

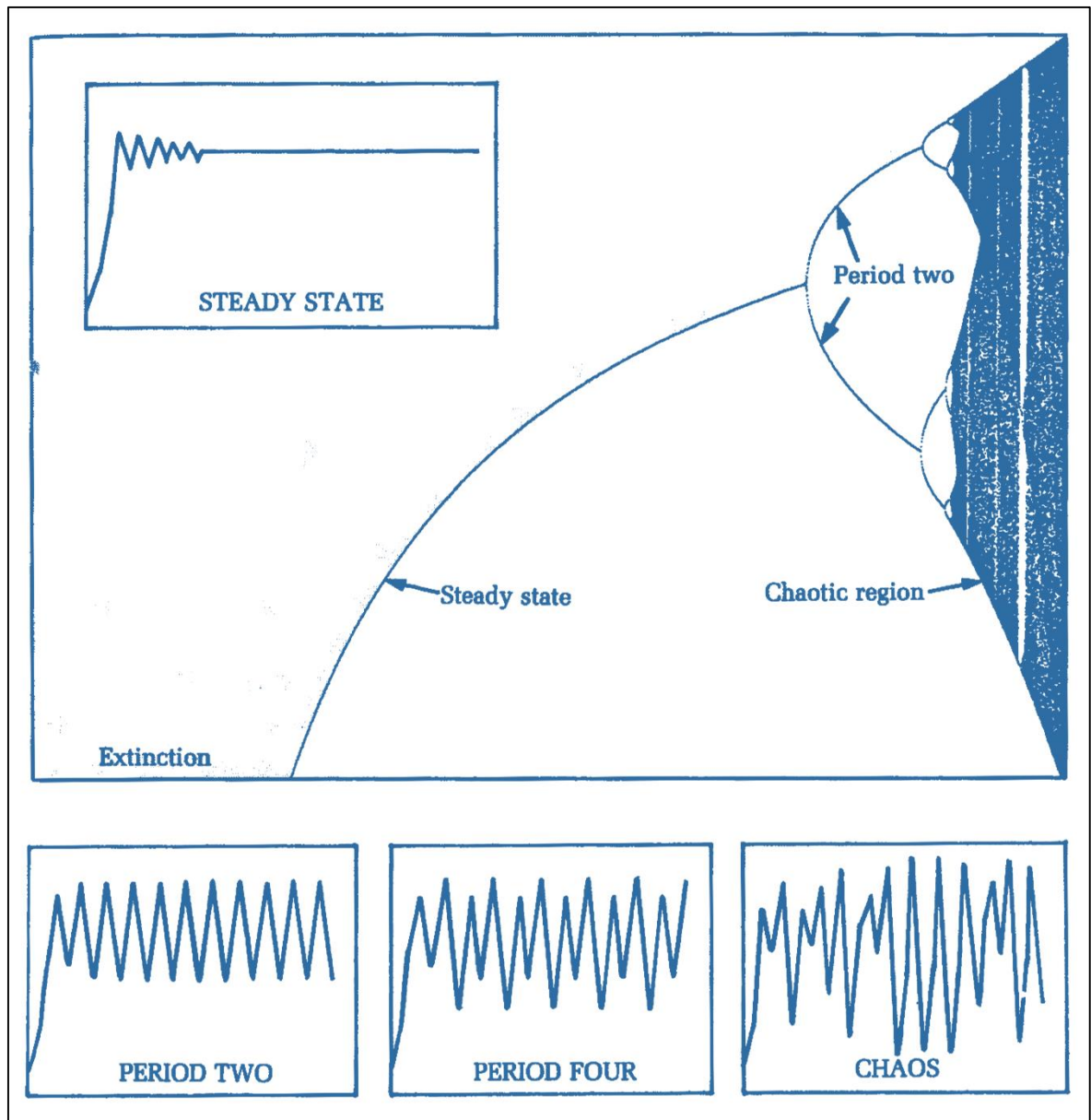
$$\Delta_n = |x_n - x'_n| = \Delta_0 e^{\lambda n}, \text{ Εξίσωση 22.}$$

Αυτή η εξαιρετικά ευαίσθητη εξάρτηση της δυναμικής από τις αρχικές συνθήκες ποσοτικοποιείται μέσω του εκθέτη λ (48). Λογαριθμίζουμε (με βάση e) και προκύπτει:

$$\ln \left(\frac{\Delta_n}{\Delta_0} \right) = n\lambda, \text{ Εξίσωση 23.}$$

Για πολύ μικρά $\Delta_0 \rightarrow 0$, ισχύει:

$$\left\{ \begin{array}{l} \lambda = \frac{1}{n} \ln \left(\frac{dx'_{n}}{dx} \right) \\ \lambda = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \sum_{i=0}^{n-1} \ln |x'| \end{array} \right\}, \text{ Εξίσωση 24.}$$



Εικόνα 31. Το δενδρόγραμμα των τιμών της k με τις φάσεις που επικρατούν ανάλογα με αυτό (53) (p. 71).

Συνεπώς, ο εκθέτης λ δίνει το βαθμό υπερέκτασης ή τεντώματος ανά επανάληψη, κατά μέσο όρο στην τροχιά (62). Ένας εκθέτης μεγαλύτερος του μηδενός σημαίνει «τέντωμα» του χώρου φάσεων, δηλαδή τα γειτονικά σημεία απομακρύνονται, ενώ αρνητικός εκθέτης σημαίνει συστολή του χώρου φάσεων (49). Για ελκυστή σημείου ισορροπίας όπου η εξέλιξη δεν είναι χαοτική, όλοι οι εκθέτες Λιαπούνοβ είναι αρνητικοί, αφού η κατεύθυνση της έλξης

είναι προς τα «μέσα», προς την τελική ευσταθή κατάσταση (62). Ένας ελκυστής με μορφή περιοδικής τροχιάς έχει έναν εκθέτη ακριβώς ίσο με μηδέν και άλλους εκθέτες που είναι αρνητικοί. Τέλος, ένας παράξενος ελκυστής πρέπει να έχει τουλάχιστον έναν θετικό εκθέτη (49). Γενικά ισχύει:

- Σημείο ισορροπίας: $\rightarrow \lambda_i < 0, i=1,2,\dots,n;$
- Κυκλική τροχιά: $\rightarrow \lambda_1=0, \lambda_i < 0, i=2,\dots,n;$
- Τόρος: $\rightarrow \lambda_1=\lambda_2=0, \lambda_i < 0, i=3,\dots,n;$
- Χαοτική συμπεριφορά: $\rightarrow \lambda_1 > 0, \text{ τουλάχιστον (81).}$

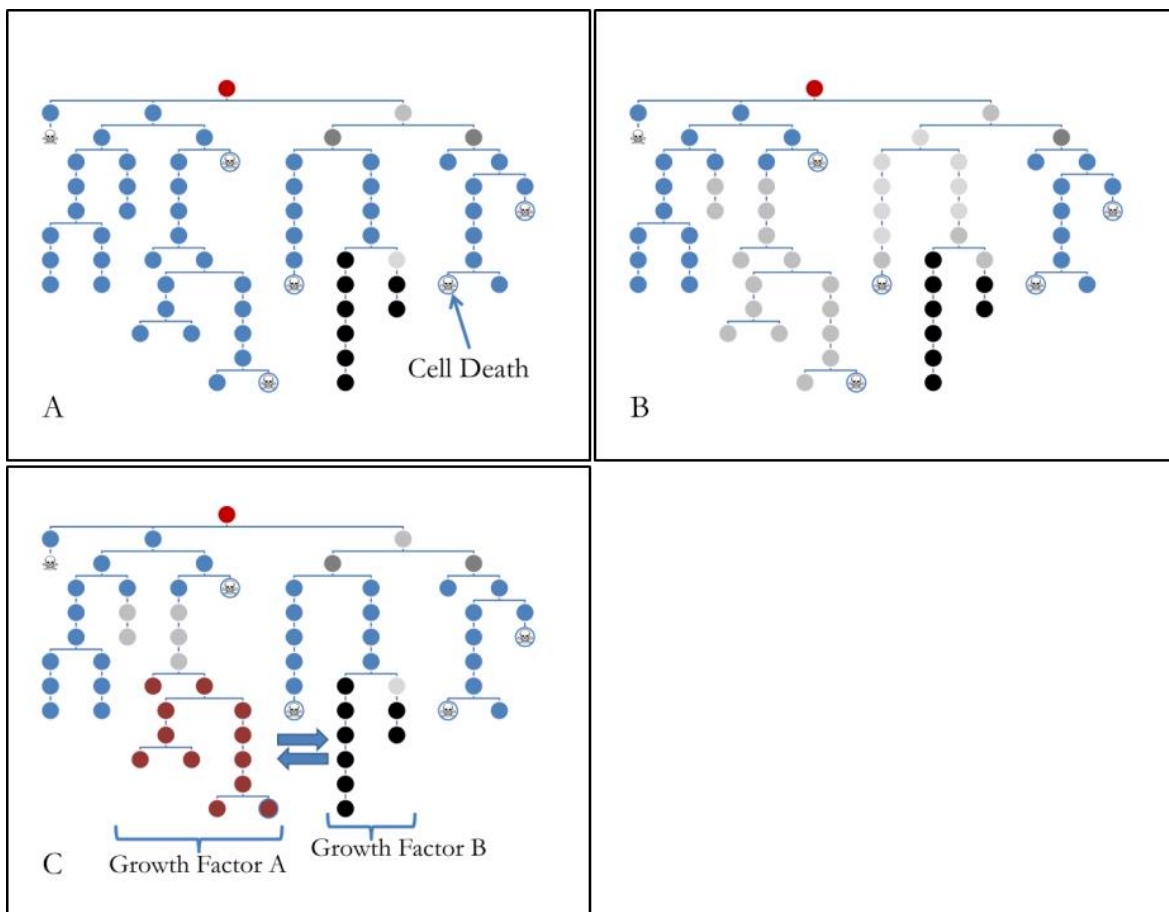
4.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ, ΚΒΑΝΤΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΑΣ ΠΑΙΓΝΙΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ: ΜΙΑ ΣΥΝΤΟΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑ

4.5.1. Παίγνια και Κυτταρικός Πολλαπλασιασμός

Το γεγονός ότι στη φύση υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των οργανισμών, αποτέλεσε ένα από τα αντικείμενα μελέτης, σχεδόν όλων των επιστημών, τόσο των βιοϊατρικών όσο και άλλων όπως των οικονομικών. Η αλληλεπίδραση αυτή ονομάστηκε Θεωρία Παιγνίων, όπως προαναφέραμε, από τους *John von Neumann* και *Oskar Morgenstern*. Μερικά χρόνια αργότερα ο *Nash*, επέκτεινε τη θεωρία αυτή εισάγοντας τη έννοια της ισορροπίας, η οποία και ονομάστηκε ισορροπία *Nash*. Η διατύπωση του *Nash* έλεγε: “*An equilibrium is reached as soon as no party can increase its profit by unilaterally deciding differently*”, «*Ισορροπία επιτυγχάνεται όταν κανένα από τα εμπλεκόμενα μέρη δεν μπορεί να αυξήσει το κέρδος του αποφασίζοντας μονοσήμαντα*» (μ.τ.σ) (14-16).

Ο πρώτος που διατύπωσε μια τέτοια συσχέτιση ήταν ο *J. M. Smith*, με την εφαρμογή της θεωρίας των παιγνίων στην εξέλιξη των οργανισμών. Οι μελέτες επί του θέματος αυτού, συνεχίστηκαν και επεκτάθηκαν στον τομέα της ογκογένεσης. Ως εκ τούτου, προτάθηκαν κάποια μοντέλα, τα οποία προσπάθησαν να επεξηγήσουν τα αίτια της ογκογένεσης μέσα από το πρίσμα της θεωρίας παιγνίων. Η κεντρική ιδέα στην επεξήγηση της ογκογένεσης με τη θεωρία παιγνίων αφορά στη μελέτη του πληθυσμού που προκύπτει, ο οποίος προσπαθεί να παραγκωνίσει τον αρχικό πληθυσμό, ήτοι τα καρκινικά κύτταρα, που φέρουν νέες μεταλλάξεις ή εν γένει γενοτυπικές ιδιότητες και προσπαθούν να αυξηθούν εις βάρος των φυσιολογικών (82, 83).

Η πολλαπλασιαστική δυναμική των κυττάρων, αφορά το χρονικό περιθώριο από τη στιγμή που εμφανίζεται ο πρώτος νεοπλασματικός κλώνος μέχρι τη στιγμή που φτάνει έναν ικανό κυτταρικό όγκο που μπορεί να διαγνωσθεί. Μέχρι του σημείου της διάγνωσης, είναι πιθανό να υπάρχει ήδη εστία μεταστάσεως ή όχι. Μάλιστα, έχει φανεί ότι η μετάσταση δεν οφείλεται πιθανότατα σε γενετικές αλλαγές αλλά σε προσαρμογή των καρκινικών κυττάρων στο μικροπεριβάλλον και μετέπειτα αλλαγή στρατηγικής στον τρόπο πολλαπλασιασμού. Με απλά λόγια, ο όγκος αναγνωρίζει, ενδεχομένως, από το περιβάλλον που βρίσκεται ότι δεν μπορεί να αναπτυχθεί άλλο, έχει φτάσει δηλαδή σε κάποιο όριο χωρικής (spatial) διάταξης και μέσω του κυκλοφορικού συστήματος στέλνει «αγγελιοφόρους» σε άλλα σημεία του σώματος (84). Έτσι, είναι πλέον γενικώς αποδεκτό ότι αφού τα καρκινικά κύτταρα ανταγωνίζονται για τους πόρους, ισχύουν οι θεωρίες παιγνίων (84). Τα βασικά μοντέλα που αναφέραμε συνοψίζονται στην **Εικόνα 32**.



Εικόνα 32. Διαγραμματική αναπαράσταση των βασικών μοντέλων παιγνίων για την πολλαπλασιαστική δυναμική των νεοπλασματικών κυττάρων. Η κλασική θεώρηση για την αύξηση ενός όγκου: Τα γενετικά μετασχηματισμένα κύτταρα (μαύρο χρώμα) πολλαπλασιάζονται. Σε αυτή τη διαδικασία ο κυτταρικός θάνατος λαμβάνει χώρα λόγω του ανταγωνισμού για πόρους (A). Μια από τις βασικές υποθέσεις για την αύξηση των νεοπλασματικών κυττάρων αναφέρεται στη συνεργασία. Τα αρχικά κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) διαιρούνται σε νέους πληθυσμούς (γκρι χρώμα), τα οποία με τη σειρά τους συνεργάζονται για να παράξουν έναν τρίτο πληθυσμό (μαύρο χρώμα) εξελικτικά πιο βέλτιστο και ικανό να συνεχίσει την προαγωγή του όγκου (B). Τελική υπόθεση για την αύξηση των νεοπλασματικών κυττάρων, όπου τα αρχικά κύτταρα (γαλάζιο χρώμα) γεννούν δύο νέους πληθυσμούς (κόκκινο χρώμα και μαύρο χρώμα) ικανούς να συνεχίσουν τη νεοπλασία αλλά μόνο σε συνεργασία, παράγοντας π.χ. αυξητικούς παράγοντες (Growth Factors A, B) απαραίτητους για τον κάθε πληθυσμό χωρίς τους οποίους κανείς δεν μπορεί να προχωρήσει παρά μόνο σε συνέργεια (C) (Σχήμα προσαρμοσμένο από (1, 85-87)).

4.5.2. Προσεγγιστικές Μέθοδοι στη Θεωρία Παιγνίων

Από τα παραπάνω, θα μπορούσαμε να θέσουμε δύο βασικά ερωτήματα για την πολλαπλασιαστική δυναμική των κυττάρων. Το πρώτο είναι ότι οι κυτταρικοί πληθυσμοί ακολουθούν μη-γραμμικά μοντέλα ανάπτυξης και το δεύτερο αφορά στο ότι η ανάπτυξη των κυττάρων στηρίζεται σε παίγνιο που λαμβάνει χώρα κατά την ανάπτυξή τους (1). Ας επανέλθουμε για λίγο στην έννοια των παιγνίων όπως αναφερθήκαμε σε αυτά στην

εισαγωγή. Ένα πολύ γνωστό παίγνιο είναι το *Bach or Stravinsky*. Ένα ζευγάρι, θέλει να παρακολουθήσει ένα κονσέρτο. Ο άνδρας θέλει να πάει να ακούσει *Bach* και η γυναίκα θέλει να παρακολουθήσει ένα κονσέρτο του *Stravinsky*. Βλέποντας τις επιλογές τους βλέπουμε ότι αν και οι δύο εμμένουν στις αρχικές επιλογές τους τότε κανείς δεν θα πάει στο κονσέρτο με τον άλλον και άρα θα έχουν μηδενικό όφελος. Αν πάνε να ακούσουν *Bach* τότε και οι δύο θα πάνε σε κονσέρτο αλλά ο άνδρας θα έχει μεγαλύτερο όφελος από τη γυναίκα, ενώ αν πάνε να ακούσουν *Stravinsky*, και οι δύο θα πάνε σε κονσέρτο αλλά η γυναίκα θα έχει μεγαλύτερο όφελος¹³. Αυτό είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα παιγνίου. Ας προσπαθήσουμε να φέρουμε το θέμα αυτό (των παιγνίων δηλαδή) στα κυτταρικά συστήματα και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Υπάρχουν διάφορες στρατηγικές που μπορούν τα κύτταρα να ακολουθήσουν. Η μελέτη των πληθυσμιακών παιγνίων έχει μελετηθεί από αρκετές ομάδες με κυριότερη αυτή των *Taylor* και *Jonker* (1978) (88) καθώς και των *Hofbauer* και *Sigmund* (1998), *Nowak* και *Sigmund* (2004), *Hofbauer* και *Sigmund* (2003) και *Imhof* (2005) (89). Μια από τις βασικές παραδοχές που γίνεται στη θεωρία παιγνίων είναι η ισορροπία. Στην ισορροπία *Nash*, ορίζουμε ότι είναι το σημείο όπου κανείς από τους παίκτες δεν θέλει να αλλάξει τη στρατηγική του διότι δεν υπάρχει κανένα όφελος από αυτό. Υπάρχουν διάφορα είδη παιγνίων, όπως είναι το *συνεργικό παίγνιο* (*Coordination game*), το *δίλημμα του φυλακισμένου* (*Prisoner's dilemma*), *παίγνιο δικτυακών κόμβων* (*Network traffic*) και *ανταγωνιστικά παίγνια* (*Competition game*) (1).

Πρώτα ας διατυπώσουμε το πρόβλημα. Υπάρχουν N παίκτες (κύτταρα), οι οποίοι με δεδομένους τους πόρους του περιβάλλοντος (χώρος και τροφή) θέλουν όλοι να πολλαπλασιαστούν. Αυτό αυτομάτως μας τοποθετεί σε μια κατάσταση ανταγωνισμού διότι η κατανάλωση πόρων από μια ομάδα παικτών σημαίνει αυτόματα λιγότερους πόρους για τους υπόλοιπους. Κατά συνέπεια θεωρούμε ως καταλληλότερο μοντέλο περιγραφής το ανταγωνιστικό παίγνιο. Στο παίγνιο αυτό τα κύτταρα, ορίζουμε ότι έχουν τις εξής στρατηγικές επιλογές:

- i. Να παραμείνουν όλα ανενεργά ήτοι στη G_1/G_0 φάση, να μην πολλαπλασιαστούν και να περιμένουν απλά μέχρι να τελειώσει ο πόρος-τροφή. Εναλλακτικά μια ακριβώς ισοδύναμη στρατηγική θα ήταν να αποφασίσουν να περάσουν όλοι στο μηχανισμό της απόπτωσης (*cell death CD*), όπου κανείς δεν θα πολλαπλασιασθεί εις βάρος ενός άλλου. Στις περιπτώσεις αυτές, και μόνο σε αυτές, έχουμε μια *καθαρή ισορροπία Nash*, μιας και κανείς από τους παίκτες δεν έχει όφελος ή ζημία περισσότερο από τον άλλο. Εδώ

μπαίνει και ένας νέος παράγοντας. Η στρατηγική αυτή δεν είναι μόνο μια ισορροπία Nash αλλά είναι και η ενεργειακά πιο συμφέρουσα επιλογή, μιας και απαιτούνται οι λιγότεροι πόροι για τη διατήρησή της. Αυτομάτως ερχόμαστε στο θέμα της θερμοδυναμικής ισορροπίας στην οποία βρίσκεται το σύστημα πόροι-παίκτες. Επίσης αν τα κύτταρα επιλέξουν την παραμονή στην G_1/G_0 φάση έχουν τη χαμηλότερη εντροπία στη ζωντανή κατάσταση, ενώ αν επιλέξουν την απόπτωση η εντροπία τείνει στο μηδέν. Άρα καταλαβαίνουμε ότι έχουμε την πρώτη ζεύξη μεταξύ των ισορροπιών Nash και της θερμοδυναμικής ισορροπίας. Δεν θα αναλύσουμε περαιτέρω το συγκεκριμένο ζήτημα μιας και αποτελεί από μόνο του μια αυτόνομη εργασία, αρκετά περίπλοκη για να ξεδιπλωθεί σε μια υποενότητα.

- ii. Μέρος από αυτά να περάσουν στη σύνθεση χρωματίνης, ήτοι στην S φάση, που είναι ο προθάλαμος του πολλαπλασιασμού και να καταναλώσουν περισσότερους πόρους από τους υπόλοιπους (οι υπόλοιποι παίκτες παραμένουν στην G_1/G_0).
- iii. Μέρος από αυτά να περάσουν στη G_2 φάση, ήτοι στον προθάλαμο της μίτωσης και κατά συνέπεια στον πολλαπλασιασμό, και να καταναλώσουν περισσότερους πόρους από τους υπόλοιπους.
- iv. Μέρος εξ αυτών να προχωρήσουν στο μηχανισμό της απόπτωσης (CD), αφήνοντας περισσότερους πόρους για τους υπόλοιπους και
- v. Να περάσουν όλοι οι παίκτες (τα κύτταρα) σε διαδικασία πολλαπλασιασμού, ήτοι στην S φάση και μετέπειτα στη G_2 φάση, φτάνοντας γρηγορότερα σε εξάλειψη των πόρων. Στην περίπτωση αυτή, αν υποθέταμε ότι οι πόροι είναι ανεξάντλητοι (όπως π.χ. σε μια in vivo κατάσταση) τότε και εδώ έχουμε ισορροπία Nash, αφού όλοι οι παίκτες έχουν το ίδιο όφελος.

Ας διατυπώσουμε τα παραπάνω με πιο συστηματικό τρόπο:

Έστω σ οι διαθέσιμες στρατηγικές, όπου $\sigma = \{1, 2, \dots, n\}$. Έστω p_{jk} το όφελος (*payoff*) για τον παίκτη που επιλέγει τη στρατηγική j έναντι εκείνου που επιλέγει τη στρατηγική k ($j, k \in \sigma$). Έστω επίσης N_j , ο πληθυσμός που επιλέγει τη στρατηγική j δηλαδή είναι $N_j(t)$ και $1 - N_j(t)$ είναι ο πληθυσμός που επιλέγει τη στρατηγική k . Ορίζουμε ως όφελος ή αμοιβή το βαθμό προσαρμογής στο περιβάλλον και το υπολογίζουμε ως τον αριθμό νέων κυττάρων ανά μονάδα χρόνου. Οπότε ισχύει:

$$\frac{dN_j(t)}{dt} = N_j(t)p_{jk}, \text{ Εξίσωση 25.}$$

Τα πράγματα γίνονται πιο ενδιαφέροντα όταν παρατηρήσουμε ότι η παραπάνω συνάρτηση προσομοιάζει μια τροποποιημένη μορφή της συνάρτησης *Lotka-Volterra*, την οποία έχουμε αναφέρει και αναλύσει σε προηγούμενες αναφορές μας (77, 90).

4.5.3 Κβαντική Βιολογία και Θερμοδυναμικές ιδιότητες του Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού

Τι σχέση μπορεί να έχει ο παράξενος κόσμος των κβάντων με τον αόρατο μικρόκοσμο της έμβιας ύλης; Πώς τιθασει η ζωή τις δυνάμεις του Χάους, καθώς γεννιέται και πεθαίνει στην κόψη κλασικού και κβαντικού κόσμου; Την τελευταία δεκαετία, πολλοί επιστήμονες αναζητούν τις σχέσεις του κβαντικού κόσμου με τις διεργασίες των ενζύμων, της φωτοσύνθεσης, με τα γονίδια και τη δομή του DNA και προσεγγίζουν την κβαντική θεωρία των αισθήσεων (π.χ. όσφρησης). Συγκεκριμένα οι *Jim Al-Khalili* (Καθηγητής Κβαντικής Φυσικής στο Πανεπιστήμιο του Σάρεϊ) και *Johnjoe McFadden* (Καθηγητής Μοριακής Γενετικής στο Πανεπιστήμιο του Σάρεϊ) υποστηρίζουν: «ένα τουλάχιστον από τα πιο άγνωστα κομμάτια του παζλ της ζωής βρίσκεται στον κόσμο της κβαντικής μηχανικής, όπου τα πράγματα μπορούν να βρίσκονται σε δύο θέσεις ταυτοχρόνως (κβαντική υπέρθεση), να αλληλεπιδρούν με απόκοσμες συνδέσεις (κβαντική διεμπλοκή) και να διαπερνούν φαινομενικώς αδιαπέραστους φραγμούς (κβαντικό φαινόμενο σήραγγας, π.χ. πυρήνας υδρογόνου στο εσωτερικό του Ήλιου). Η ζωή φαίνεται να έχει το ένα πόδι της στον κλασικό κόσμο των καθημερινών αντικειμένων και το άλλο ριζωμένο στα αλλόκοτα βάθη του κβαντικού κόσμου. Η ζωή, θα υποστηρίξουμε, ζει στην κβαντική μεθόριο» (71, 74).

Επιπρόσθετα, λόγος γίνεται για τη συσχέτιση της θερμοδυναμικής με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και κατά συνέπεια την πολλαπλασιαστική δυναμική. Όπως είναι γνωστό, τα βιολογικά συστήματα ανταγωνίζονται για τους πόρους, ειδικά τους ενεργειακούς. Επίσης είναι γνωστό ότι τα βιολογικά συστήματα είναι ανοικτά, δηλαδή ανταλλάσσουν ενέργεια και μάζα με το περιβάλλον τους. Ένα άλλο δεδομένο που γνωρίζουμε σίγουρα είναι ότι λειτουργούν εκτός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Για να το θέσουμε πολύ απλά, τα κύτταρα των ευκαρυωτικών οργανισμών λειτουργούν σε μια θερμοκρασία υψηλότερη του περιβάλλοντος αλλά πολλές φορές και πολύ χαμηλότερη αυτού. Στις δύο περιπτώσεις αυτές υπάρχει ο τρόπος τα κύτταρα να διατηρούν σταθερή τη θερμοκρασία του σώματος και να μην ισορροπούν με το περιβάλλον τους. Αυτό είναι ένα παράδειγμα λειτουργίας εκτός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Ένα άλλο παράδειγμα είναι η λειτουργία των ενζύμων που υποβοηθούν αντιδράσεις, ως καταλύτες, που δεν θα ήταν δυνατό να λάβουν χώρα σε κάθε

άλλη περίπτωση. Άρα, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα βιολογικά συστήματα έχουν τρεις ιδιότητες: ανταλλάσσουν ενέργεια και μάζα με το περιβάλλον τους, ανταγωνίζονται για αυτά και ως εκ τούτου πολλαπλασιάζονται και μάλιστα όχι ατάκτως αλλά συντονισμένα.

ΜΕΡΟΣ ΙΙ-ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

5. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ *IN VITRO* ΣΥΝΘΗΚΕΣ

5.1. Η ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ CCRF-CEM

Η καλλιέργεια κυττάρων σε *in vitro* συνθήκες αποσκοπεί να προσομοιώσει το περιβάλλον των κυττάρων *in vivo* στο μέγιστο δυνατό βαθμό. Η διαδικασία της καλλιέργειας των κυττάρων έχει περιγραφεί προηγουμένως με λεπτομέρεια από τον *Lambrou et al* (2013), την οποία παραθέτουμε συνοπτικά παρακάτω (1). Το βασικότερο θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται είναι το ανόργανο υπόστρωμα, αποτελούμενο από ρυθμιστικά διαλύματα, ανόργανα άλατα και νερό. Το ανόργανο υπόστρωμα των καλλιεργητικών υλικών περιλαμβάνει συνήθως ανόργανα άλατα, υδατάνθρακες, αμινοξέα, βιταμίνες, λιπίδια και πρωτεΐνες. Το βασικότερο, ίσως, συστατικό των κυτταροκαλλιεργικών αποτελεί (υγρό υλικό καλλιέργειας) ο *εμβρυϊκός ορός* (*Fetal Serum*). Οι εμβρυϊκοί οροί μπορεί να προέρχονται από διαφορετικά είδη ζώων όπως βους (FBS), χοίρος (FPS) ή άλογο (FHS).

Βασικό συστατικό των υγρών υλικών καλλιέργειας είναι η δυνατότητα να ρυθμίζουν το pH του συστήματος. Τα επιτρεπτά όρια για το pH κυμαίνονται μεταξύ *pH 7.2 και 7.4*. Στη ρύθμιση του pH συμμετέχουν δύο μηχανισμοί: η συγκέντρωση CO_2 που είναι ένας εξωγενής παράγοντας ο οποίος παρέχεται από τον κλίβανο καλλιέργειας (συνήθως στα επίπεδα του 5%) και ενδογενής παράγοντας που ρυθμίζεται από χημικά στο καλλιεργητικό υπόστρωμα όπως είναι το *HEPES* ($C_8H_{18}N_2O_4S$).

Οι υδατάνθρακες αποτελούν την κυριότερη μορφή τροφής για τα κύτταρα. Οι δύο βασικότεροι υδατάνθρακες είναι τα σάκχαρα και πιο συγκεκριμένα η γλυκόζη (*glucose*) και η γαλακτόζη (*galactose*), ενώ πολλά καλλιεργητικά υλικά περιέχουν μαλτόζη (*maltose*) ή φρουκτόζη (*fructose*).

Δύο ακόμη βασικά συστατικά του κυτταρικού περιβάλλοντος είναι η γλουταμίνη (*L-Glutamine*) και οι αντιμικροβιακές προληπτικές προσθήκες. Για την αντι-βακτηριδιακή προστασία και την αντι-μυκητιασική προστασία χρησιμοποιήθηκαν η καναμυκίνη (*kanamycin*), η στρεπτομυκίνη και η πενικιλίνη (*streptomycin/penicillin*) για τα βακτήρια και η αμφοτερικίνη (*amphotericin*) για τους μύκητες. Τα κύτταρα CCRF-CEM (*εκφράζει τα αντιγόνα $CD4^+$ (43) και $CD34^+$ (44)*. Αρχικά είχε απομονωθεί από ένα καυκάσιο κορίτσι δύο ετών με καρύτυπο 46, XX. Η αρχική διάγνωση ήταν λεμφοσάρκωμα, το οποίο εξελίχθηκε αργότερα σε οξεία λευχαιμία (45)) αναπτύχθηκαν σε υλικό RPMI-1640, ενισχυμένο με 2mM-Glutamine, Streptomycin 100μg/ml και Penicillin 100 U/ml (Gibco), 10% FBS

(Gibco) στους 37 °C, 5% CO₂ και 100% υγρασία. Για τις πειραματικές ανάγκες όλα τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε φλάσκες επιφάνειας 25cm² και 75cm². Γινόταν ανανέωση του μέσου καλλιέργειας ανά 3 μέρες, ή σε κάθε άλλη περίπτωση η ανανέωση εξαρτάτο από τις απαιτήσεις της πειραματικής διαδικασίας. Τα κύτταρα αφήνονταν να μεγαλώσουν από την αρχική συγκέντρωση των 2×10⁴ cells/ul και ~2.09×10²cells/ul, για τα πειράματα πολλαπλασιαστικής δυναμικής (1, 22).

5.2. ΑΠΟΨΥΞΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΑ ΦΥΛΑΞΗ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΥΓΡΟΥ ΑΖΩΤΟΥ

Αρχικά, τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν θα είναι τα εξής: υδατόλουτρο προθερμασμένο στους 37°C, κλίβανος επώασης, καλλιεργητικό θρεπτικό υλικό RPMI-1640 με 15% FBS και αντιβιοτικά, φλάσκες καλλιέργειας 75cm². Όλη η διαδικασία γίνεται με γάντια τα οποία συχνά σκουπίζονται με οινόπνευμα για να επιτευχθεί μέγιστη αποστείρωση. Όλες οι διατάξεις με κύτταρα πρέπει να γίνονται σε θάλαμο νηματικής ροής για την αποφυγή μολύνσεων. Προετοιμάζονται μια ή δύο φλάσκες των 75cm² αναλόγως με το πόσα σωληνάρια βαθειάς κατάψυξης θα αποψυχθούν. Γεμίζονται οι φλάσκες με 45-50ml θρεπτικού υλικού (το *max* που μπορεί να πάρει μια φλάσκα σε οριζόντια διάταξη) και ο λόγος είναι ώστε να επιτευχθεί μια συγκέντρωση DMSO μετά την απόψυξη <0.2% κ.ο (το DMSO θεωρείται τοξικό για τα κύτταρα σε συγκεντρώσεις >0.2% κ.ο). Οι φλάσκες προθερμαίνονται τουλάχιστον 1h πριν την όλη διαδικασία στον επωαστικό κλίβανο, ώστε να φτάσουν στους 37°C και να υπάρχει κορεσμός του θρεπτικού με CO₂. Η διαδικασία απόψυξης γίνεται ταχύτατα και είναι σκόπιμο το δοχείο του υγρού αζώτου να είναι κοντά στο υδατόλουτρο. Επίσης ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται αφού το υγρό άζωτο μπορεί να προκαλέσει πολύ σοβαρά εγκαύματα για αυτό και όλη η διαδικασία γίνεται με ειδικά θερμομονωτικά γάντια. Λαμβάνονται τα κύτταρα από το υγρό άζωτο και όσο γρηγορότερα γίνεται τοποθετείται το σωληνάριο βαθειάς κατάψυξης στο προθερμασμένο υδατόλουτρο στους 37°C. Καθ' όλη τη διάρκεια στο υδατόλουτρο ανακινείται ελαφρά το σωληνάριο με τρόπο ώστε να μην μπει μέχρι το βιδωτό πώμα μέσα στο νερό αλλά μόνο το πλαστικό μέρος κάτω από αυτό. Ο λόγος είναι ότι η παραμονή στο υγρό άζωτο αλλάζει τις ιδιότητες των υλικών με αποτέλεσμα, τα πρώτα λεπτά απόψυξης να μην είναι στεγανό το πώμα του σωληναρίου. Μόλις ξεπαγώσουν τα κύτταρα, φέρνονται στο θάλαμο νηματικής ροής, όπου σκουπίζεται σχολαστικά το εξωτερικό μέρος με διάλυμα αιθανόλης 75% για αποφυγή μολύνσεων από το υδατόλουτρο. Γίνεται ελαφριά ανακίνηση και ανάδευση με πιπέττα τύπου Gilson 1ml. Τοποθετείται το περιεχόμενο του σωληναρίου στην προθερμασμένη φλάσκα στον επωαστικό κλίβανο. Αφήνονται τα κύτταρα να ξεπεράσουν το στρες της

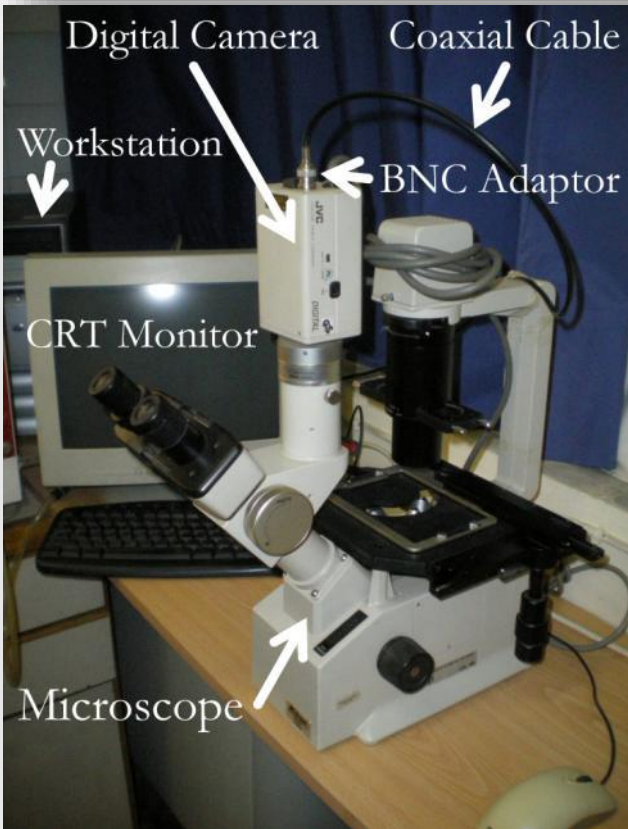
απόψυξης για ένα βράδυ και την επομένη μπορούν να μετρηθούν για τη βιωσιμότητά τους. Αφού μπουν τα κύτταρα στη φλάσκα, μπορεί να ελεγχθεί κάτω από ένα ανάστροφο μικροσκόπιο η πυκνότητά τους και, ως ένα βαθμό, η βιωσιμότητά τους (1).

6. ΟΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

6.1. ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΜΕΤΡΙΑ

Στα περισσότερα κυτταρικά συστήματα απαιτείται η μικροσκοπική παρακολούθησή τους και η καταγραφή τους κατά τις φάσεις της καλλιέργειας. Χρησιμοποιείται ένα σύστημα μικροσκοπίας όχι μόνο για την παρατήρηση αλλά και για τη λήψη εικόνας ή βίντεο κατά τη διάρκεια των πειραματικών διατάξεων. Ο Γ. Λάμπρου και η ομάδα του κατασκεύασαν ένα τέτοιο σύστημα και το συνέδεσαν με μία υπολογιστική μονάδα ώστε να είναι δυνατή η λήψη εικόνων. Το σύστημα αυτό αποτελείται από το μικροσκόπιο, ένα *Nikon TMS* ανάστροφης φάσης που διέθετε και πυκνωτή και τρεις φακούς $\times 10$, $\times 20$ και $\times 40$, μια κάμερα CCTV τύπου *JVC Digital Camera TK-421C-EG*, μια υπολογιστική μονάδα HP με επεξεργαστή *Intel Celeron* και μνήμη *RAM 256MB* (Εικόνα 33). Η σύνδεση μεταξύ της κάμερας και του υπολογιστή επετεύχθη με τη χρήση μιας κάρτας τηλεόρασης τύπου *WinTV PVR-250* του γαλλικού οίκου *Hauppage*. Η σύνδεση έγινε με ομοαξονικό καλώδιο προσαρμογέα τύπου *BNC* και προσαρμογέα τύπου *composite* για τη σύνδεση με την κάρτα εικόνας. Η διάταξη της συνδεσμολογίας παρουσιάζεται στις κάτωθι εικόνες. Χρησιμοποιήθηκε και η τεχνική της χρώσης των κυττάρων με τη χρωστική *Giemsa*, κατά την παρακολούθηση των κυττάρων μικροσκοπικά, με σκοπό την ανεύρεση περαιτέρω μορφολογικών χαρακτηριστικών ιδιαίτερα κατά τις τελευταίες φάσεις της πειραματικής διαδικασίας. Στην Εικόνα 34, παρουσιάζεται η μορφολογία των κυττάρων αυτών (1).

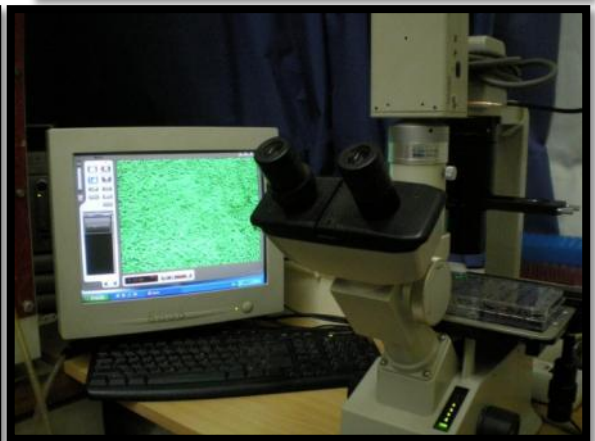
Για τη μέτρηση των κυττάρων, τουλάχιστον στο βαθμό του εφικτού, χρησιμοποιείται το μικρόμετρο μικροσκοπίας (Εικόνα 35). Το μικρόμετρο αυτό συναντάται σε μορφή αντικειμενοφόρου πλάκας και έχει χαραγμένο στο κέντρο της κλίμακα *1mm* σε διαβάθμιση *0.01mm* ήτοι *100μm*. Η μέθοδος που ακολουθείται για τη μέτρηση και τοποθέτηση των κυττάρων σε κλίμακα ήταν η εξής: Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται έχει εύρος πεδίο *1mm* σε μεγέθυνση $100\times$. Έτσι, λαμβάνεται πρώτα η εικόνα του μικρόμετρου και τροποποιείται σε εικόνα διαστάσεων 20×24 (πλάτος \times μήκος). Από την εικόνα που προκύπτει δημιουργούνται δύο εικονικές κλίμακες, μια *1mm* και μια *100μm*, όπως φαίνεται στην Εικόνα 35. Κατόπιν όσες μικροσκοπικές λήψεις πραγματοποιούνται τροποποιούνται ακριβώς στις ίδιες διαστάσεις ώστε να υπάρχει συγκρισιμότητα μεταξύ της εικόνας και της κλίμακας. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατό να έχουμε μια ένδειξη του κυτταρικού μεγέθους κατά τις πειραματικές διατάξεις (1).



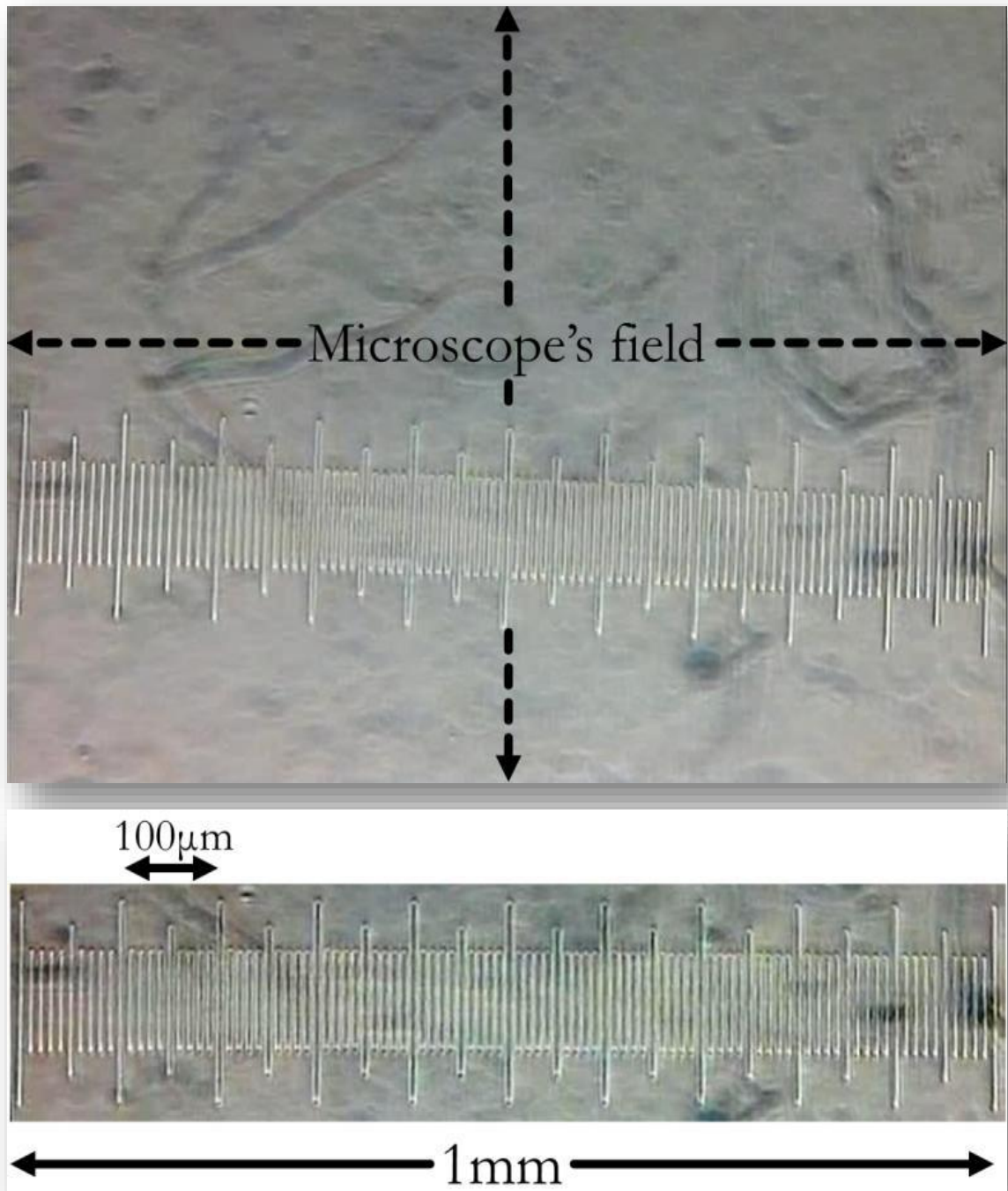
Εικόνα 33. Πανοραμική διάταξη του συστήματος μικροσκοπίας και ανάλυσης εικόνας (**A**) και επεξηγηματική παρουσίαση (**B**) (1).



Εικόνα 33 (συνέχεια). Το σύστημα μικροσκοπίας και ανάλυσης εικόνας σε λειτουργία.



Εικόνα 34. Η μορφολογία των κυττάρων *CCRF-CEM*. Η λήψη έγινε με ανάστροφο μικροσκόπιο και αντιστροφή φάσης και φίλτρο πολωμένου φωτός (μεγέθυνση $\times 100$) (1).



Εικόνα 35. Μικρόμετρο Nikon τύπου MBM 11100 (stage micrometer type A), συνολικού μήκους 1mm και διαβάθμιση 0.01mm (=100 μ m). Παρουσιάζονται, το συνολικό οπτικό πεδίο του μικροσκοπίου σε μεγέθυνση $\times 100$ συμπεριλαμβανομένης της κλίμακας (**A**) και η κλίμακα με διόρθωση γωνίας 1° μοίρας (**B**) (1).

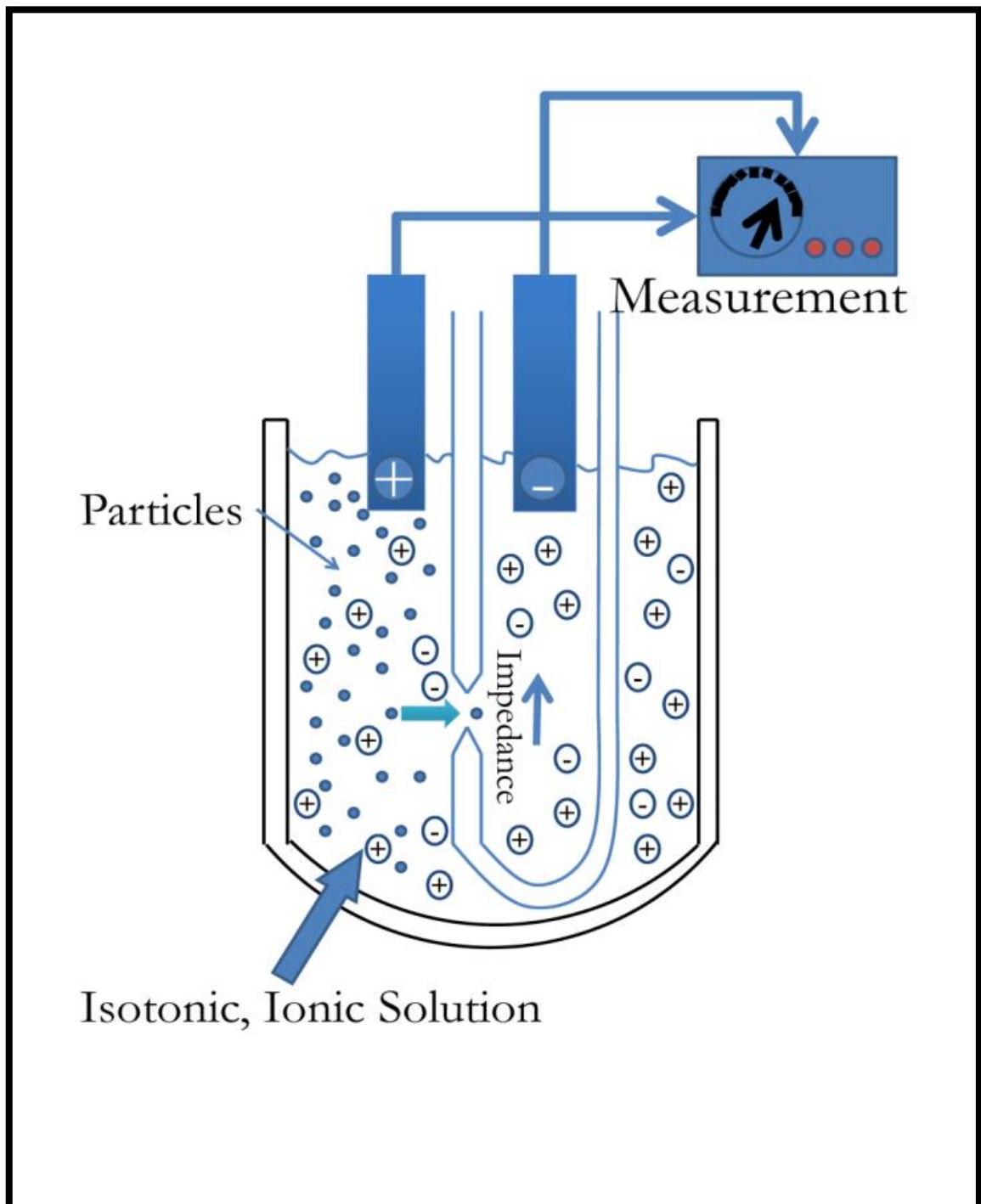
6.2. ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ *COULTER*

Για τη μέτρηση κυτταρικών πληθυσμών τόσο επικολλώμενων όσο και σε εναιώρημα, υπάρχουν τρεις επικρατούσες μέθοδοι. Η πρώτη είναι μέτρηση του αριθμού των κυττάρων με πλάκα *Neubauer*. Η δεύτερη μέθοδος είναι η μέτρηση πληθυσμών με τη μέθοδο *Coulter*. Η τρίτη μέθοδος αφορούσε στη χρήση χρωστικών για τη μέτρηση του πληθυσμού με φωταύγεια.

Η μέθοδος *Coulter*, αποτέλεσε μια επανάσταση στον τρόπο μέτρησης κυττάρων και σωματιδίων σε ένα διάλυμα. Η αναφορά γίνεται για τον *Wallace Coulter*, μηχανικό από τις Ηνωμένες Πολιτείες, ο οποίος στο υπόγειο του σπιτιού του, μαζί με τον αδερφό του *Joseph*, ανέπτυξε τη θεωρία για την μεταβολή του ηλεκτρικού πεδίου λόγω της διέλευσης σωματιδίων. Η αρχή και η πρώτη συσκευή αναπτύχθηκαν στα έτη 1947-49. Ειδικά στον τομέα της αιματολογίας η ανακάλυψη αυτή αποτέλεσε σημείο αναφοράς (91). Ο λόγος ήταν ότι μέχρι τότε η μέτρηση κυττάρων γινόταν οπτικά με τη βοήθεια μικροσκοπίου, π.χ. με τη χρήση πλάκας *Neubauer*, και χρειαζόταν περίπου μισή ώρα για μια τέτοια μέτρηση, όταν ο πρώτος αναλυτής έκανε το ίδιο σε λιγότερο από δέκα λεπτά. Η βασική ιδέα ήταν ότι όταν ένα σωματίο περάσει μέσα από ένα ηλεκτρικό πεδίο τότε η εμπέδηση (Z) αλλάζει και μάλιστα κατά τέτοιο τρόπο που είναι ανάλογη του μεγέθους του σωματίου (1).

Κατά τη μεθόδου *Coulter* τα κύτταρα βρίσκονται σε ισότονο, ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Η οπή που σχηματίζεται αποτελεί το σημείο εισόδου στο ηλεκτρικό πεδίο. Όταν περνάει ένα κύτταρο, μετατοπίζει το διάλυμα και αλλάζει την εμπέδηση του ηλεκτρικού πεδίου στο σημείο εισόδου. Η διαφορά στην εμπέδηση είναι μετρήσιμη και είναι ανάλογη του μεγέθους του κυττάρου. Μάλιστα κατά αυτόν τον τρόπο είναι εφικτό να διαχωριστούν και άλλοι υποπληθυσμοί μέσα στο ίδιο εναιώρημα. Επίσης ο αριθμός των «χτυπημάτων» (*hits*) του ρυθμού που θα διέρχονται κύτταρα μέσα από την οπή είναι ανάλογος του αριθμού των κυττάρων. Αν είναι γνωστό πόσος όγκος εναιωρήματος πέρασε, τότε είναι δυνατή η μέτρηση του αριθμού των κυττάρων ανά μονάδα όγκου. Η αρχή της μεθόδου αυτής παρουσιάζεται στην **Εικόνα 36** παρακάτω. Για τις μετρήσεις με τον αιματολογικό/*Coulter* αναλυτή στην περίπτωση των κυττάρων σε εναιώρημα 200ul, χρειαζόμαστε τα εξής υλικά: μετρητής *Coulter* (χρησιμοποιήθηκε η συσκευή *CellTaq A* του οίκου *Nihon Kohden* Ιαπωνίας), Eppendorf 1.5ml και μια πιπέττα 200ul. Από μια φλάσκα με κυτταρικό εναιώρημα αφαιρούνται 200ul εναιωρήματος. Έπειτα τοποθετείται το Eppendorf στο μετρητή *Coulter* και γίνεται η μέτρηση (τα κύτταρα από την πειραματική διάταξη

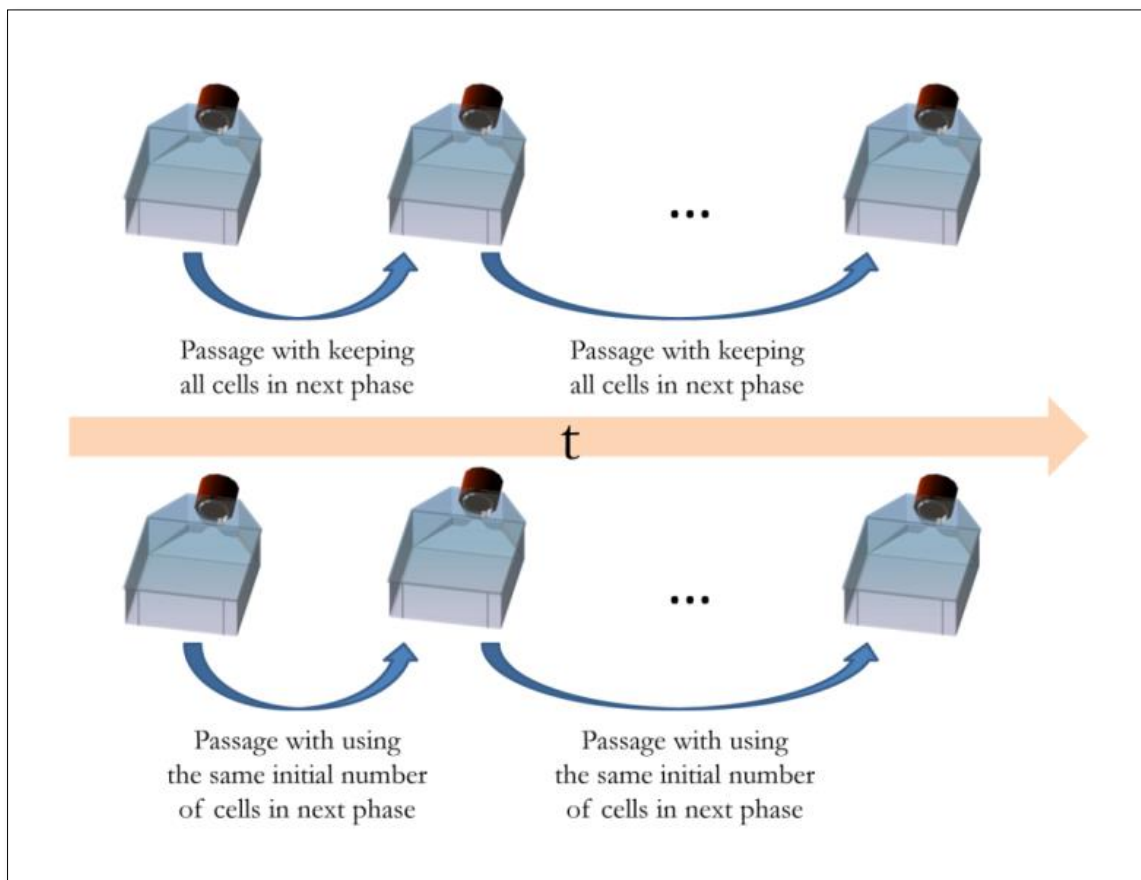
τοποθετούνται κατευθείαν στον αναλυτή προς μέτρηση). Τα αποτελέσματα καταγράφονται χειρόγραφα είτε ηλεκτρονικά μέσω συστήματος και λογισμικού καταγραφής των αποτελεσμάτων. Η καταγραφή των πληθυσμών γίνεται ανά τα στάδια της μετάβασης στο μοντέλο προσομοίωσης της αύξησης της νεοπλασίας (1).



Εικόνα 36. Η αρχή της μεθόδου *Coulter*, για τη μέτρηση κυττάρων (1).

7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ (TIME SERIES EXPERIMENTS)

Τα πειράματα χρονοσειρών είναι αυτό που ακριβώς υποδηλώνει η ονομασία τους. Αφορούν στη μέτρηση παραμέτρων συναρτήσεως του χρόνου. Στην περίπτωση αυτής της εργασίας οι μετρήσεις αφορούσαν στον κυτταρικό πληθυσμό. Στην περίπτωση των κυττάρων σε εναιώρημα (*CCRFCEM*) έγιναν δύο κατηγορίες πειραμάτων. Στην πρώτη κατηγορία τα κύτταρα αφέθηκαν να αυξηθούν σε φλάσκες των 25cm² και 75cm² και δείγμα λαμβανόταν καθημερινά, το οποίο χρησιμοποιείται για μέτρηση του πληθυσμού με τη μέθοδο *Coulter*. Το θρεπτικό υλικό αλλάζόταν σε 3-ήμερη ή πενήμερη βάση και μετά την επαναδιάλυση όλος ο αριθμός των κυττάρων χρησιμοποιείται στην επόμενη φάση (μετά την αλλαγή θρεπτικού υλικού). Στη δεύτερη κατηγορία τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν με παρόμοιο τρόπο όπως και προηγουμένως με τη διαφορά ότι σε κάθε αλλαγή φάσης τοποθετείτο στη φλάσκα ο πρώτος, αρχικός αριθμός κυττάρων. Οι αλλαγές φάσεων γινόντουσαν ανά τρεις, πέντε και επτά ημέρες. Η πειραματική διάταξη παρουσιάζεται διαγραμματικά στην **Εικόνα 37** (1).



Εικόνα 37. Διαγραμματική παρουσίαση της πειραματικής διάταξης των χρονοσειρών για κύτταρα σε εναιώρημα (1).

8. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Έγινε προσπάθεια προσομοίωσης των δεδομένων και εφαρμογής τους πάνω σε ένα γενικότερο πλαίσιο μαθηματικής διατύπωσης. Τα δεδομένα ταξινομήθηκαν με το πρόγραμμα Microsoft Excel® (Microsoft Corporation). Στο **Μέρος III–Αποτελέσματα** παρατίθενται διαγράμματα χρονοσειρών, στα οποία σκιαγραφείται η εξέλιξη διάφορων χρήσιμων μεγεθών στο διακριτό χρόνο. Μελετάται η χρονοσειρά του πλήθους των κυττάρων στη φλάσκα (μεταβαλλόμενος όγκος), της συγκέντρωσης αυτών (ανά μικρόλιτρο μέσου) αλλά και του πλήθους των κυττάρων σε κοινό όγκο μέσου (*αναγωγή στα 25 ή 50 ml*). Επιπρόσθετα, μετασχηματίστηκαν οι ανωτέρω χρονοσειρές στον χώρο φάσεων με σκοπό να παρατηρήσουμε τροχιές στο Phase Space ή αποτυπώσεις Πουανκαρέ των τροχιών αυτών που υπαινίσσονται μη-γραμμικές δυναμικές συμπεριφορές. Τέλος, υπολογίζονται οι δείκτες Lyapunov για να συμπεράνουμε αν η μεταβολή των αρχικών συνθηκών αυξάνει εκθετικά τη μεταβολή της εξόδου-αποτελέσματος, ώστε το σύστημα μας να διαθέτει χαοτικά χαρακτηριστικά. Όλες οι αναλύσεις και διαγράμματα-εικόνες έγιναν με το υπολογιστικό περιβάλλον MATLAB (The Mathworks Inc. Natick MA) με τη δημιουργία κώδικα.

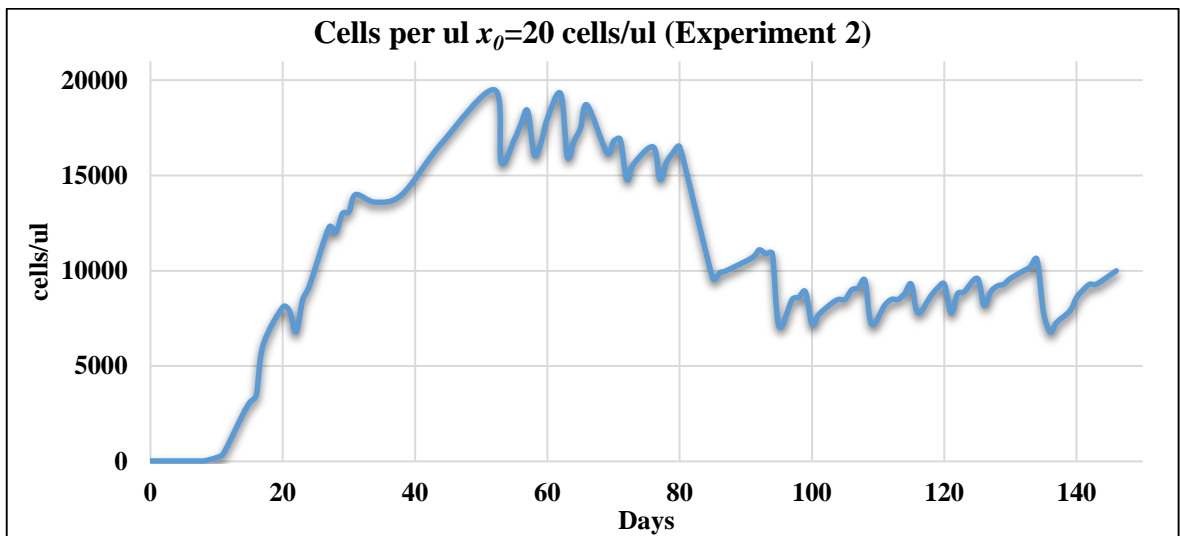
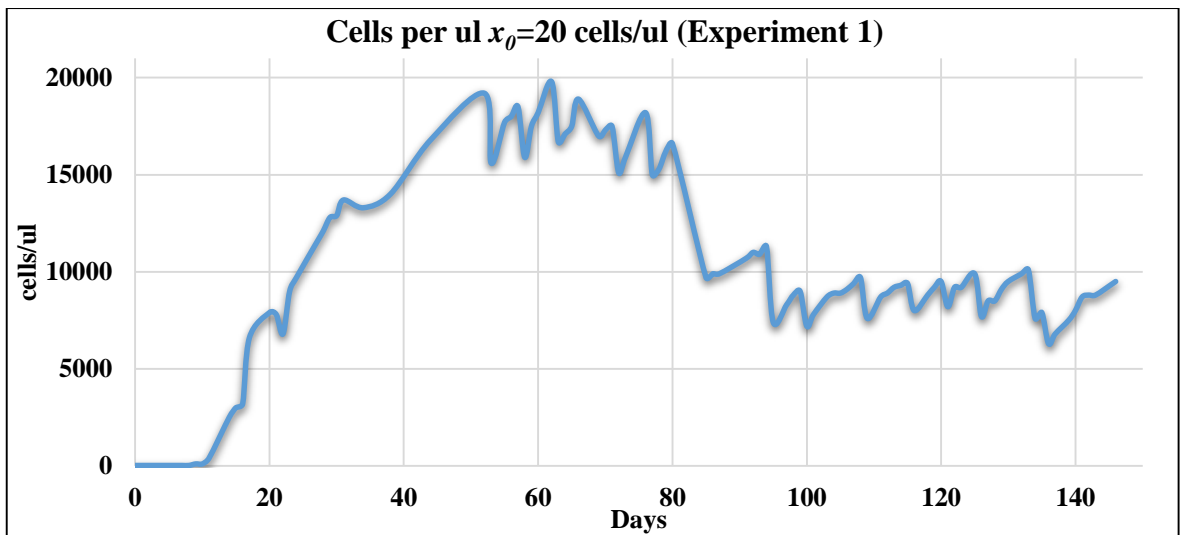
ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

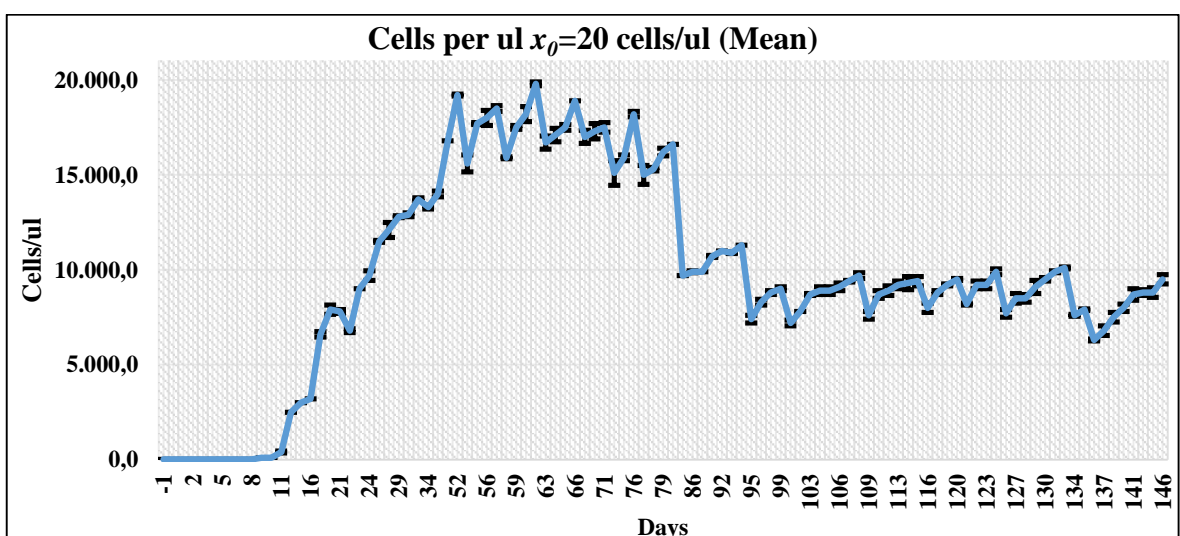
Το πρώτο βήμα στην περιγραφή των δεδομένων αποτέλεσε η αναπαράστασή τους ως χρονοσειρές, οι οποίες παρατηρούμε ότι διέπονται από απεριοδικές ταλαντώσεις. Ειδικότερα, αναπαριστάνουμε τον κυτταρικό πληθυσμό ως προς τη συγκέντρωση των κυττάρων ανά μικρόλιτρο (ul). Στην **Εικόνα 38**, παρουσιάζονται δύο ενδεικτικά πειράματα χρονοσειράς κυττάρων *CCRFCEM*, τα οποία ξεκίνησαν από αρχική συγκέντρωση 20 cells/ul. Τα δύο πειράματα ήταν εξαιρετικά πλησίον το ένα του άλλου, γεγονός που υποδείκνυε ότι υπήρχε εξαιρετική επαναληψιμότητα στις πειραματικές διατάξεις. Αντίστοιχα, στην **Εικόνα 39** παρουσιάζεται η μέση τιμή των δύο πειραμάτων με τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις.

Κατά αντιστοιχία, έγιναν μετρήσεις σε πειραματική διάταξη κυττάρων, με αρχικό αριθμό ~200cells/ul, το οποίο παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα (**Εικόνα 40**). Έχει ενδιαφέρον να σημειώσουμε ότι και στην πειραματική, αυτή, διάταξη ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός παρουσίασε παρόμοια δυναμική, όπως και στην περίπτωση των 20 κυττάρων αρχικού πληθυσμού, κάτι που αποτέλεσε το πρώτο έναυσμα για τη διερεύνηση της δυναμικής του συστήματος. Όπως και στην περίπτωση του πειράματος με αρχικό αριθμό κυττάρων 20cells/ul, έτσι και στο πείραμα με αρχικό αριθμό κυττάρων ~200cells/ul αναπαριστήσαμε τη μέση τιμή των ενδεικτικών πειραμάτων με τις αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις (**Εικόνα 41**). Στο πείραμα αυτό, όπως και στο προηγούμενο μια σημαντική παρατήρηση ήταν το γεγονός ότι παρά τη διαφορά στον αρχικό αριθμό των κυττάρων, η συγκέντρωση των κυττάρων και στα δύο είδη χρονοσειρών παρέμεινε παρόμοια.

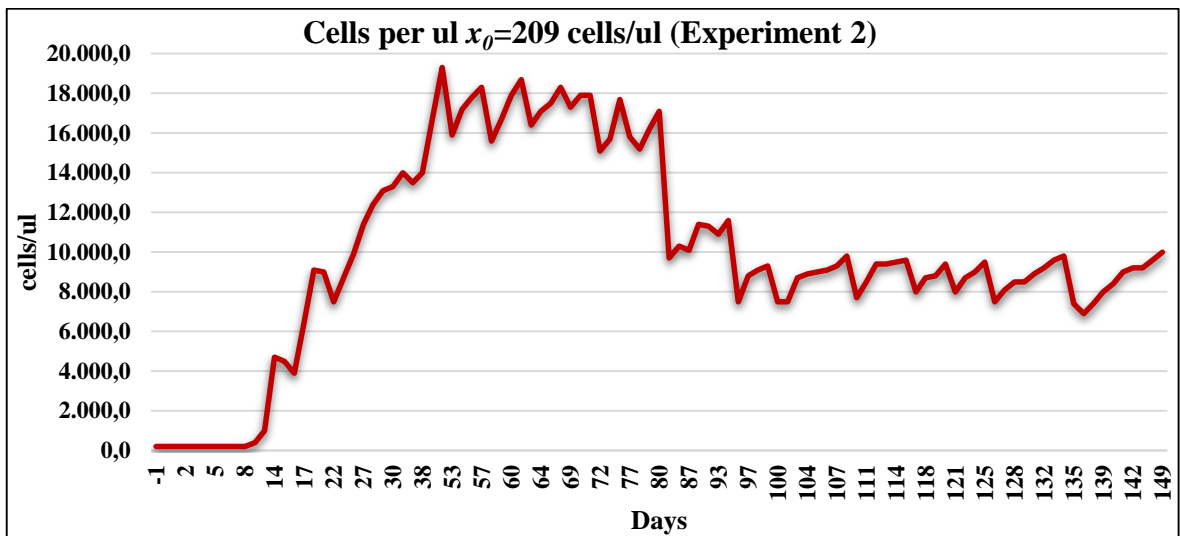
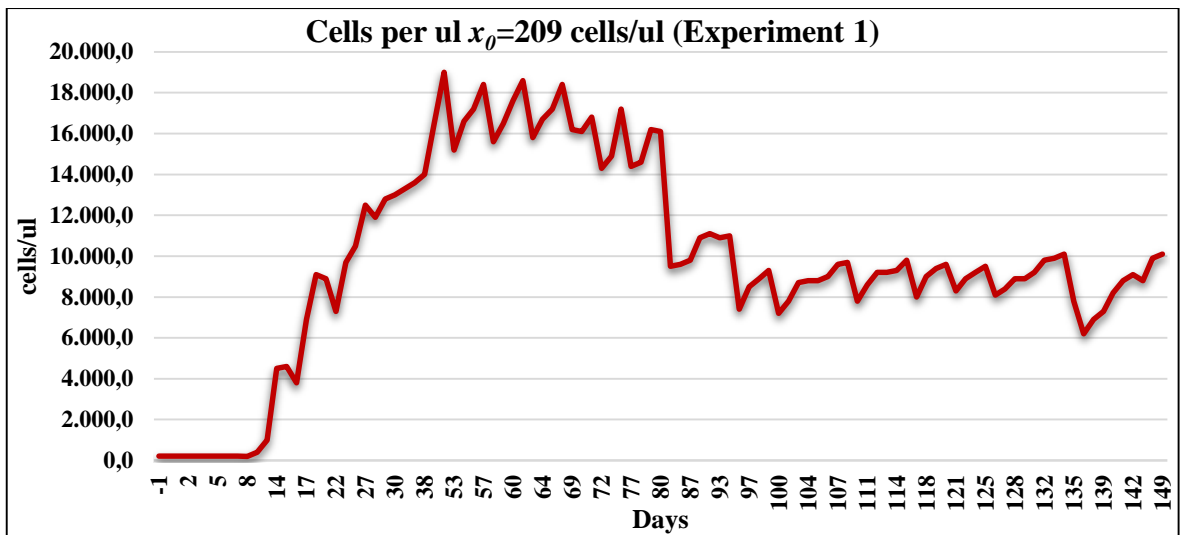
Τα αποτυπωμένα διαγράμματα των μέσων τιμών αποτελούν τον υπολογισμό πολλών πειραμάτων, όπως σε μερικές περιπτώσεις τα πειράματα επανελήφθησαν περισσότερες από τέσσερις φορές, ώστε να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματά μας.



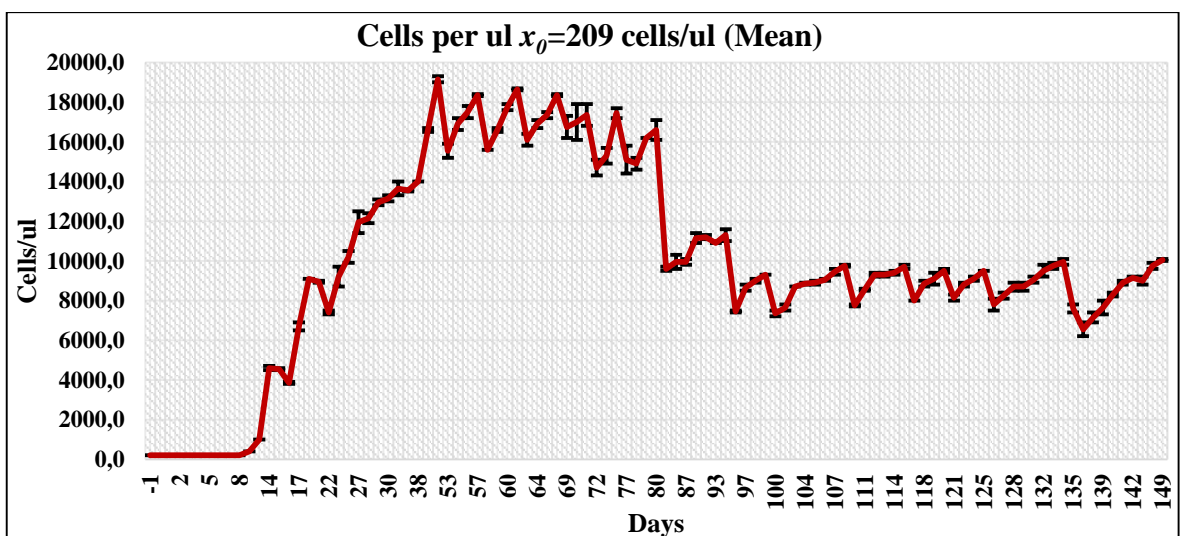
Εικόνα 38. Ενδεικτικά πειράματα χρονοσειρών με κύτταρα CCRFCEM, από αρχική συγκέντρωση 20cells/ul. Παρουσιάζονται δύο πειράματα (Experiment 1, επάνω και Experiment 2, κάτω).



Εικόνα 39. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).



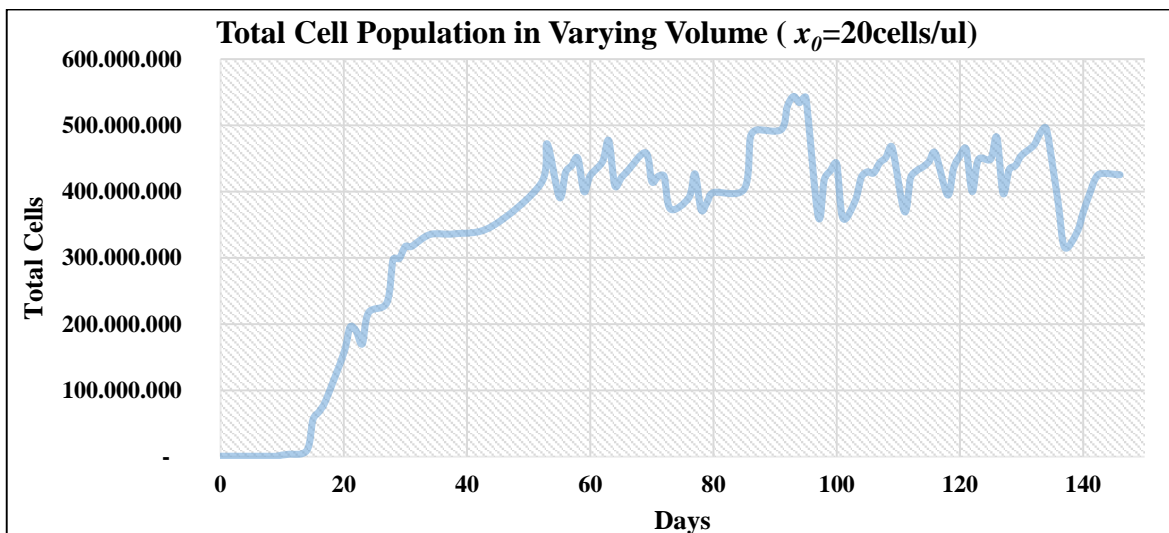
Εικόνα 40. Ενδεικτικά πειράματα χρονοσειρών με κύτταρα CCRFCEM, από αρχική συγκέντρωση 209cells/ul. Παρουσιάζονται δύο πειράματα (Experiment 1, επάνω και Experiment 2, κάτω).



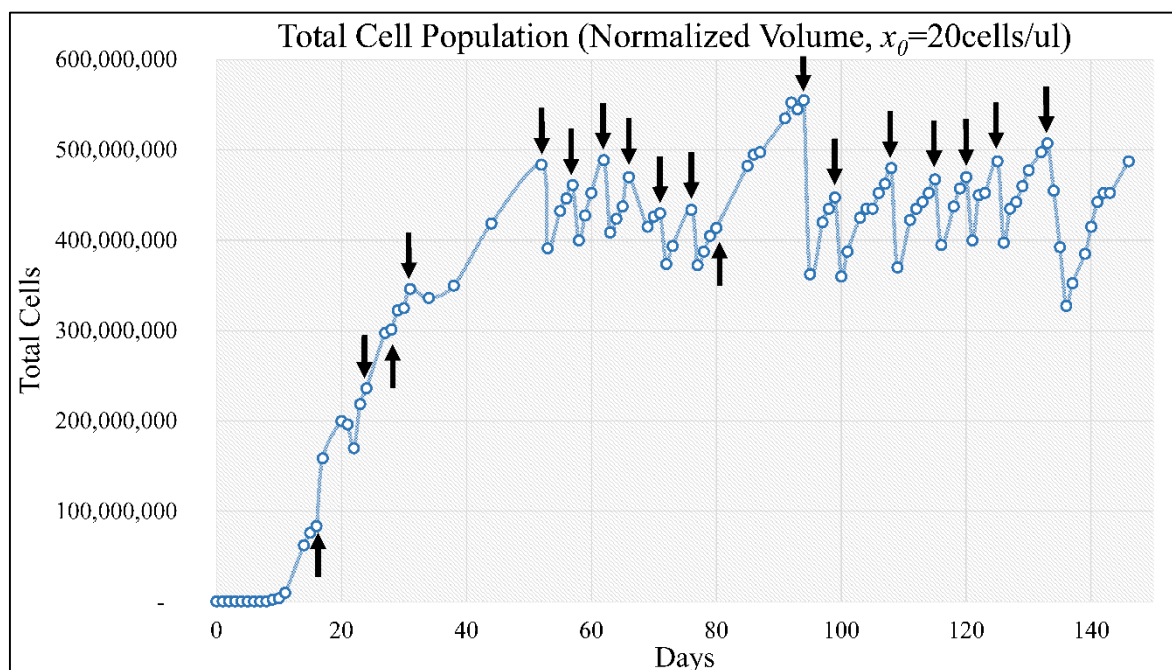
Εικόνα 41. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).

10. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΩΝ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

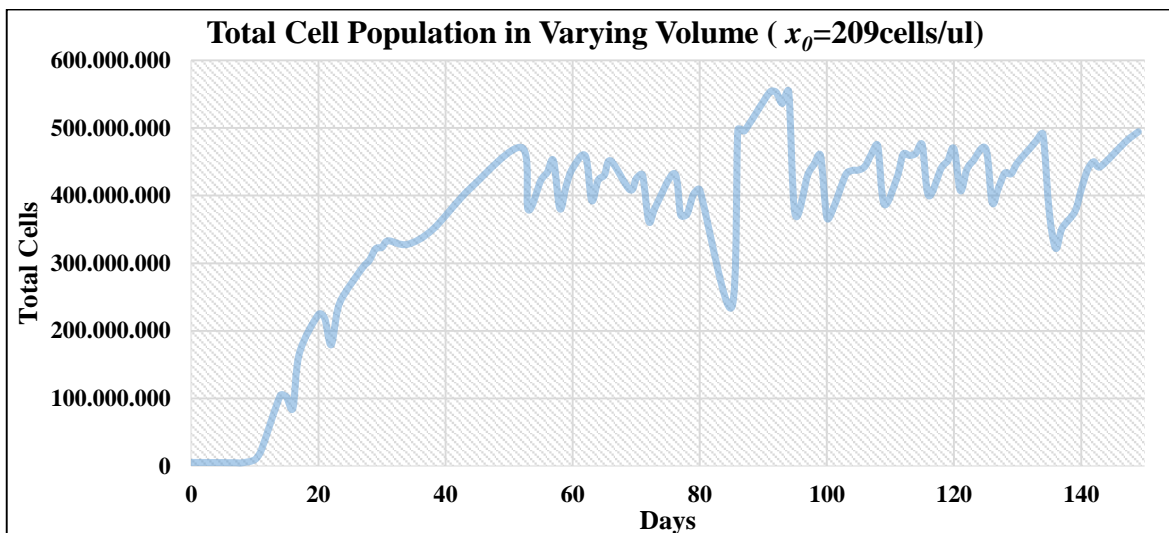
Η παρούσα πειραματική διάταξη είχε πολλαπλούς στόχους και ένας από αυτούς ήταν να προσομοιώσει τόσο τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και να προσομοιώσει τις *in vivo* συνθήκες, όπου ο κυτταρικός πληθυσμός συνεχίζει να αυξάνεται μέσω της συνεχούς παροχής πόρων, ήτοι ενέργεια και χώρος. Για το λόγο αυτό, μελετήσαμε και την ανάπτυξη των κυττάρων ως προς το συνολικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις λάμβαναν χώρα με την αφαίρεση μικρού όγκου θρεπτικού υλικού, τόσο όσο δεν θα επηρέαζε τη συμπεριφορά του συστήματος (100-200ul), και της κατόπιν μέτρησής του. Η αφαίρεση υλικού δεν ήταν σημαντική ανά μέτρηση αλλά σε βάθος χρόνου αφαιρούντο σημαντικά τμήματα του συνολικού θρεπτικού υλικού. Για το λόγο αυτό ανά συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα προσετίθετο θρεπτικό υλικό για να συμπληρώσει τις απώλειες. Πέραν τούτου, τα βιολογικά συστήματα έχουν την ιδιότητα ότι είναι ανοικτά συστήματα, ήτοι ανταλλάσσουν ενέργεια και μάζα με το περιβάλλον. Επίσης, ένα βασικό παραπροϊόν του κυτταρικού μεταβολισμού, και ειδικά στα καρκινικά κύτταρα, είναι το γαλακτικό οξύ. Αυτή η λεπτομέρεια είναι σημαντική για τα *in vitro* συστήματα, αφού για να απομακρυνθεί το γαλακτικό οξύ πρέπει να αλλαχθεί πλήρως το θρεπτικό υλικό. Στην **Εικόνα 42** παρουσιάζεται το αποτέλεσμα των μετρήσεων του κυτταρικού πληθυσμού με το μεταβαλλόμενο όγκο του θρεπτικού υλικού. Οι αυξομειώσεις που παρουσιάζονται είναι λόγω της αλλαγής του θρεπτικού υλικού και της εναπόθεσης των κυττάρων σε νέο θρεπτικό υλικό ώστε να συνεχίσουν να πολλαπλασιάζονται. Η μέθοδος αυτή, προσομοιάζει σε πολύ καλό βαθμό την *in vivo* κατάσταση, όπου τα καρκινικά κύτταρα και ειδικότερα τα λευχαιμικά κύτταρα, έχουν συνεχή παροχή ενέργειας μέσω του κυκλοφορικού συστήματος. Για να υπολογίσουμε την επίδραση της αλλαγής του όγκου του θρεπτικού υλικού, αναπαριστήσαμε το συνολικό πληθυσμό ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο θρεπτικού υλικού. Ειδικότερα, επαναυπολογίσαμε τον κυτταρικό πληθυσμό ως προς τον όγκο αλλά σαν να μην υπήρχε μεταβολή, ήτοι αναγάγαμε το συνολικό πληθυσμό σε κάθε μέτρηση σα να ήταν ο αρχικός όγκος θρεπτικού υλικού (**Εικόνα 43**). Οι προηγούμενες εικόνες αφορούσαν στα πειράματα με αρχικό αριθμό κυττάρων 20cells/ul και στις ακόλουθες εικόνες παρουσιάζουμε το ίδιο αποτέλεσμα για αρχικό αριθμό κυττάρων 209cells/ul (**Εικόνα 44**, **Εικόνα 45**). Τέλος, στην **Εικόνα 46** παρουσιάζεται το συγκριτικό διάγραμμα των δύο κυτταρικών πληθυσμών. Σε όλα τα κάτωθι διαγράμματα εμφανίζονται απεριοδικές ταλαντώσεις.



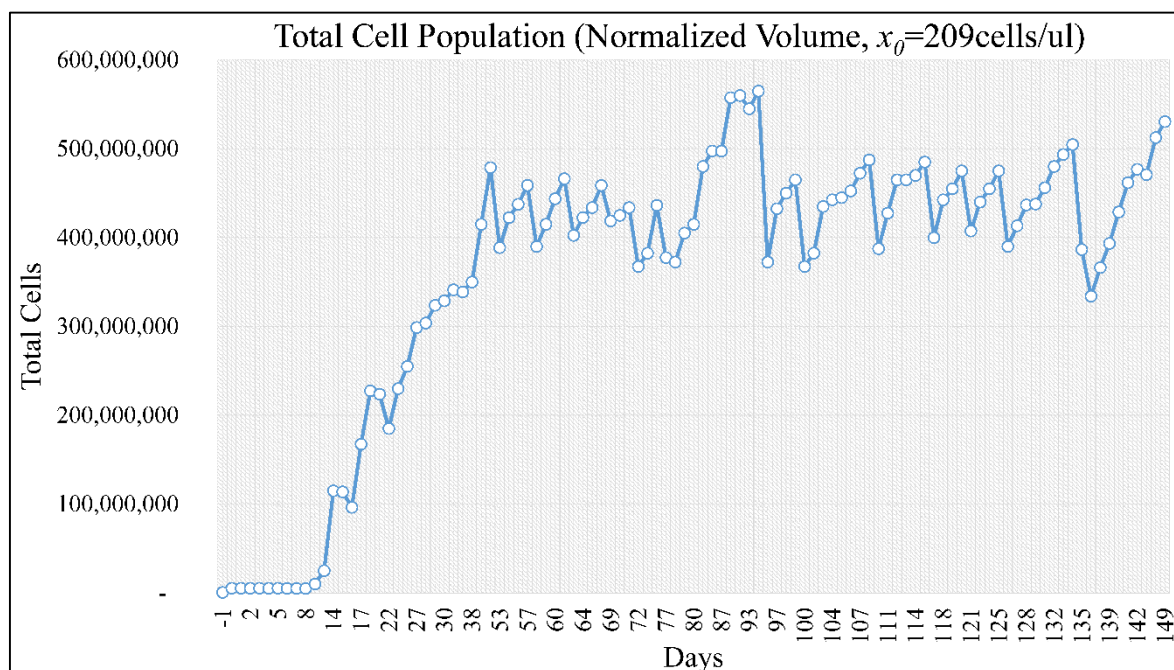
Εικόνα 42. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον πραγματικό όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).



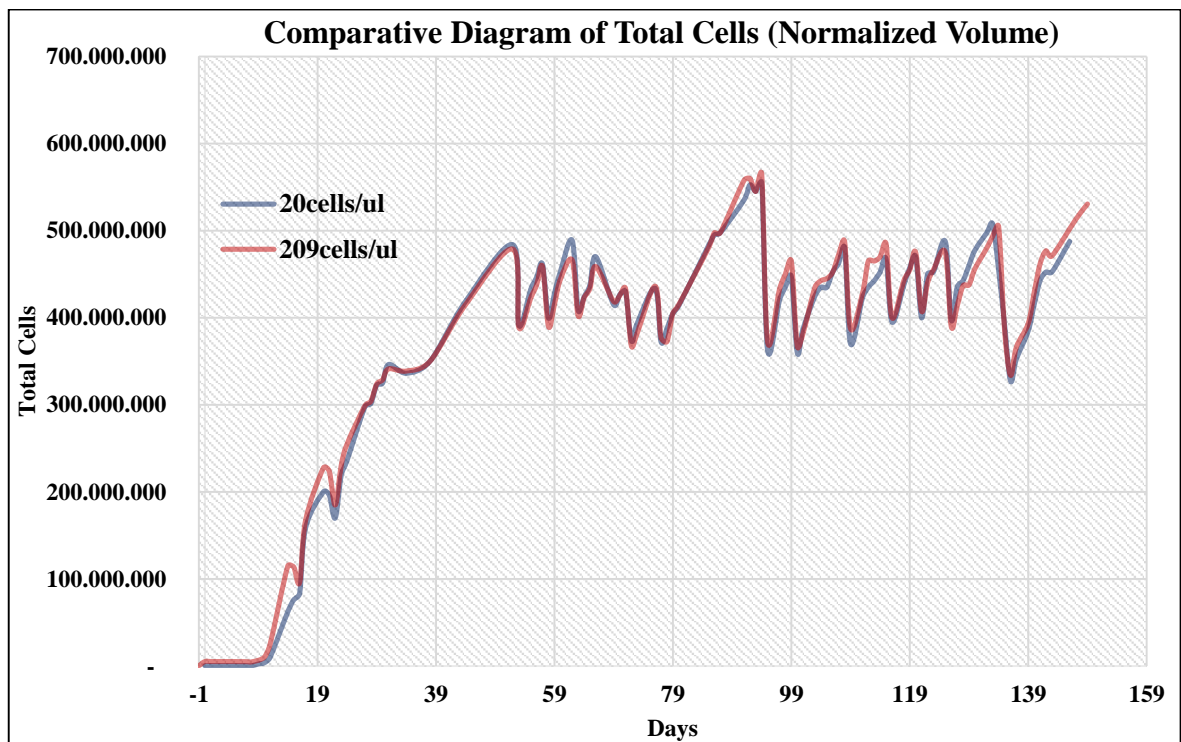
Εικόνα 43. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 20 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).



Εικόνα 44. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον πραγματικό όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).



Εικόνα 45. Η μέση τιμή των πειραμάτων πολλαπλασιασμού των κυττάρων CCRFCEM με αρχικό πληθυσμό 209 cells/ul και ως προς το συνολικό κυτταρικό πληθυσμό. Οι μετρήσεις, που παρουσιάζονται αφορούν στο συνολικό κυτταρικό πληθυσμό και ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο του θρεπτικού υλικού (x_0 : αρχικός αριθμός κυττάρων ανά ul).



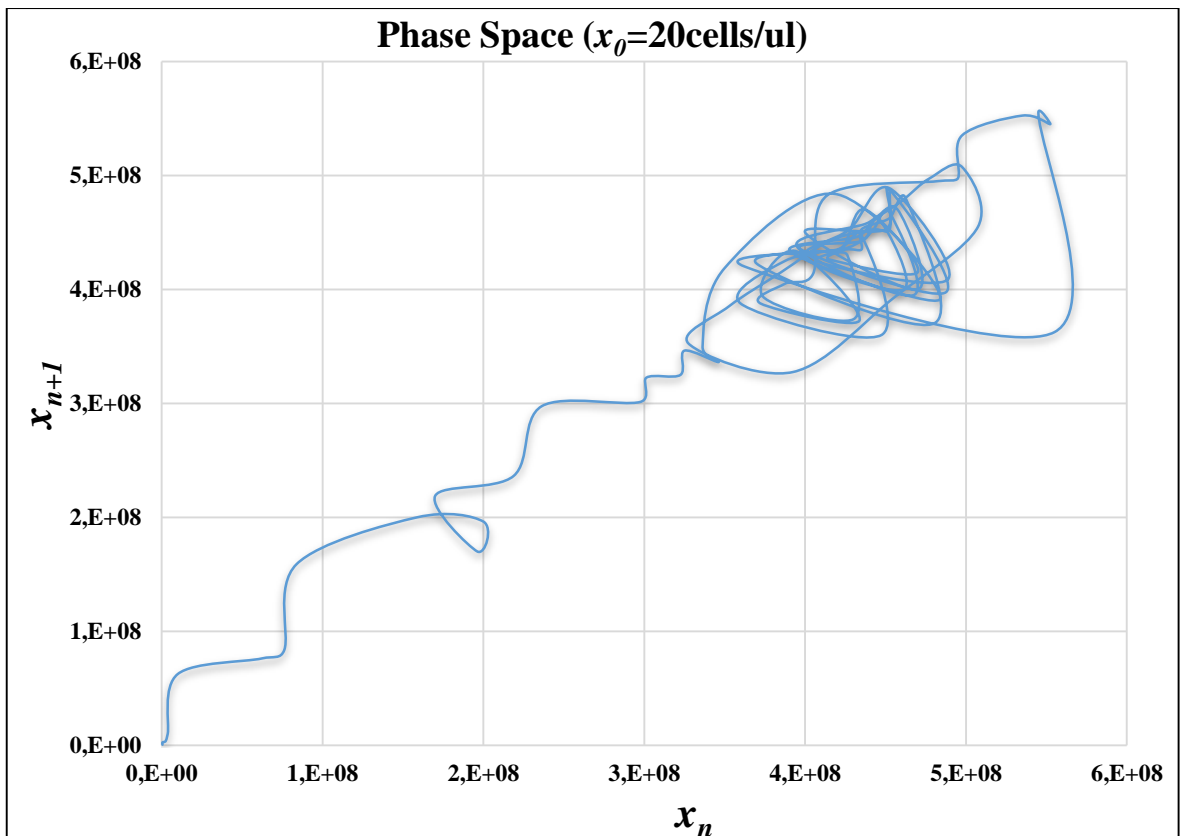
Εικόνα 46. Συγκριτικό διάγραμμα του κυτταρικού πληθυσμού ως προς τον κανονικοποιημένο όγκο για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 20cell/ul και 209cells/ul.

11. Ο ΧΩΡΟΣ ΦΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ & ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΩΝ LYAPUNOV

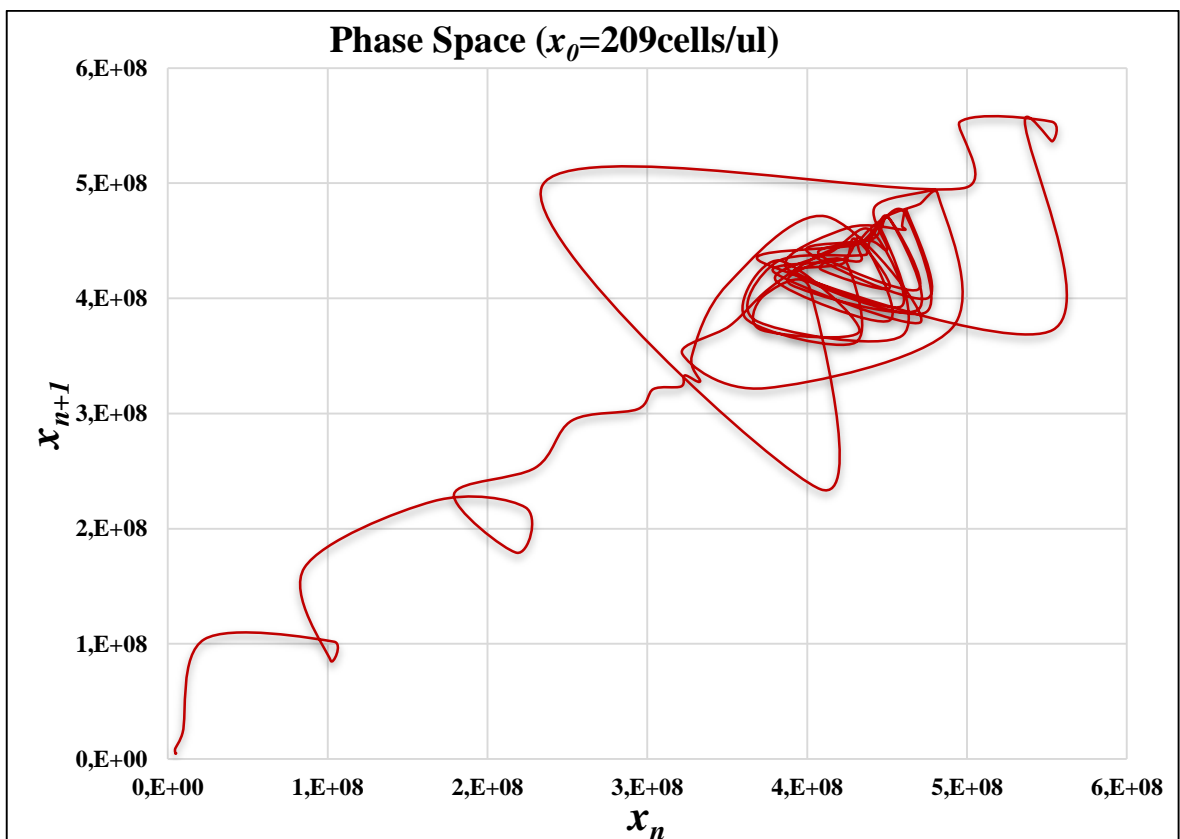
Μια πολύ ενδιαφέρουσα παρατήρηση από τα προηγούμενα αποτελέσματα, αφορούσε στο γεγονός ότι παρά το διαφορετικό αρχικό πληθυσμό, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός συνέκλινε παρουσιάζοντας μικρές διαφορές. Το ενδιαφέρον ερώτημα αφορούσε στο αν υπήρχε διαφορετική δυναμική στις δύο πειραματικές διατάξεις. Για να απαντήσουμε το ερώτημα αυτό χρησιμοποιήσαμε την αναπαράσταση του χώρου φάσεων.

Το αποτέλεσμα αυτό έδειξε ότι η δυναμική του κυτταρικού πληθυσμού παρουσίασε διαφορές σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό κυττάρων. Στην **Εικόνα 47** παρουσιάζεται ο χώρος φάσεων για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 20cells/ul ενώ στην **Εικόνα 48** παρουσιάζεται ο χώρος φάσεων για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 209cells/ul. Αναμέναμε από τον μετασχηματισμό στον χώρο φάσεων, να μην προκύψουν σταθερές κυκλικές τροχιές (θα αντιστοιχούσαν, άλλωστε, σε χρονοσειρές περιοδικών ταλαντώσεων), αλλά «βαλς» τροχιές (τουλάχιστον φαινομενικά) ακανόνιστες οι οποίες θα τέμνονταν μεταξύ τους, όπως και παρατηρήθηκε. Για να κατανοήσουμε καλύτερα τη δυναμική του χώρου φάσεων και ως εκ τούτου να δούμε τα επιμέρους στιγμιότυπα της δυναμικής αυτής, αναπαριστήσαμε το χώρο φάσεων σε διάφορα διαδοχικά χρονικά ζεύγη. Με τον τρόπο αυτό μπορέσαμε να αναπαραστήσουμε τον τρόπο με τον οποίο ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός προχωρά στα λευχαιμικά κύτταρα (**Εικόνα 49**).

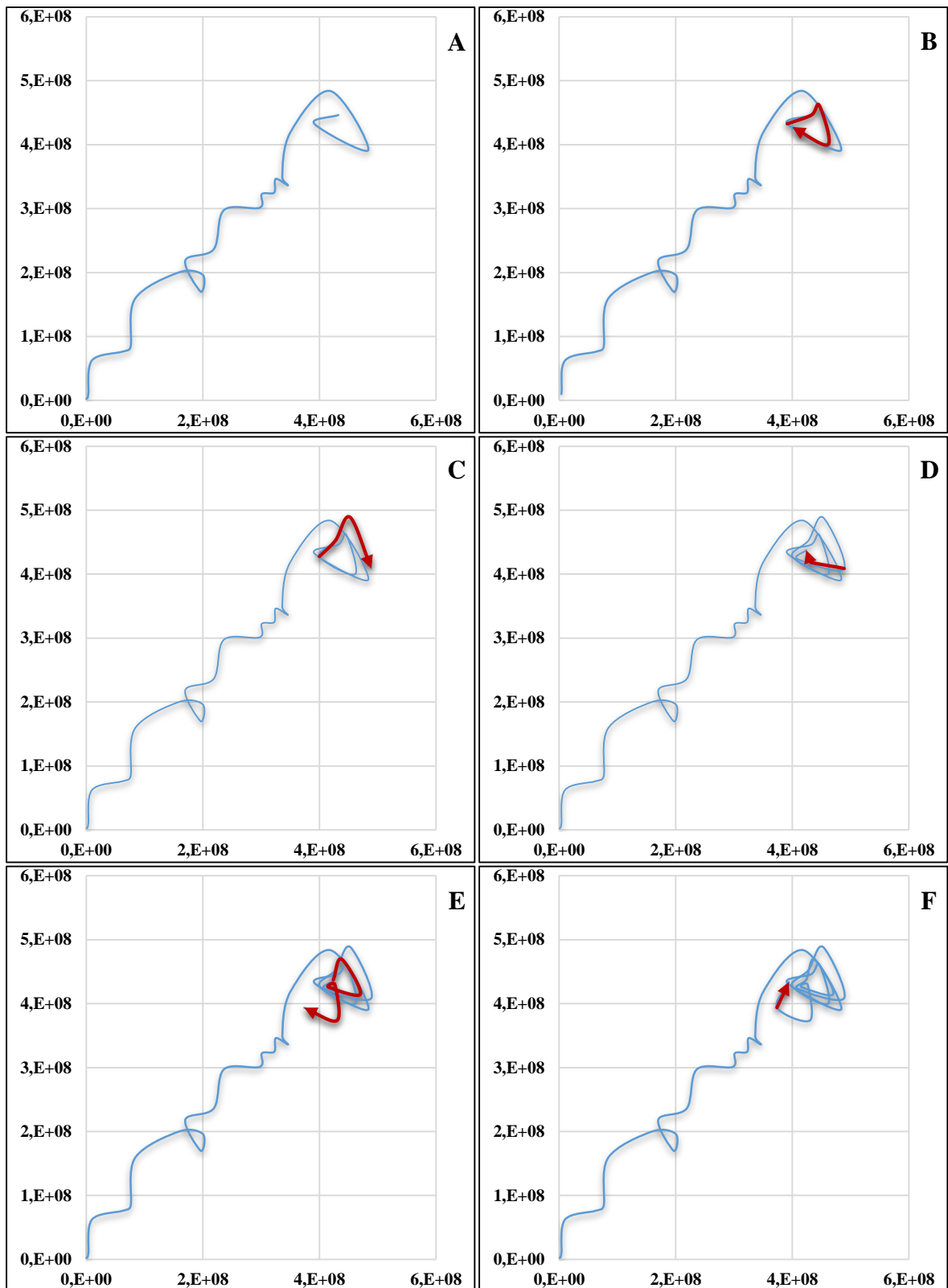
Οι τροχιές του χώρου φάσεων του κυτταρικού πολλαπλασιασμού έδειξαν ότι τα κύτταρα ακολουθούν μια χαοτική τροχιά ως προς τον τρόπο που αυξάνονται. Για να το επιβεβαιώσουμε αυτό το εύρημα, υπολογίσαμε το δείκτη *Lyapunov* για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η βασική υπόθεσή μας ήταν ότι ο δείκτης έπρεπε να είναι μεγαλύτερος του μηδενός, γεγονός που θα ήταν ένδειξη μιας χαοτικής τροχιάς. Από τους υπολογισμούς μας προέκυψε ότι ο δείκτης ήταν πράγματι μεγαλύτερος του μηδενός για σχεδόν όλες τις μετρήσεις του κυτταρικού πληθυσμού (**Εικόνα 50**). Κάτι που υποδηλώνει την ευαίσθητη εξάρτηση της «εξόδου» από τις αρχικές συνθήκες.



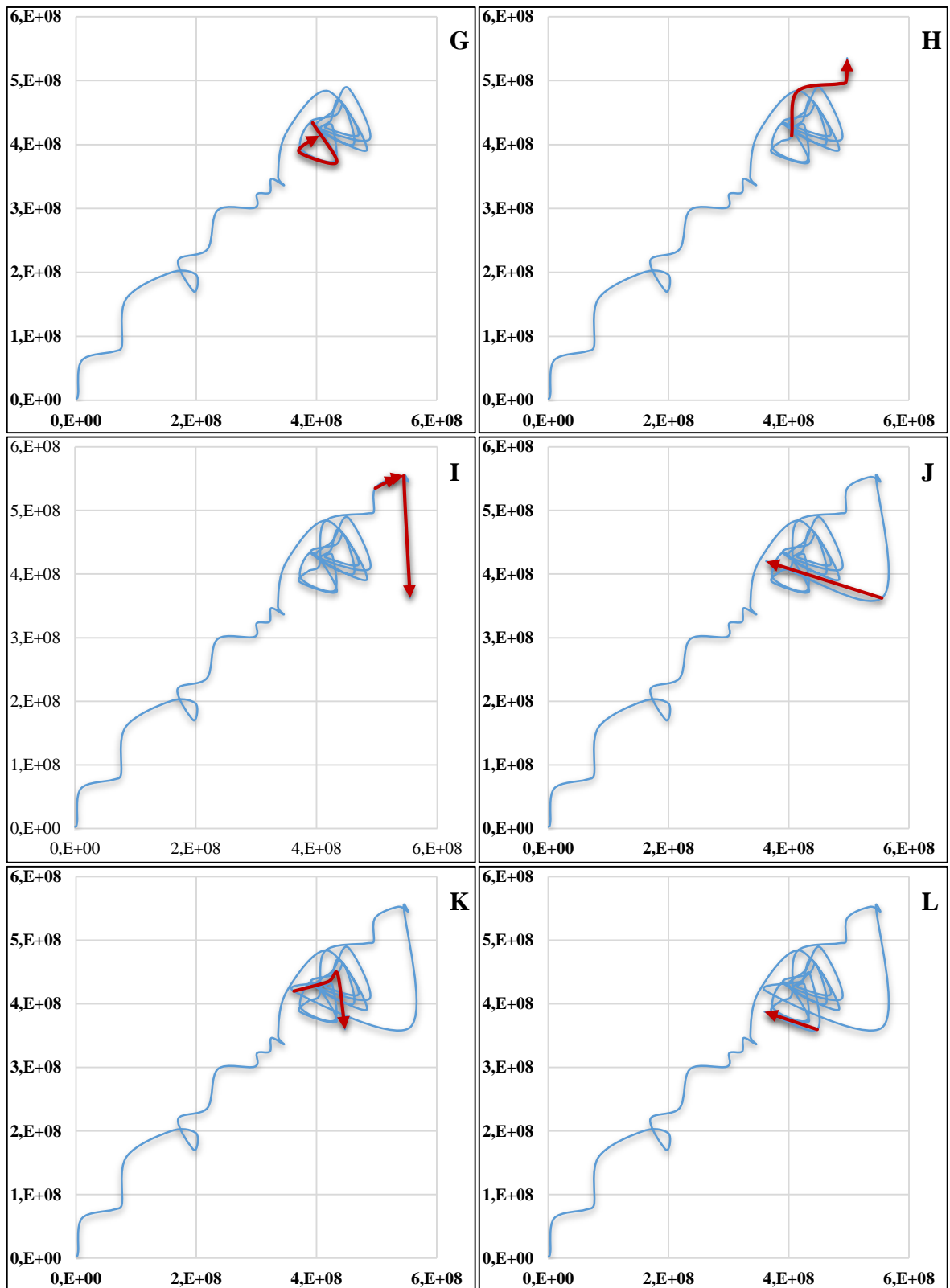
Εικόνα 47. Χώρος φάσεων για την πειραματική διάταξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αρχικό αριθμό κυττάρων 20cell/ul.



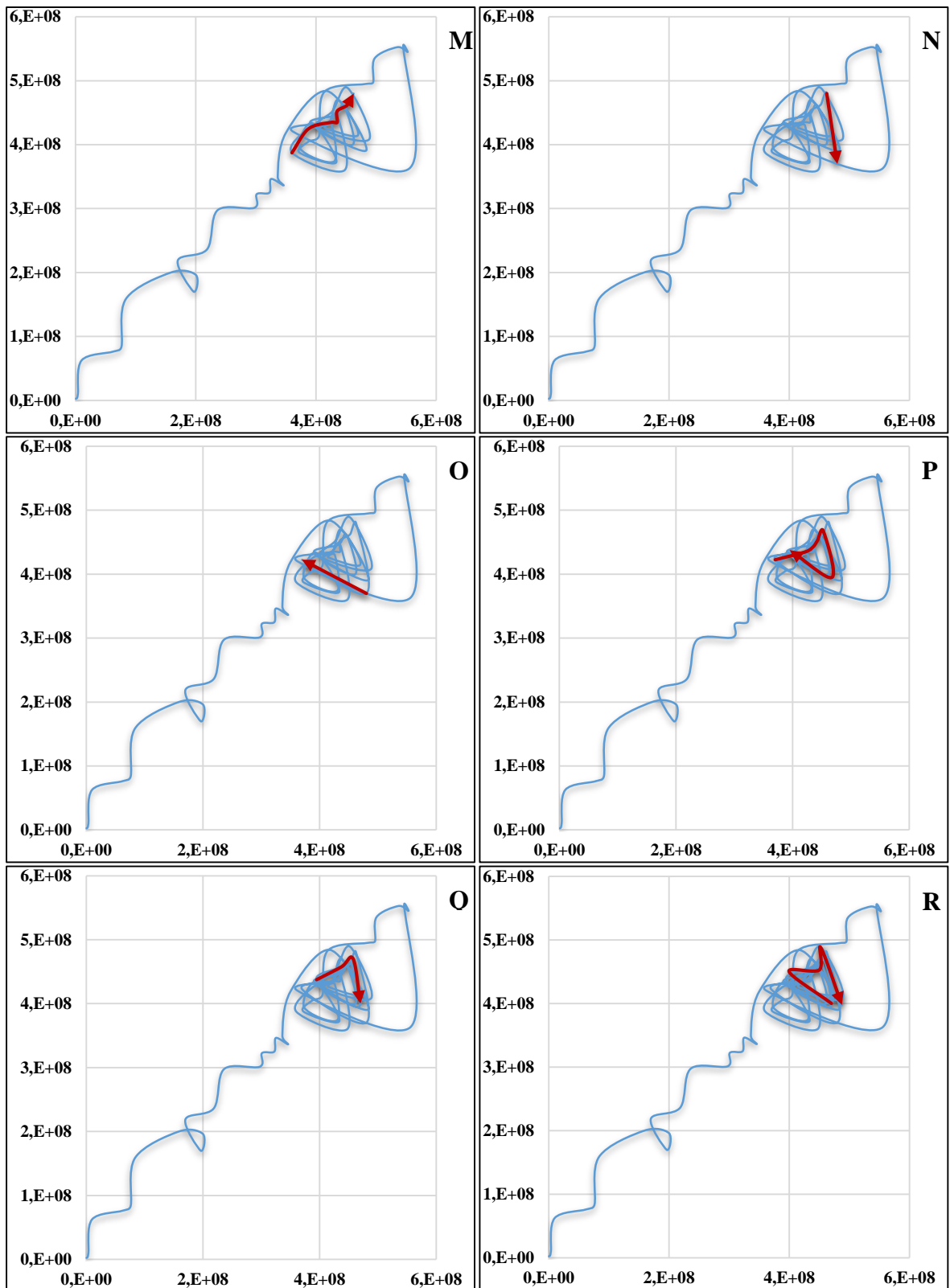
Εικόνα 48. Χώρος φάσεων για την πειραματική διάταξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αρχικό αριθμό κυττάρων ~200cell/ul.



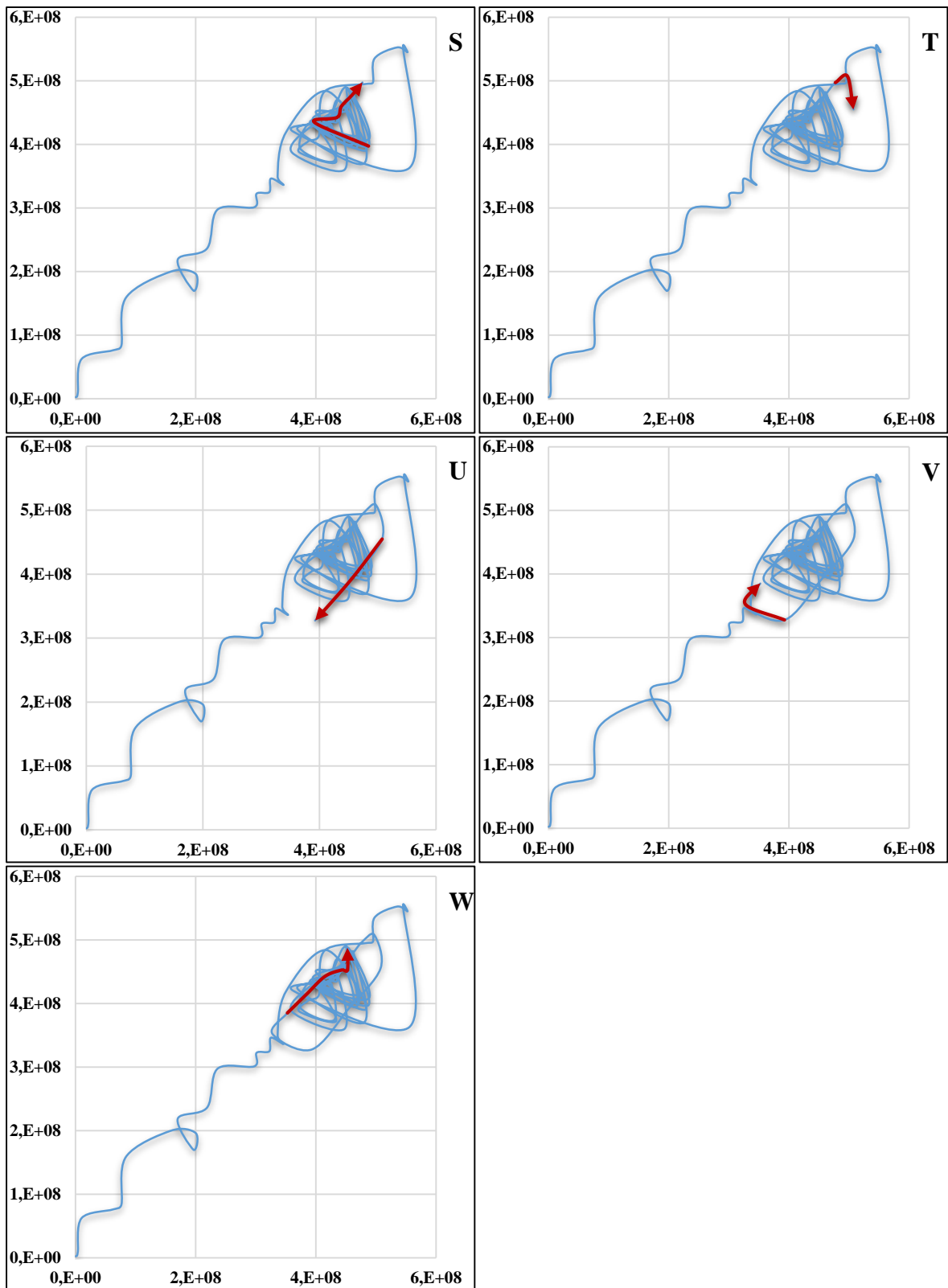
Εικόνα 49. Η ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



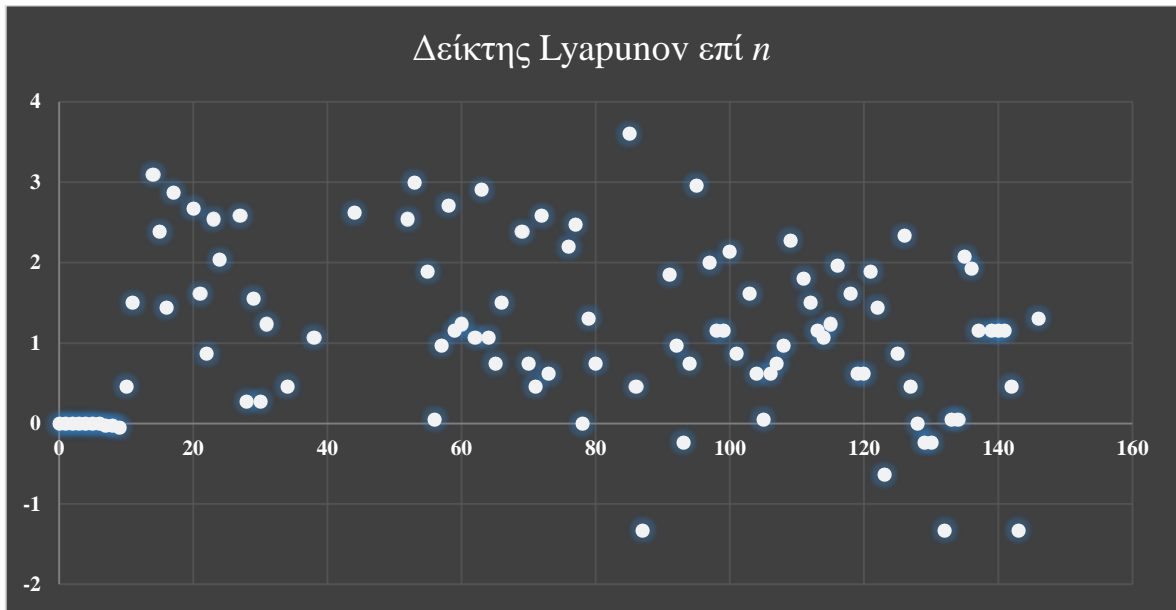
Εικόνα 49 (Συνέχεια). Η ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



Εικόνα 49 (Συνέχεια). Η ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



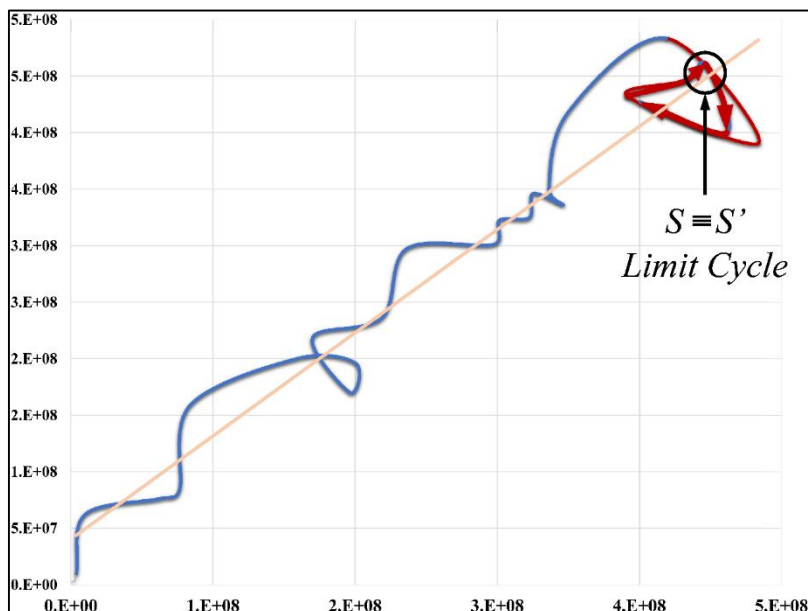
Εικόνα 49 (Συνέχεια). Η ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



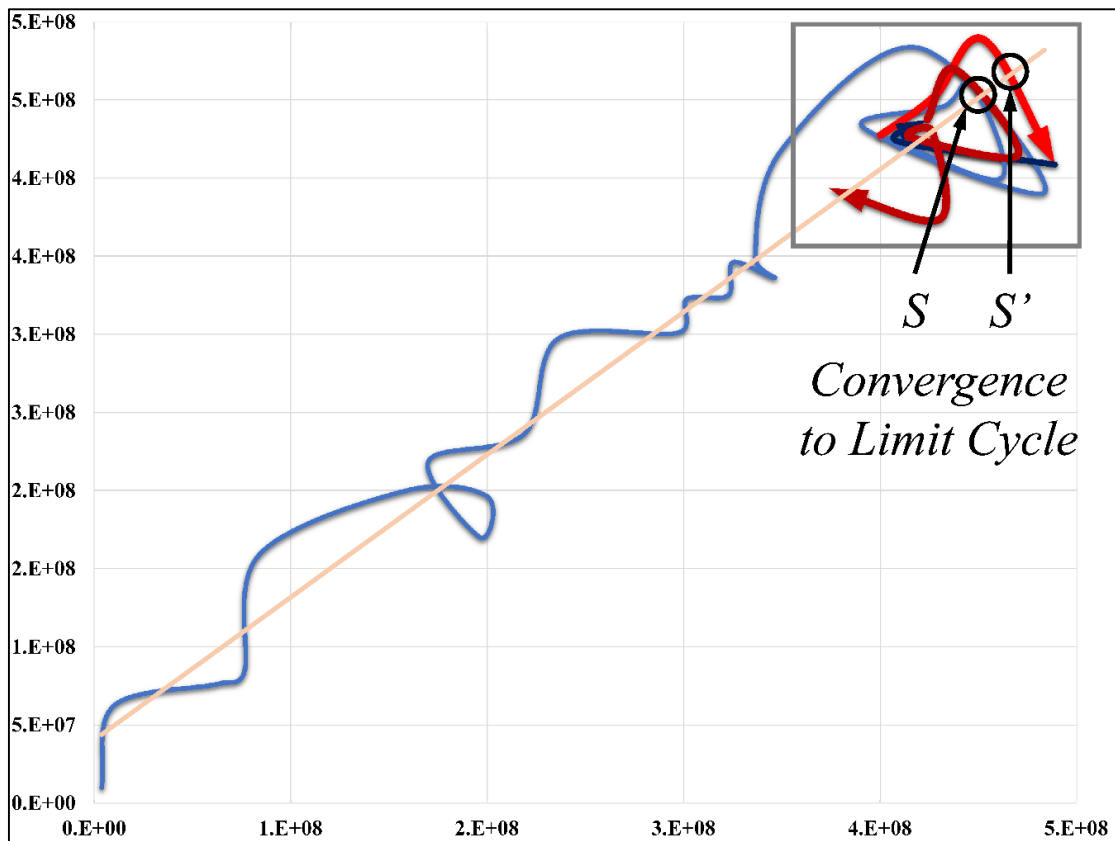
Εικόνα 50. Υπολογισμός του δείκτη *Lyapunov* του κυτταρικού πολλαπλασιασμού για αρχικό πληθυσμό κυττάρων 20cells/ul και 209cells/ul, όπου $x_0=20/max$ και $x_0'=209/max$, $\Delta_0=|x_0-x_0'|=189/max$. Ο τρόπος υπολογισμού των δεικτών *Lyapunov* που χρησιμοποιήσαμε περιγράφεται στο κεφάλαιο 4.4.3. **Εξίσωση 22** της παρούσης εργασίας, παίρνοντας ως *max* πληθυσμό περιβάλλοντος τον μέγιστο αριθμό κυττάρων ανά μικρόλιτρο σύμφωνα με τα δεδομένα του πειράματος λαμβάνοντας υπόψιν και τις δύο αρχικές συγκεντρώσεις. Παρατηρούμε πως η πλειοψηφία των λ_i είναι θετικοί (θα αρκούσε ένα $\lambda > 0$), έτσι επιβεβαιώνεται η ευαίσθητη εξάρτηση της δυναμικής από τις αρχικές συνθήκες καθώς και η χαοτική συμπεριφορά του συστήματος.

12. ΑΠΟΤΥΠΩΣΕΙΣ *POINCARÉ* ΣΤΟ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΟ ΧΩΡΟ ΦΑΣΕΩΝ

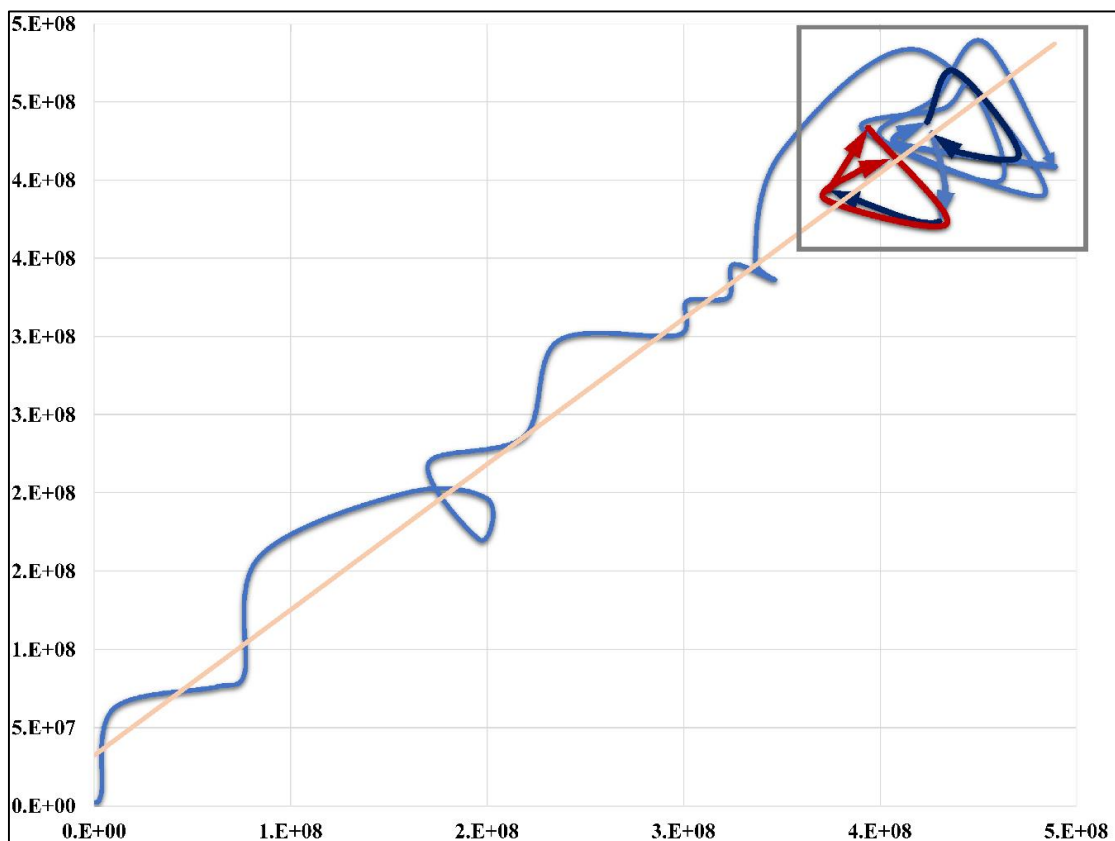
Από τις παραπάνω διατυπώσεις, αυτό που προκύπτει είναι η ανάγκη για τη διατύπωση των τομών *Poincaré* του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στο δισδιάστατο χώρο. Με βάση τις προηγούμενες διατυπώσεις και υποθέσεις, αν το σύστημά μας ακολουθεί χαοτικές τροχιές τότε θα πρέπει να πληροί και την προϋπόθεση των τομών *Poincaré*. Ήτοι, έστω ότι η τροχιά τέμνει τη διχοτόμο, κατά την πρώτη επαφή της, σε ένα σημείο S , το οποίο μπορούμε να ονομάσουμε και *σημείο εισόδου*. Αντίστοιχα, θα ονομάσουμε S' το επόμενο σημείο τομής με τη διχοτόμο, τέτοιο όμως ώστε να έχει την ίδια φορά με την οποία έτεμνε τη διχοτόμο στο σημείο S . Το σημείο αυτό θα το ονομάσουμε και *σημείο εξόδου*. Το κριτήριο *Poincaré* ορίζει ότι σε ένα μη χαοτικό σύστημα (είτε σύστημα σύγκλισης, ή περιοδικών ταλαντώσεων) θα πρέπει η απεικόνιση S' του S να συγκλίνει στο *limit cycle*, δηλαδή στα σημεία ισορροπίας του συστήματος όπου $S' \equiv S$, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε στην πειραματική μας διάταξη. Στις ακόλουθες εικόνες παρουσιάζουμε τις διαδοχικές τομές *Poincaré* στο χώρο φάσεων του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (**Εικόνα 51**). Σε πολλές από τις παρακάτω εικόνες, παρουσιάζουμε και τις μεγεθυμένες τομές των τροχιών για λόγους καλύτερης αποτύπωσης.



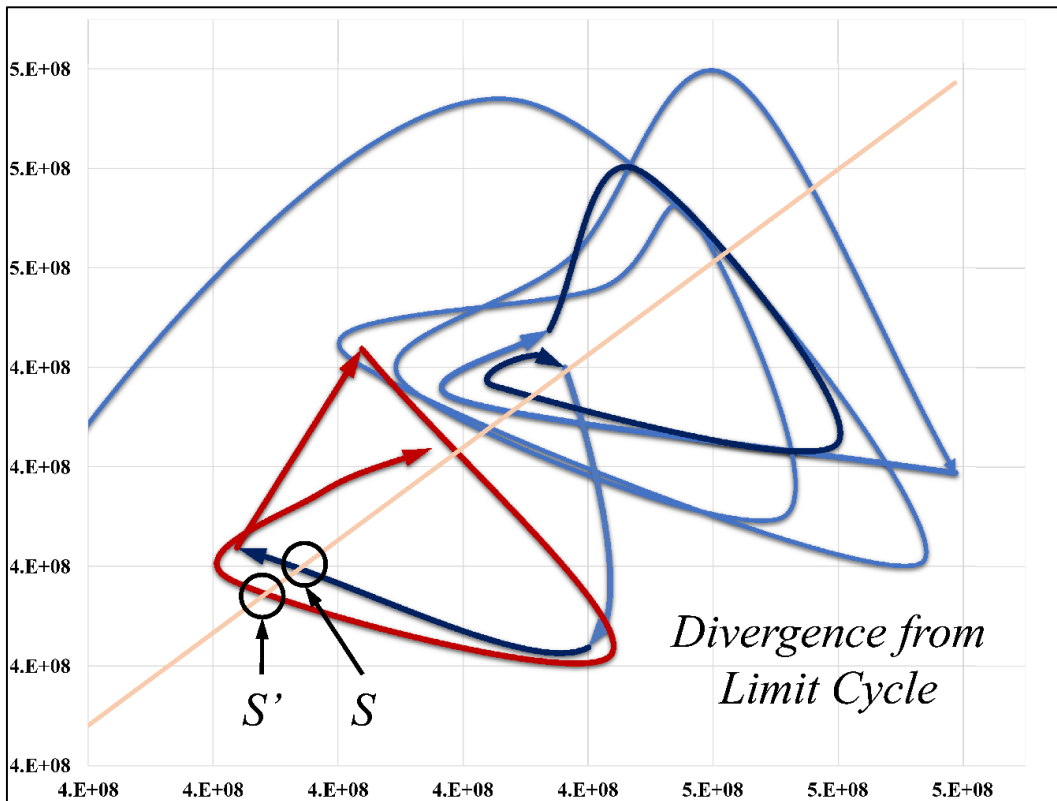
Εικόνα 51. Η τομή *Poincaré* στον πρώτο κύκλο του χώρου φάσεων με σεσημασμένες τις πρώτες τροχιές. Ανάλυση του χώρου φάσεων, σε κάθε στιγμιότυπο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι κόκκινες γραμμές δείχνουν την πορεία την οποία ακολουθεί ο χώρος φάσεων σε κάθε χρονική στιγμή. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



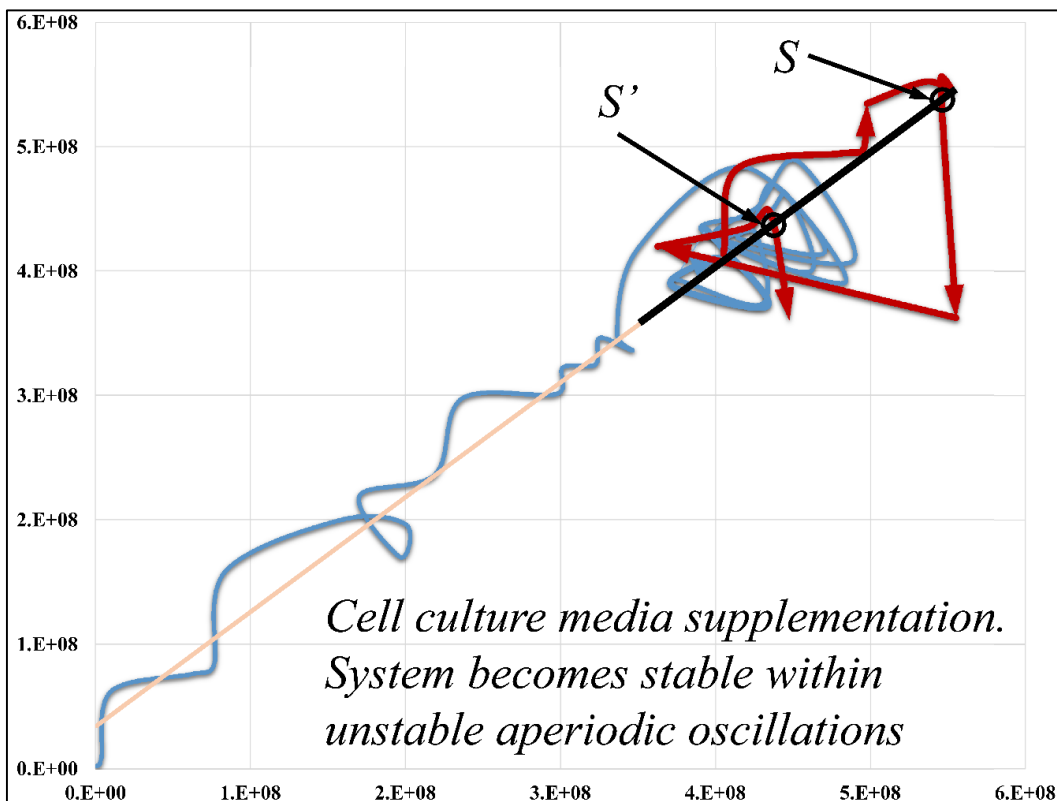
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στο δεύτερο κύκλο του χώρου φάσεων. Παρατηρείται τοπική σύγκλιση.



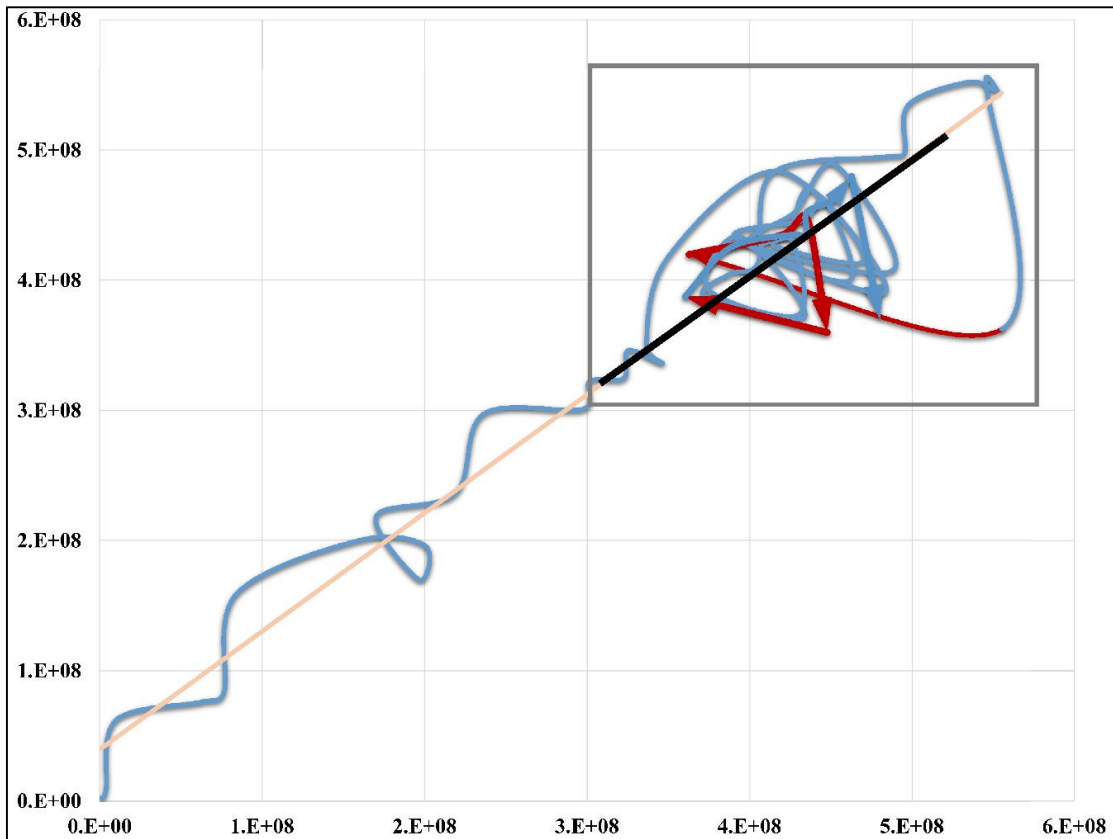
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον τρίτο κύκλο του χώρου φάσεων.



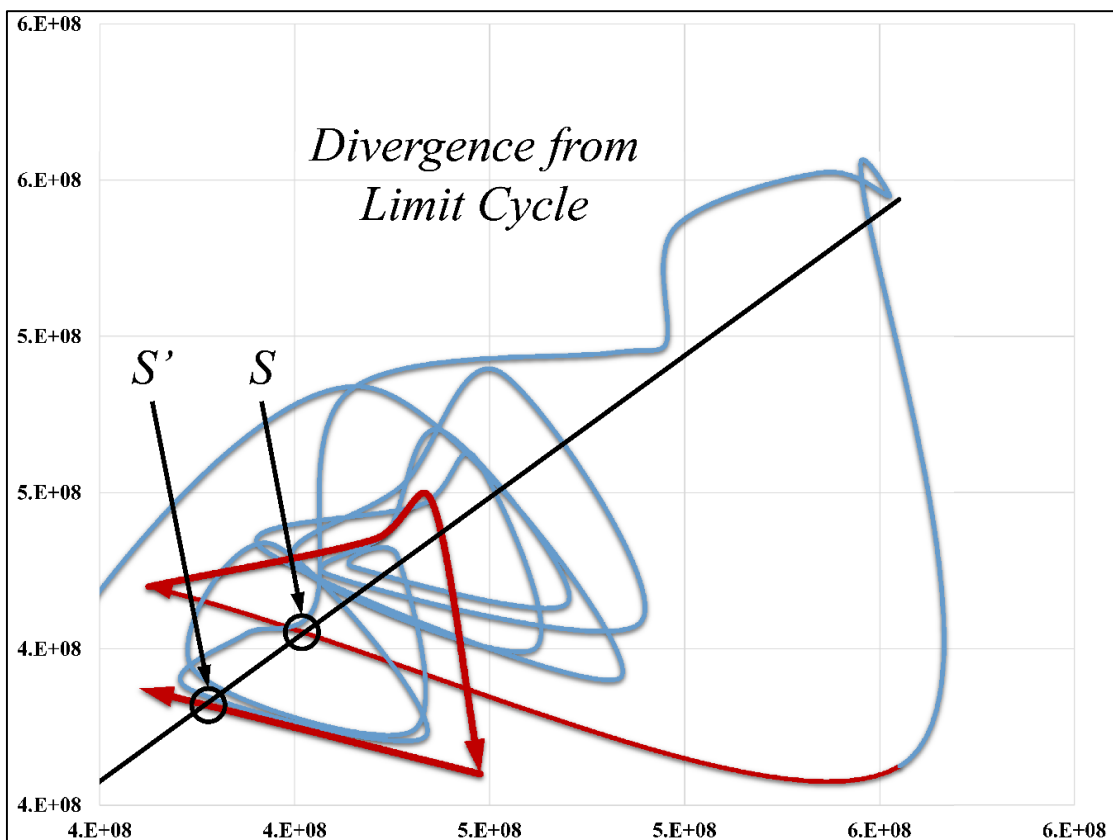
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Μεγέθυνση της τομής *Poincaré* του τρίτου κύκλου του χώρου φάσεων. Παρατηρείται τοπική απόκλιση απόδειξη αστάθειας.



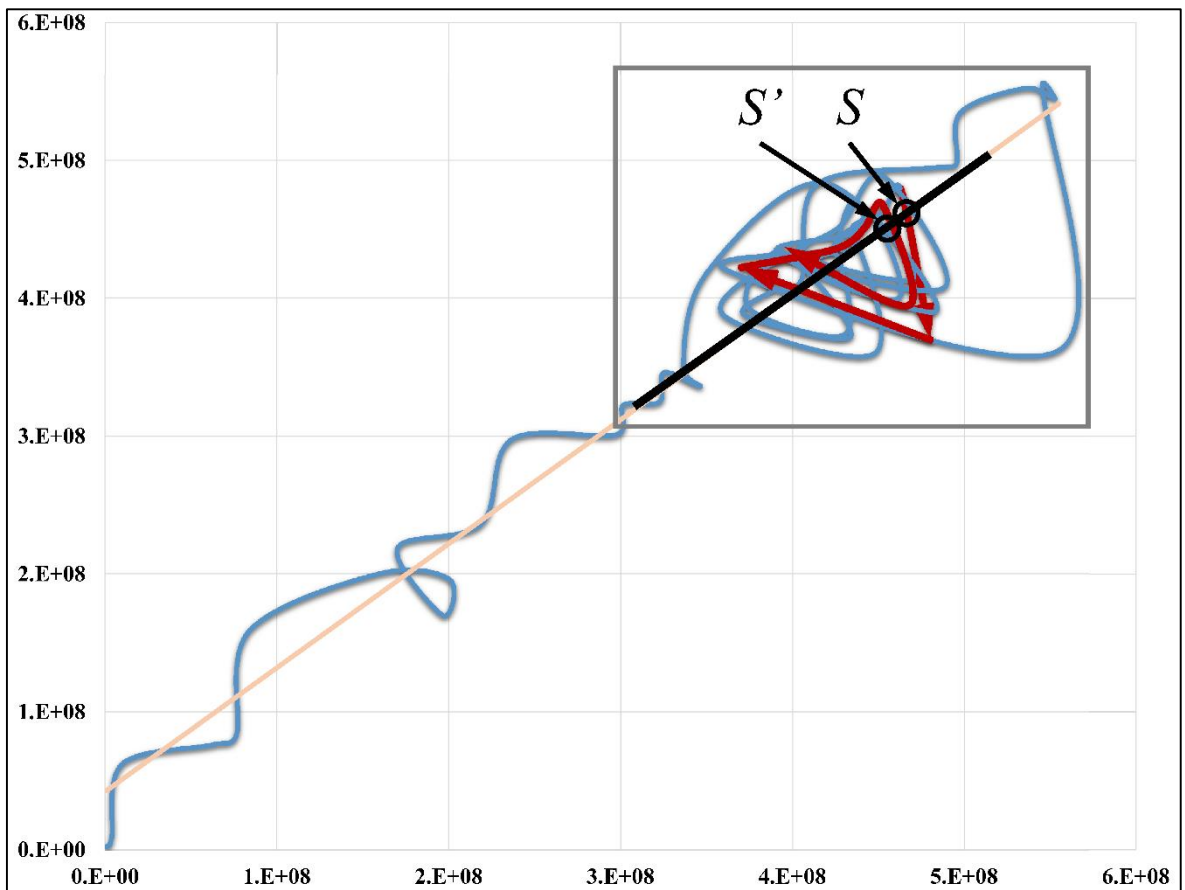
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον τέταρτο κύκλο του χώρου φάσεων. Παρατηρείται ευστάθεια στη συστημική αστάθεια, μετά από συμπλήρωση του θρεπτικού υλικού των κυττάρων. Η συμπλήρωση του θρεπτικού υλικού έγινε για να προσομοιώσουμε την *in vivo* κατάσταση, όπου οι πόροι αναπληρώνονται σε τακτά διαστήματα.



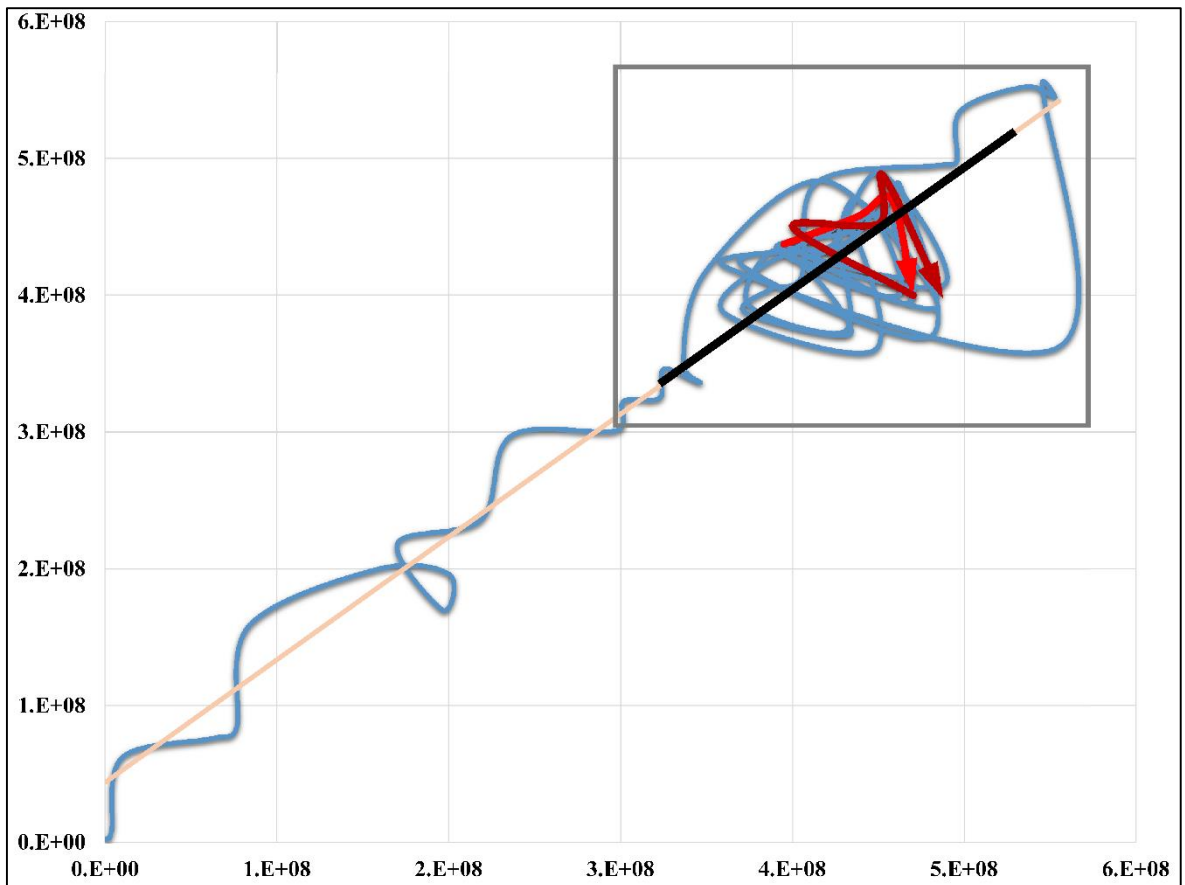
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον πέμπτο κύκλο του χώρου φάσεων.



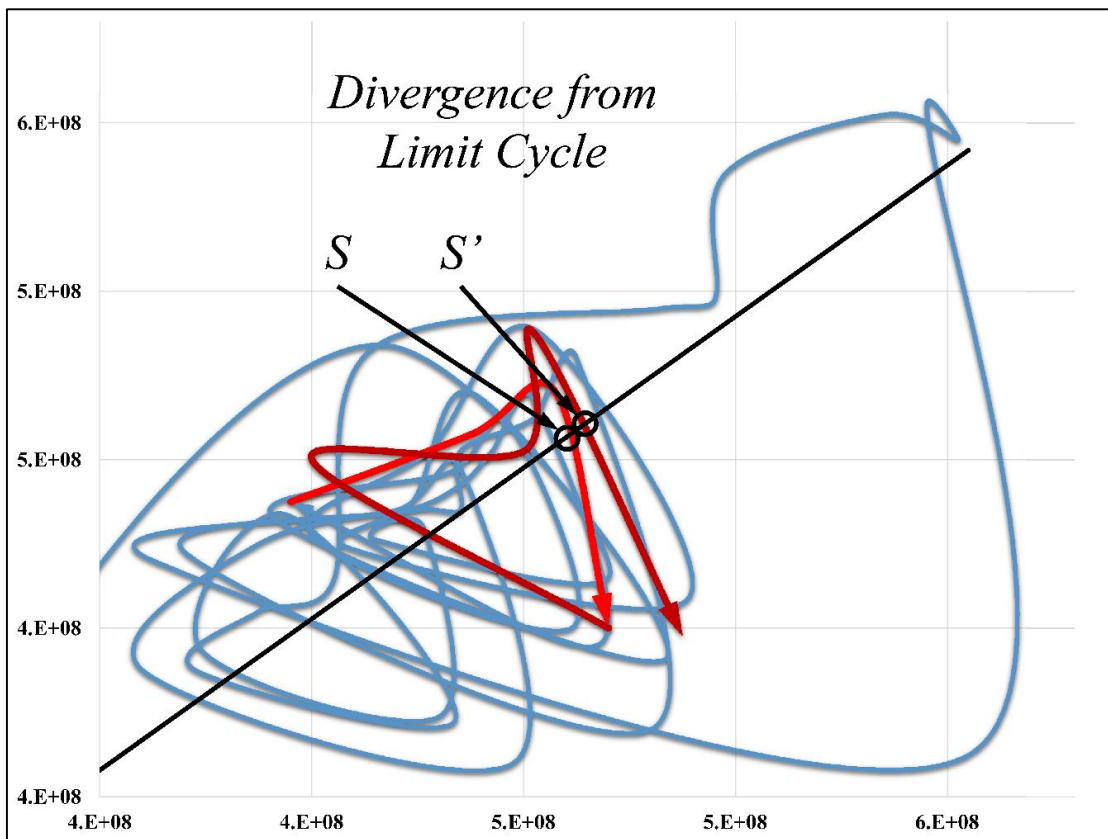
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Μεγέθυνση της τομής *Poincaré* του πέμπτου κύκλου του χώρου φάσεων. Παρατηρείται τοπική απόκλιση, απόδειξη αστάθειας.



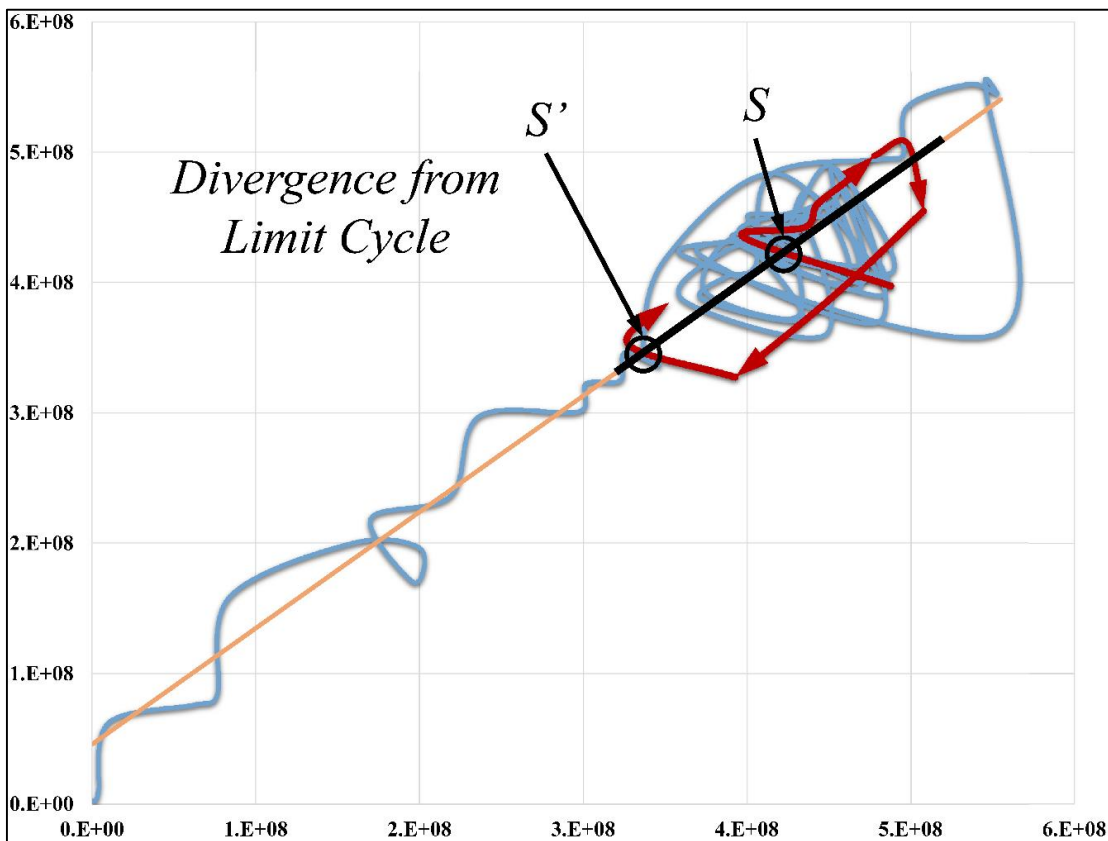
Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον έκτο κύκλο του χώρου φάσεων.



Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον έβδομο κύκλο του χώρου φάσεων.

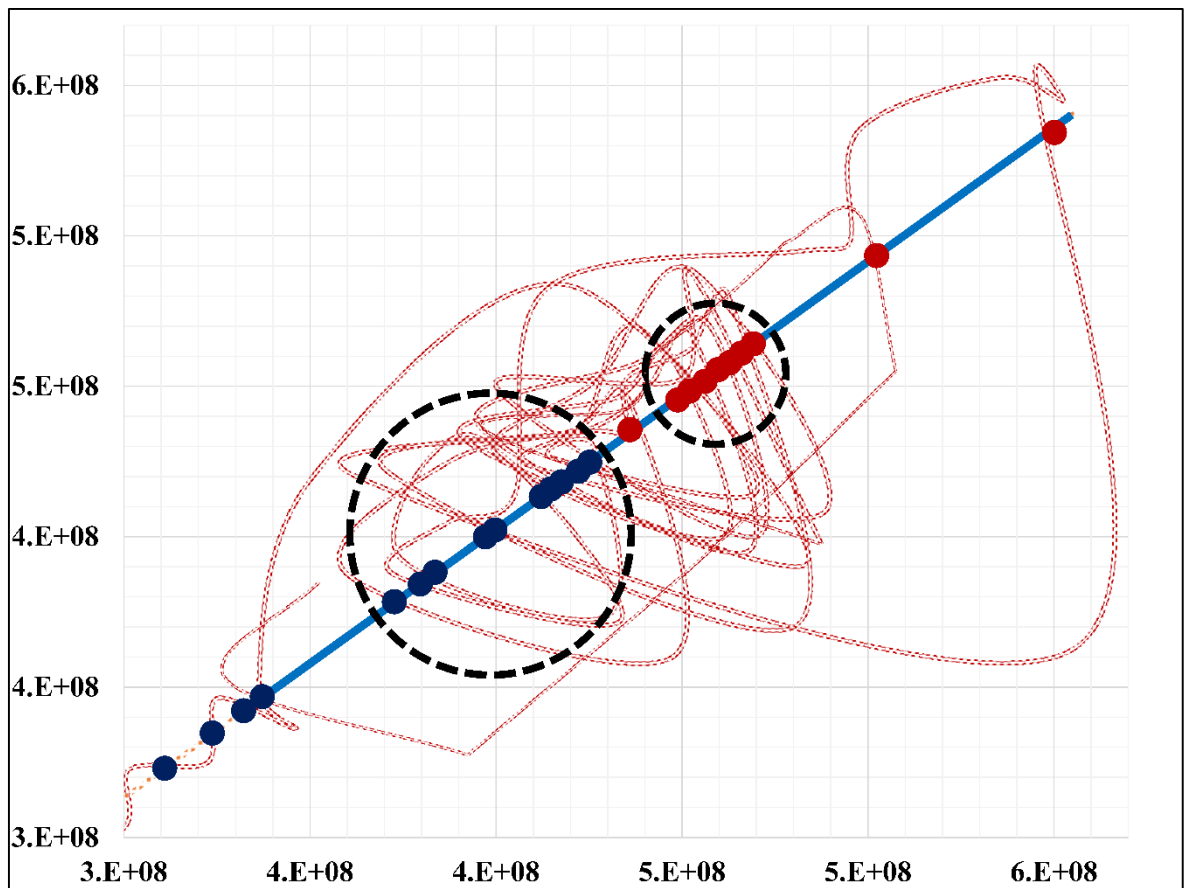


Εικόνα 51 (Συνέχεια). Μεγέθυνση της τομής *Poincaré* του έβδομου κύκλου του χώρου φάσεων. Παρατηρείται τοπική απόκλιση, απόδειξη αστάθειας.

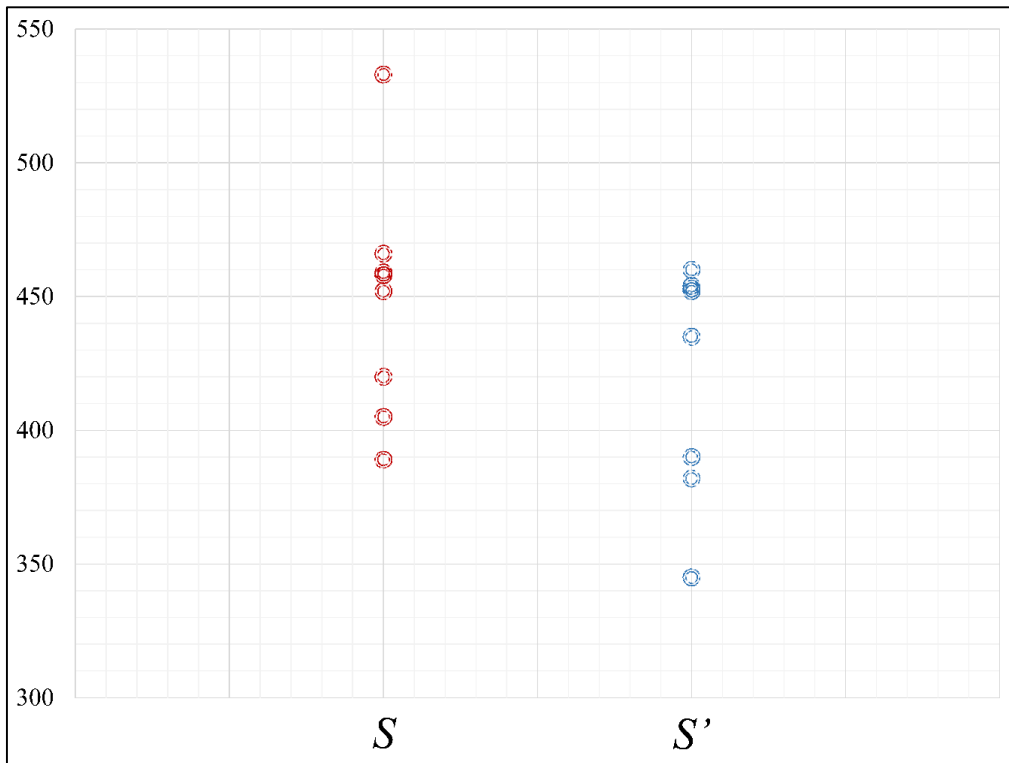


Εικόνα 51 (Συνέχεια). Η τομή *Poincaré* στον όγδοο κύκλο του χώρου φάσεων.

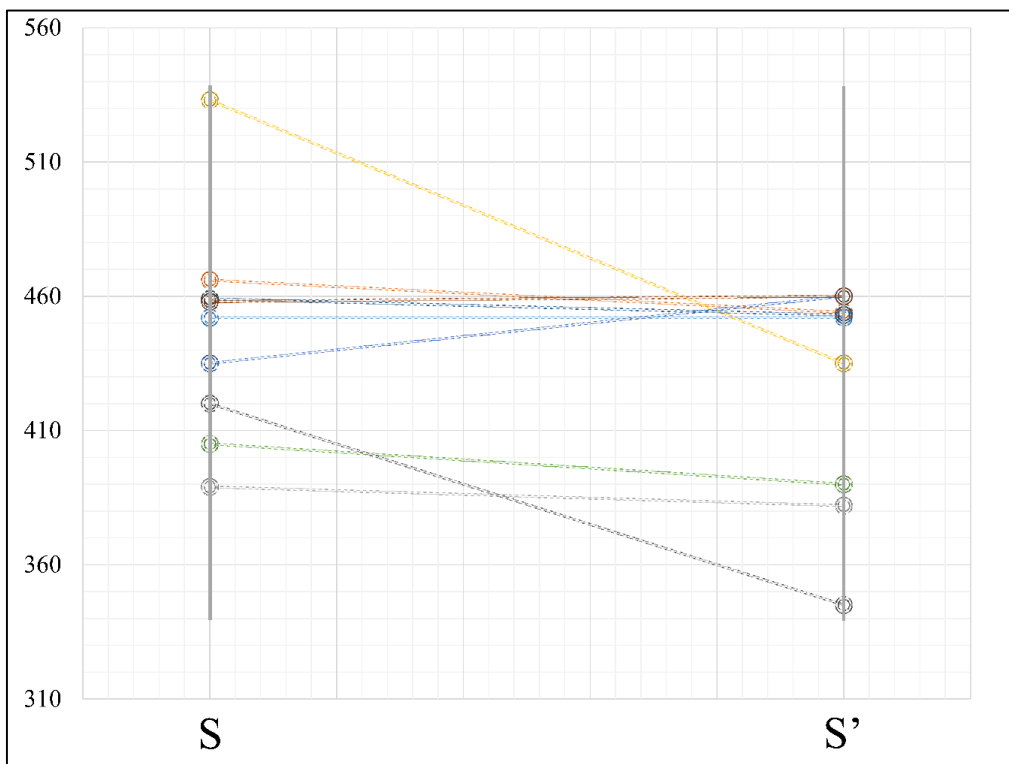
Για να μπορέσουμε να κατανοήσουμε καλύτερα, τη δυναμική της τομής *Poincaré* προσπαθήσαμε να αποτυπώσουμε τις τομές αυτές σε μια σειρά διαγραμμάτων, όπου παρουσιάζεται η μεταβολή του χώρου φάσεων. Ειδικότερα, στην **Εικόνα 51** παρουσιάστηκαν οι τομές *Poincaré* κάποιων κυκλικών τροχιών του χώρου φάσεων. Στην **Εικόνα 52**, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά όλα τα σημεία τομών ανεξαρτήτως φοράς. Στην **Εικόνα 53**, αναπαρίστανται τα σημεία κατά αντιπαράσταση και επίσης στην **Εικόνα 54** φαίνονται και οι συνδέσεις, ήτοι οι μεταβάσεις από το ένα σημείο τομής (S) στο επόμενο (S'). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η *υψηλότερη τιμή, η οποία αντιστοιχεί στη χρονική στιγμή κατά την οποία δόθηκε στα κύτταρα θρεπτικό υλικό, με σκοπό να προσομοιώσει την αναπλήρωση του θρεπτικού υλικού που λαμβάνει χώρα in vivo*. Το ίδιο αποτέλεσμα παρουσιάζεται σε τρεις διαστάσεις στην **Εικόνα 55** (*in vivo* προσομοίωση).



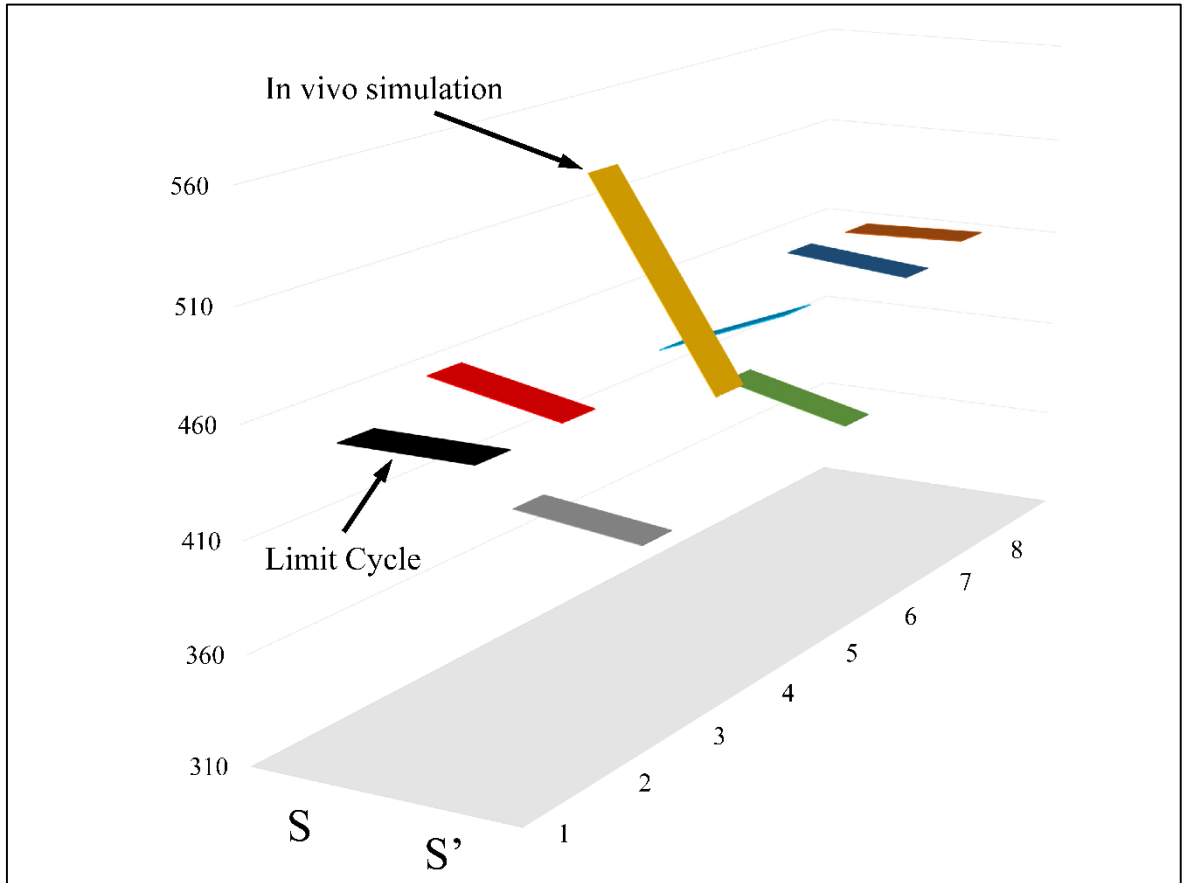
Εικόνα 52. Η συγκεντρωτική απεικόνιση όλων των σημείων τομής των κυκλικών τροχιών του χώρου φάσεων ανεξαρτήτως φοράς. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο t (x_n) και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων σε χρόνο $t+1$ (x_{n+1}). Ο χώρος φάσεων, που παρουσιάζεται εδώ αφορά στο πείραμα για αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



Εικόνα 53. Οι τομές *Poincaré* που βρέθηκαν στην προηγούμενη εικόνα (**Εικόνα 51**) αναπαρίστανται στο επίπεδο. Ο άξονας των x αντιστοιχεί στις απεικονίσεις S και S' και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων. Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



Εικόνα 54. Οι τομές *Poincaré* της προηγούμενης εικόνας (**Εικόνα 53**) τοποθετήθηκαν σε ζεύγη κατά τέτοιο τρόπο ώστε να φαίνεται η μετάβαση από το S στην απεικόνισή του S' . Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.



Εικόνα 55. Οι τομές *Poincaré* της προηγούμενης εικόνας (**Εικόνα 54**) τοποθετήθηκαν σε ζεύγη κατά τέτοιο τρόπο ώστε να φαίνεται η μετάβαση από το ένα σημείο (του S) του χώρου φάσεων στην αποτύπωση S' . Ο άξονας των x αντιστοιχεί στις απεικονίσεις S και S' που βρέθηκαν από τις τομές *Poincaré* και ο άξονας των y αντιστοιχεί στον πληθυσμό των κυττάρων και ο άξονας z αντιστοιχεί στις τομές *Poincaré* που επιχειρήσαμε σε οχτώ διαφορετικές τροχιές του χώρου φάσεων. Το πείραμα που παρουσιάζεται εδώ αφορά σε αρχικό πληθυσμό κυττάρων $x_0=20\text{cell/ul}$.

ΜΕΡΟΣ ΙV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

13. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα καρκινικά κύτταρα πιθανότατα πηγαινούν ενάντια στους νόμους της ζωής; Το φυσιολογικό κύτταρο δημιουργείται, γερνάει, πεθαίνει. Το καρκινικό ακολουθεί την πορεία γέννηση, μετασχηματισμός, αθανασία. Αν το δούμε το φαινόμενο αυτό από τη μεριά της θεωρίας συστημάτων τότε μπορούμε να πούμε ότι το καρκινικό κύτταρο ακολουθεί στρεβλή πορεία και άρα παραβαίνει τους κανόνες της ζωής (1). Τι σημαίνει όμως στρεβλό και τι φυσιολογικό; Πως μπορούμε να είμαστε βέβαιοι ότι η καρκινογένεση δεν αποτελεί μια άλλη εξέλιξη των κυττάρων. Αν υποθέσουμε ότι υπάρχουν ορισμένοι γενικοί κανόνες που αφορούν στη ζωή, οι ζώντες οργανισμοί ακολουθούν αυτούς τους νόμους ενώ εκ τούτου πηγάζει ότι τα καρκινικά κύτταρα κινούνται εκτός αυτών των νόμων. Εδώ τίθεται όμως ένα νέο ερώτημα: μήπως ακόμα και τα καρκινικά κύτταρα που κινούνται «άνομα» είναι εντός των πλαισίων των νόμων της ζωής; Ένα είναι βέβαιο, υπάρχουν ορισμένοι θεμελιώδεις νόμοι της φύσης οι οποίοι ισχύουν σε όλες τις περιπτώσεις και όλοι οι ζώντες οργανισμοί τους ακολουθούν, χωρίς να μπορούν να παρεκκλίνουν από αυτούς (1). Τέτοια παραδείγματα είναι η αρχή διατήρησης της ενέργειας και οι θερμοδυναμικοί νόμοι που εκπορεύονται από την αρχή διατήρησης της ενέργειας. Στο σημείο αυτό θα παραφράσουμε τα λόγια των *Planck* και *Schrödinger*, οι οποίοι είπαν ότι «...είναι βέβαιο ότι η λεοπάρδαλης θα έχει τρίχωμα με βούλες αλλά ποιο θα είναι το προφίλ τους αυτό είναι πιθανότητα...» (μ.τ.σ.) (1).

Για να μπορούμε να γνωρίζουμε την έκβαση ενός χαοτικού μη-γραμμικού φαινομένου, πρέπει να γνωρίζουμε με απειροστική λεπτομέρεια τις συνθήκες του. Το ερώτημα όμως είναι, μπορούμε να βρούμε τις αρχικές συνθήκες γνωρίζοντας τις τελικές; Σε προηγούμενες μελέτες έχει αναφερθεί ότι τα βιολογικά συστήματα παρουσιάζουν πολύπλοκη δυναμική (9, 92). Στην παρούσα εργασία ασχοληθήκαμε με το ερώτημα αν η χαοτική δυναμική θα μπορούσε να ανιχνευθεί στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας σε *in vitro* καλλιέργεια κυττάρων. Σε προηγούμενη μελέτη είχεδειχθεί ότι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός ακολουθούσε χαοτικές τροχιές σε επικολούμενα κύτταρα (9). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε τα δεδομένα από προηγούμενες εργασίες των *Lambrou et al.* (2009, 2011, 2013, 2016) (1, 21, 22, 77, 90) με στόχο να διερευνήσουμε την ύπαρξη χαοτικών μοτίβων στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Σε προηγούμενη μελέτη είχεδειχθεί ότι υπήρχαν σημαντικές ενδείξεις ότι τα λευχαιμικά κύτταρα παρουσίαζαν χαοτική συμπεριφορά κατά τον πολλαπλασιασμό τους (22). Στη μελέτη μας προσπαθήσαμε να αναπτύξουμε την παρατήρηση αυτή και να διερευνήσουμε την παρουσία περαιτέρω χαοτικών κριτηρίων, όπως οι τομές *Poincaré*. Στο βαθμό που γνωρίζουμε, δεν έχουν δημοσιευθεί παρόμοιες μελέτες στο αντικείμενο αυτό και ως εκ τούτου, η παρούσα μελέτη

αποτελεί την πρώτη στο είδος της. Ειδικότερα, δεν υπάρχουν μελέτες για λευχαιμικά κύτταρα και περισσότερο για καλλιέργεια τέτοιων κυττάρων για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Το ερώτημα, που θα μπορούσαμε να θέσουμε είναι για τη σκοπιμότητα τέτοιων μελετών και αν αυτές μπορούν να βοηθήσουν στην κατανόηση του μηχανισμού του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ειδικότερα του κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων. Το ερώτημα αυτό εμπίπτει στη μελέτη της κατανόησης του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, όπως αυτό έχει αναφερθεί προηγουμένως (1, 22, 90).

Τα *in vitro* συστήματα προσφέρουν την ικανότητα διενέργειας μακροχρόνιων πειραμάτων και την απομόνωση του υπό μελέτη συστήματος για τη μείωση της περιπλοκότητας, που παρουσιάζουν τα *in vivo* συστήματα. Τέτοιου είδους μελέτες είναι αδύνατο να πραγματοποιηθούν σε *in vivo* συστήματα, τόσο από πλευράς τεχνικής και πειραματικής επίτευξης αλλά και ηθικής. Ως εκ τούτου, τα *in vitro* συστήματα είναι ιδανικά, και ίσως τα μοναδικά που επιτρέπουν, για τη μελέτη πειραμάτων πολλαπλασιασμού, όπου ο αρχικός αριθμός κυττάρων είναι ελεγχόμενος. Είναι γνωστό ότι ο καρκίνος αρχίζει και εξελίσσεται αργά, τουλάχιστον πριν από την κλινική παρουσίαση. Γνώση σχετικά με τους μηχανισμούς της ανάπτυξης πριν από την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων μπορεί να συμβάλει στην έγκαιρη θεραπεία του και άλλων ασθενειών. Όπως προαναφέρθηκε το γενικότερο ερώτημα είναι αν μπορούμε να προβλέψουμε την πορεία που ακολουθεί μια νεοπλασία από τη στιγμή της εμφάνισής της μέχρι του σημείου της κλινικής παρουσίας (1, 21, 22, 42, 77, 90). Ο μόνος τρόπος που υπάρχει σήμερα για την ανίχνευση και διάγνωση μιας νεοπλασίας είναι μόνο η παρουσία της λόγω των συμπτωμάτων. Επίσης, δεν γνωρίζουμε απολύτως τίποτα για το διάστημα που μεσολαβεί από την εμφάνιση των πρώτων καρκινικών κυττάρων μέχρι του σημείου της διαγνώσεως (1, 21, 22, 42, 77, 90).

Οι *in vitro* κυτταροκαλλιέργειες θεωρείται ότι ακολουθούν ένα γραμμικό πρότυπο ανάπτυξης. Δεδομένου ότι η σιγμοειδής συνάρτηση-εξίσωση λαμβάνει υπόψη τον περιορισμό σε πόρους ήτοι τροφή και χώρο, προβλέπει ότι ένας πληθυσμός κυττάρων θα φτάσει σε σταθερή κατάσταση μέσα σε ένα ορισμένο χρονικό διάστημα και τελικά θα πεθάνει. Στο υπόδειγμά μας, έχουμε εισαγάγει μια νέα σταθερά, καθιστώντας την τροφή άμεσα διαθέσιμη, αλλά διατηρώντας το χώρο σταθερό, σε σχέση με το συνολικό όγκο μέσα στον οποίο τα κύτταρα επιτρέποντο να αναπτυχθούν. Υπό αυτές τις συνθήκες, αντλούμε τις χρονοσειρές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, οι οποίες παρουσιάζουν απεριοδικές ταλαντώσεις. Ο μετασχηματισμός των (απεριοδικών) χρονοσειρών στο πεδίο του χώρου

φάσεων (με τις ακανόνιστες «βάλς» κυκλικές τροχιές), οι (θετικοί) δείκτες *Lyapunov*, καθώς επίσης και οι απεικονίσεις *Poincaré* (με τα σημεία στο S' να αποκλίνουν σε αρκετές τομές από το *limit cycle*) που πραγματοποιήσαμε επιβεβαιώνουν την χαοτική συμπεριφορά του δυναμικού αυτού συστήματος. Η εργασία μας παρέχει στοιχεία για ντετερμινιστικό χάος στην πολλαπλασιαστική συμπεριφορά των κυττάρων λευχαιμίας *in vitro*. Δεδομένου ότι αυτό είναι ένα πολύ περίπλοκο φαινόμενο, απαιτούνται πολύ περισσότερες προσπάθειες και μελέτες για να κατανοηθούν οι μηχανισμοί στους οποίους βασίζεται αυτή η δυναμική. Οι επιπτώσεις από την κατανόηση αυτών των συστημάτων είναι τεράστιες. Τα πειράματα αυτού του είδους και οι ανάλογες αναλύσεις, μπορούν να μας δώσουν μια εικόνα για τους μηχανισμούς της εξέλιξης της νόσου, όπως του καρκίνου, και θα μας επιτρέψει την αναπαραγωγή προηγμένων μοντέλων για τη νόσο, τα οποία συνδυάζουν σημαντικά χαρακτηριστικά τόσο των *in vitro* όσο και των *in vivo* συστημάτων.

Στην εργασία μας, αυτό που είδαμε ήταν ότι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός έχει πολύ σημαντικές ενδείξεις χαοτικών μοτίβων (93, 94). Όπως αναφεράμε και προηγουμένως, δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία άλλες μελέτες που να πραγματεύονται το αντικείμενο αυτό. Το γεγονός αυτό αποτελεί σημαντική ένδειξη ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την κατανόηση των χαοτικών μοτίβων στον καρκινικό κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τα βιολογικά συστήματα γενικότερα.

14. ANTI ΕΠΙΛΟΓΟΥ

«Ζήσε και δράσε, μέσα στον κόσμο σου σαν τον άνεμο, που ενώ μαστιγώνει όλα εκείνα με τα οποία συγκρούεται, συγχρόνως γεμίζει και ζωογονεί τα πάντα χωρίς να τα μάχεται.

Να θυμάσαι πως το μάζεμα της γνώσης δεν είναι αυτοσκοπός, αλλά το μέσον προσέγγισης της ψυχικής σου γαλήνης και τελείωσης. Για το άγγιγμα όμως της γαλήνης και της τελείωσης, δεν χρειάζεται παρά ο όγκος της γνώσης που το δοχείο του νου σου χωράει.

Αν το δοχείο παραγεμίσει, θα ξεχειλίσει και τότε θα χαθεί η ηρεμία και η γαλήνη που επιδιώκεις.

Κράτα το σώμα και τον νου ενωμένα, χωρίς να χάνεις της επαφή σου με την πραγματικότητα.

Προσέγγισε τα ιδανικά σου χωρίς να κρατάς παθητική στάση απέναντι στη ζωή.

Να δημιουργείς και να νοιάζεσαι για τους γύρω σου χωρίς να προβάλλεις κυριότητα και να ζητάς ανταμοιβή. Να καθοδηγείς χωρίς να εξουσιάζεις.

Για να βρίσκεσαι μπροστά στην εκτίμηση της κοινωνίας, την οποία οφείλεις να διδάσκεις με το παράδειγμά σου, πρέπει να την ακολουθείς. Για να βρίσκεσαι πάντα μέσα στη ροή των γεγονότων, θα πρέπει με συνέπεια να αυτοεξαιρείσαι. Μια ζωή στερημένη ιδιοτέλειας δίνει στον άνθρωπο το μεγαλύτερο όφελος.

Και πάνω από όλα μην ξεχνάς ότι δεν είσαι φτιαγμένος από λάσπη, αλλά από αστρόσκονη. Ο προορισμός σου δεν είναι η Γη, αλλά τα άστρα. Είσαι παιδί της ενέργειας και του χρόνου κι εκεί πρέπει να επιστρέψεις.»¹⁴ (95).

¹⁴ Απόσπασμα από το βιβλίο του Μ. Δανέζη «Έτσι Βλέπω τον Κόσμο: Η Επιστήμη του *Homo Universalis*», Εκδ. Διάυλος, Αθήνα 2012, σελ.21.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lambrou GI. COMMON IN VITRO AND IN VIVO GENE EXPRESSION OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM NEOPLASIAS IN THE DISCOVERY OF HEMATOLOGIC BIOMARKERS [PhD Thesis]. Athens: National and Kapodistrian University of Athens; 2013.
2. Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL, Strasser A. Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells. *Science* (New York, NY. 2007;317(5836):337.
3. Quaranta V, Weaver AM, Cummings PT, Anderson AR. Mathematical modeling of cancer: the future of prognosis and treatment. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2005;357(2):173-9.
4. Verhulst PH. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement. *Corresp mathématique et physique* 1838;10:113-21.
5. Pearl R, Reed LJ. On the Rate of Growth of the Population of the United States since 1790 and Its Mathematical Representation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1920;6(6):275-88.
6. Li TY, Yorke JA. Period three implies chaos. *American Mathematical Monthly*. 1975;82:985-92.
7. May RM. Biological populations with nonoverlapping generations: stable points, stable cycles, and chaos. *Science* (New York, NY. 1974;186(4164):645-7.
8. May RM. Simple mathematical models with very complicated dynamics. *Nature*. 1976;261(5560):459-67.
9. Wolfrom C, Chau NP, Maigne J, Lambert JC, Ducot B, Guerroui S, et al. Evidence for deterministic chaos in aperiodic oscillations of proliferative activity in long-term cultured Fao hepatoma cells. *Journal of cell science*. 2000;113 (Pt 6):1069-74.
10. Poincaré JH. Sur le problème des trois corps et les équations de la dynamique. Divergence des séries de M. Lindstedt. *Acta Mathematica*. 1890;13:1–270.
11. Newton I, Motte A, Machin J. *The Mathematical Principles of Natural Philosophy*. London: B. Motte; 1729.
12. Lorenz N. Deterministic Nonperiodic Flow. *Journal of the Atmospheric Sciences*. 1963;20(2):130-57.
13. von Neumann J, Morgenstern O. *Theory of Games and Economic Behaviour*. Princeton: Princeton University Press; 1944.
14. Nash JF. Equilibrium Points in N-Person Games. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1950;36(1):48-9.
15. Nash JF. The Bargaining Problem. *Econometrica*. 1950;18(2):155-62.
16. Nash JF. Two-Person Cooperative Games *Econometrica*. 1953;21(1):128-40.
17. Tomlinson IP. Game-theory models of interactions between tumour cells. *Eur J Cancer*. 1997;33(9):1495-500.
18. Bach LA, Bentzen SM, Alsner J, Christiansen FB. An evolutionary-game model of tumour-cell interactions: possible relevance to gene therapy. *Eur J Cancer*. 2001;37(16):2116-20.

19. Schrodinger E. Τι είναι ζωή: Ποπή; 1955.
20. Chou YH, Tiu CM, Hung GS, Wu SC, Chang TY, Chiang HK. Stepwise logistic regression analysis of tumor contour features for breast ultrasound diagnosis. *Ultrasound in medicine & biology*. 2001;27(11):1493-8.
21. Lambrou GI. Proliferation and Nonlinear Dynamics of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Revisited. *Handbook of Research on Trends in the Diagnosis and Treatment of Chronic Conditions*: IGI Global; 2016. p. 315-48.
22. Lambrou GI, Chatziioannou A, Vlahopoulos S, Moschovi M, Chrousos GP. Evidence for deterministic chaos in aperiodic oscillations of acute lymphoblastic leukemia cells in long-term culture. *Chaos Theory: Modeling, Simulation and Applications*: World Scientific; 2011. p. 239-46.
23. Morange M. *A History of Molecular Biology*: Harvard University Press; 1998.
24. Alberts B, Hopkin, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. *Essential Cell Biology*: Garland Science; 2010.
25. Urry C, Wasserman, Minorsky, Jackson, Reece. *Cambell Biology*: Π.Ε.Κ.; 2011.
26. Virginia Smith NT. *Le Corps humain : comment ça marche ?*: DK; 2016.
27. Lodish B, Kaiser, Matsudaira, Krieger, Scott, Zipursky, Darnel. *Molecular Cell Biology*2003.
28. R.L. Nussbaum RRM, H.F. Willard. *Genetics in Medicine*, Thompson & Thomson: Broken Hill; 2011.
29. M. Madigan JM, J.Parker. *Brock Biology of Microorganisms*: Pearson Education; 2003.
30. Αλεπόρου-Μαρίνου Α, Κομητοπούλου, Πιαλόγλου, Σγουρίτσα. *Βιολογία: ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ*; 2012.
31. M. Connor MF-S. *Essential Medical Genetics*: Πασχαλίδης; 2004.
32. D.L. Nelson MMC. *Lehninger Principles of Biochemistry*: Broken Hill; 2011.
33. Α.Μαργαρίτης ΒΓ, Κ.Κεραμάρης. *Βιολογία Κυττάρου: Λίτσας ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΚΔ.*; 2015.
34. J.Koolman K-HR. *Εγχειρίδιο Βιοχημείας*: Πασχαλίδης; 2007.
35. Σ.Ν.Αλαχιώτης. *Εισαγωγή στη Γενετική*: Α.Α.Λιβάνη; 2011.
36. G.M. Cooper REH. *The Cell (A Molecular Approach)*: ASM Press; 2011.
37. William S. Klug MRC, Charlotte A. Spencer, Michael A. Palladino. *Concepts of Genetics*: Pearson; 2015.
38. Β.Μαρμαράς ΜΑ-Μ. *Βιολογία Κυττάρου (Μοριακή προσέγγιση)*: ΤΥΡΟΡΑΜΑ; 2013.
39. Thomas D. Gelehrter FSC, David Ginsburg. *Principles of Medical Genetics*: Williams Wilkins; 2003.
40. Φ.Τζωρτζάτου-Σταθοπούλου. *ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ*: Πασχαλίδης; 1997.
41. Sifakis EG, Lambrou GI, Prentza A, Vlahopoulos S, Koutsouris D, Tzortzatou-Stathopoulou F, et al. Elucidating the identity of resistance mechanisms to prednisolone exposure in acute

- lymphoblastic leukemia cells through transcriptomic analysis: A computational approach. *Journal of clinical bioinformatics*. 2011;1:36.
42. Lambrou GI, Vlahopoulos S, Papathanasiou C, Papanikolaou M, Karpusas M, Zoumakis E, et al. Prednisolone exerts late mitogenic and biphasic effects on resistant acute lymphoblastic leukemia cells: Relation to early gene expression. *Leukemia research*. 2009;33(12):1684-95.
43. Miranda L, Wolf J, Pichuantes S, Duke R, Franzusoff A. Isolation of the human PC6 gene encoding the putative host protease for HIV-1 gp160 processing in CD4+ T lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(15):7695-700.
44. Naujokat C, Sezer O, Zinke H, Leclere A, Hauptmann S, Possinger K. Proteasome inhibitors induced caspase-dependent apoptosis and accumulation of p21WAF1/Cip1 in human immature leukemic cells. *European journal of haematology*. 2000;65(4):221-36.
45. Foley GE, Lazarus H, Farber S, Uzman BG, Boone BA, McCarthy RE. Continuous Culture of Human Lymphoblasts from Peripheral Blood of a Child with Acute Leukemia. *Cancer*. 1965;18:522-9.
46. Uzman BG, Foley GE, Farber S, Lazarus H. Morphologic variations in human leukemic lymphoblasts (CCRF-CEM cells) after long-term culture and exposure to chemotherapeutic agents. A study with the electron microscope. *Cancer*. 1966;19(11):1725-42.
47. Sandstrom PA, Buttke TM. Autocrine production of extracellular catalase prevents apoptosis of the human CEM T-cell line in serum-free medium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(10):4708-12.
48. Τ.Μπουντής. Ο θαυμαστός κόσμος των Fractal: Leader Books; 2004.
49. Gleick J. Χάος, μια νέα επιστήμη: Κάτοπτρο; 1990.
50. H.J. Korsch HJ, T. Hartmann. Chaos: Springer; 2007.
51. Korsch HJ, Jodl H-J, Hartmann T. Chaos: a program collection for the PC: Springer Science & Business Media; 2007.
52. K.T.Alligood TDS, J.A.Yorke. Chaos, an Introduction to dynamical systems: Springer; 1996.
53. Gleick J. Chaos: Making a new science: Open Road Media; 2011.
54. E.N.Lorenz. The Essence of Chaos: University of Washington Press; 1993.
55. Μπουντής Α. ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΧΑΟΣ: Παπασωτηρίου; 1995.
56. Mukul Majumdar TM, Kazuo Nishimura. Optimization and Chaos Springer; 2000.
57. W Sulis (McMaster University CaACUoNC, USA). Nonlinear Dynamics in Human Behavior: WorldScientific; 1996.
58. Lotka AJ. Contribution to the Theory of Periodic Reaction. *J Phys Chem*. 1910;14(3):271–4.
59. Lotka AJ. Analytical Note on Certain Rhythmic Relations in Organic Systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1920;6(7):410-5.

60. Volterra V. Variation and fluctuations of the number of individuals of animal species living together. *Animal Ecology*: McGraw-Hill; 1926.
61. Μάνος ΔΑΝΕΖΗΣ ΣΘ. Η ΚΟΣΜΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΝΟΗΣΗΣ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΚΟΣΜΟΛΟΓΙΑ: Διάυλος; 2003.
62. G.L. Baker TPG. *Chaotic Dynamics*: Cambridge University Press;; 1998.
63. D. Kaplan LG. *Understanding Nonlinear Dynamics*: Springer; 1995.
64. D.K. Arrowsmith CMP. *An Introduction to Dynamical Systems* Cambridge University Press; 1990.
65. ΠΑΠΑΙΩΑΝΝΟΥ ΠΓ. ΧΑΟΤΙΚΕΣ ΧΡΟΝΟΣΕΙΡΕΣ - ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΑΞΗ: LEADER BOOKS; 2000.
66. R.H. Abraham LG, G.Mira. *Chaos in discrete Dynamical Systems*: Springer; 1997.
67. M. Lakshmanan KM. *Chaos in Nonlinear Oscillators: Controlling and Synchronization*: World Scientific; 1996.
68. Tu PNV. *Dynamical Systems: An Introduction with Applications in Economics and Biology*: Springer; 1994.
69. D. Jordan PS. *Nonlinear Ordinary Differential Equations*. Oxford University Press 2007.
70. TRINH X-T. *LE CHAOS ET L' HARMONIE*: ΤΡΑΥΛΟΣ; 2004.
71. Jim Al-Khalili JM. *Life on the Edge (The coming of age of Quantum Biology)* - Ζωή στην κόψη (Κβαντική Βιολογία): ΤΡΑΥΛΟΣ; 2015.
72. Watson B, Bell, Gann, Losisc, Levine. *Molecular Biology of the Gene*: Pearson; 2014.
73. Wiggins S. *Introduction to Applied Nonlinear Dynamical Systems and Chaos*: Springer; 2003.
74. Al-Khalili J. The birth of the electric machines: a commentary on Faraday (1832) 'Experimental researches in electricity'. *Philosophical transactions Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*. 2015;373(2039).
75. Prigogine I. *Chemical kinetics and dynamics*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003;988:128-32.
76. Ιωάννης ΑΙΣ. *ΑΙΤΙΟΚΡΑΤΙΚΟ ΧΑΟΣ*. 2011.
77. Lambrou GI, Chatziioannou A, Adamaki M, Moschovi M, Koulouki E, Karakonstantakis T, et al., editors. Studying the nonlinearities of T-cell leukemia growth and the underlying metabolism upon glucocorticoid treatment through the application of dynamic mathematical methodologies. *Information Technology and Applications in Biomedicine (ITAB), 2010 10th IEEE International Conference on*; 2009 3-5 Nov. 2010.
78. Alligood KT, Sauer T. *Chaos: An Introduction to Dynamical Systems*. New York: Springer Verlag; 2000.
79. Strogatz SH. *Nonlinear Dynamics and Chaos*: CRC Press; 2000.
80. Beltrami E. *Mathematics for Dynamic Modeling*: Academic Press; 1997.

81. Mueller PC. Calculation of Lyapunov Exponents for Dynamic Systems with Discontinuities. Elsevier Science. 1995.
82. Gatenby RA, Vincent TL. An evolutionary model of carcinogenesis. *Cancer research*. 2003;63(19):6212-20.
83. Gatenby RA, Vincent TL. Application of quantitative models from population biology and evolutionary game theory to tumor therapeutic strategies. *Molecular cancer therapeutics*. 2003;2(9):919-27.
84. Liu Q, Liu Z. Malignancy through cooperation: an evolutionary game theory approach. *Cell proliferation*. 2012;45(4):365-77.
85. Axelrod R, Axelrod DE, Pienta KJ. Evolution of cooperation among tumor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(36):13474-9.
86. Hammond RA, Axelrod R. Evolution of contingent altruism when cooperation is expensive. *Theoretical population biology*. 2006;69(3):333-8.
87. Safin V, Locey ML, Rachlin H. Valuing rewards to others in a prisoner's dilemma game. *Behavioural processes*. 2013;99:145-9.
88. Taylor PD, Jonker LB. Evolutionary stable strategies and game dynamics. *Mathematical Biosciences*. 1978;40(1β€“2):145-56.
89. Imhof LA. THE LONG-RUN BEHAVIOR OF THE STOCHASTIC REPLICATOR DYNAMICS. *The Annals of Applied Probability*. 2005;15(1B):1019-45.
90. Lambrou GI, Zaravinos A, Adamaki M, Vlahopoulos S. SYSTEMS MODELLING OF PROLIFERATION MECHANISMS IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA. In: Moumtzoglou A, Kastania A, editors. *E-Health Technologies and Improving Patient Safety: Exploring Organizational Factors*. Hershey PA: IGI Global; 2012.
91. Coulter W, editor *High speed automatic blood cell counter and size analyzer*. Proc Natl Electronics Conf; 1956.
92. Mackey MC, Glass L. Oscillation and chaos in physiological control systems. *Science (New York, NY)*. 1977;197(4300):287-9.
93. Tucker W. Computing accurate Poincaré maps. *Physica D: Nonlinear Phenomena*. 2002;171(3):127-37.
94. Moghtadaei M, Hashemi Golpayegani MR, Malekzadeh R. Periodic and chaotic dynamics in a map-based model of tumor-immune interaction. *Journal of theoretical biology*. 2013;334:130-40.
95. Δανέζης Μ, Θεοδοσίου Σ. Έτσι βλέπω τον κόσμο.