

Εθνικό Μετσοβίο Πολύτεχνειο Σχολή Ηλεκτρολογών Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών Τομέας Συστηματών Μεταδοσής Πληροφορίας και Τεχνολογίας Υλικών

Μελέτη της επίδρασης του βαρυτικού πεδίου στη γονιδιακή έκφραση και ρύθμιση με τη χρήση υπολογιστικών προτύπων και μεθόδων μηχανικής μάθησης



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Κωνσταντίνος Ι. Αδαμόπουλος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός & Μηχανικός Υπολογιστών, Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2025



Εθνικό Μετσοβίο Πολύτεχνειο Σχολή Ηλεκτρολογών Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών Τομέας Συστηματών Μεταδοσής Πληροφορίας και Τεχνολογίας Υλικών

Μελέτη της επίδρασης του βαρυτικού πεδίου στη γονιδιακή έκφραση και ρύθμιση με τη χρήση υπολογιστικών προτύπων και μεθόδων μηχανικής μάθησης

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Κωνσταντίνος Ι. Αδαμόπουλος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός & Μηχανικός Υπολογιστών, Ε.Μ.Π.

Συμβουλευτική Επιτροπή : Δημήτριος – Διονύσιος Κουτσούρης (Επιβλέπων) Γεώργιος Ματσόπουλος Παναγιώτης Τσανάκας

Εγκρίθηκε από την επταμελή εξεταστική επιτροπή την 3^η Ιουνίου 2025.

Δημήτριος Κουτσούρης Καθηγητής Ε.Μ.Π. Γεώργιος Ματσόπουλος Καθηγητής Ε.Μ.Π. Παναγιώτης Τσανάκας Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθανάσιος Παναγόπουλος Καθηγητής Ε.Μ.Π. Ευάγγελος Χριστοφόρου Καθηγητής Ε.Μ.Π. Παντελεήμων Ασβεστάς Καθηγητής ΠΑ.Δ.Α.

Κωνσταντίνος Δελήμπασης Καθηγητής Π.Θ.

ΑΘΗΝΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2025

.....

(Υπογραφή)

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι. ΑΔΑΜΟΠΟΥΛΟΣ

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

Copyright © Κωνσταντίνος Ι. Αδαμόπουλος, 2025 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 στη 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.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι επερχόμενες αποστολές εξερεύνησης του βαθέος διαστήματος από τον άνθρωπο καθιστούν αναγκαία την εις βάθος κατανόηση των επιπτώσεων των συνθηκών διαστημικής πτήσης στα ανθρώπινα φυσιολογικά συστήματα. Η πολυπλοκότητα των έμβιων οργανισμών σχετίζεται άμεσα με την πολυπλοκότητα του περιβάλλοντος που τους υποστηρίζει. Υπό αυτό το πρίσμα, η βαρύτητα δεν φαίνεται να καμπυλώνει μόνο το χωροχρονικό συνεχές.

Το αποθετήριο ελεύθερης επιστήμης NASA GeneLab Open Science Repository (OSDR; <u>https://osdr.nasa.gov/bio/</u>) χρησιμεύει ως πολύτιμη πηγή πληροφοριών, φιλοξενώντας δεδομένα που προέρχονται από πρότυπους οργανισμούς και ανθρώπινα πειράματα που διεξήχθησαν σε διαστημικές πτήσεις και χερσαία ανάλογα μικροβαρύτητας. Οι εφαρμογές Μηχανικής Μάθησης δύνανται να μεγιστοποιήσουν τη βέλτιστη αξιοποίηση των υφιστάμενων δεδομένων με σκοπό την κατανόηση και τελικά την αντιμετώπιση των φυσιολογικών ανωμαλιών κατά τη διάρκεια μακροχρόνιων αποστολών.

Στην πλαίσιο της παρούσας μελέτη, εντοπίσαμε εμπλουτισμένους όρους και μονοπάτια (pathway enrichment analysis) που σχετίζονται με σημαντικά διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια σε κάθε οργανισμό και μεταξύ ορθόλογων γονιδίων. Επιπρόσθετα, κατασκευάσαμε AI-ready (έτοιμα για εφαρμογή αλγόριθμου Τεχνητής Νοημοσύνης) συγχωνευμένα μετασύνολα δεδομένων που αποτελούνται από μυοσκελετικούς ιστούς από τους οργανισμούς Mus musculus και Homo sapiens, ενώ παράλληλα εφαρμόσαμε πολλαπλά μοντέλα επιβλεπόμενης μάθησης (Supervised Learning) για την ταξινόμηση σημαντικά υπερεκφραζόμενων και υποεκφραζόμενων γονιδίων. Εν συνεχεία, διερευνήσαμε την έννοια της Μάθησης Mεταφοράς (Transfer Learning) με την προ-εκπαίδευση ενός μοντέλου στο σύνολο δεδομένων Homo sapiens.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αναδεικνύει τις σημαντικές βιολογικές επιπτώσεις των τροποποιημένων συνθηκών βαρύτητας στην έκφραση γονιδίων και την απορρύθμιση βιολογικών μονοπατιών. Τα ευρήματα στον οργανισμό Mus musculus υποδεικνύουν διαταραχή στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, τη συσχέτιση απορρυθμισμένων σηματοδοτικών οδών με την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου, καθώς και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων φλεγμονών και διαβητικών επιπλοκών. Αντίστοιχα, στον οργανισμό Homo sapiens, τα αποτελέσματα σχετίζονται με συστημικές μεταβολικές διαταραχές, την κυτταρική γήρανση, τον σακχαρώδη διαβήτη, την εξασθένηση μηχανισμών

επιδιόρθωσης ιστών και καρδιαγγειακές ευπάθειες, όπως η κοιλιακή ταχυκαρδία και το σύνδρομο long QT. Η συγκριτική μετα-ανάλυση των ορθόλογων γονιδίων μεταξύ των ειδών αποκαλύπτει διατηρημένα μονοπάτια που επηρεάζουν την ακεραιότητα των μυών και του σκελετού, τη μεταβολική ομοιόσταση, τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις, την ομαλή λειτουργία των νεφρών και της καρδιάς. Αυτές οι βιολογικές επιπτώσεις υπογραμμίζουν την ανάγκη για στοχευμένα αντίμετρα, προκειμένου να μετριαστούν οι συστημικοί και μακροπρόθεσμοι κίνδυνοι για την υγεία των οργανισμών που βιώνουν τις συνθήκες μικροβαρύτητας κατά τη διάρκεια παρατεταμένων διαστημικών πτήσεων. Τέλος, η παρούσα μελέτη προβάλλει τη δυναμική αξιοποίησης μεθοδολογιών Μηχανικής Μάθησης, καθώς και Μεταφοράς Μάθησης σχετικά με την αντιμετώπιση των προκλήσεων ανάλυσης ειδικών συνόλων δεδομένων στο πλαίσιο της διαστημικής έρευνας με απώτερο σκοπό τη γεφύρωση των διαφορών μεταξύ των ειδών, διευκολύνοντας τη μεταφορά γνώσης από μοντέλα οργανισμούς στο ανθρώπινο είδος παρακάμπτοντας την τροχοπέδη που θέτει ο περιορισμένος όγκος ανθρώπινων δεδομένων.

Λέξεις κλειδιά: Διαστημική πτήση; Μικροβαρύτητα; Διαστημική Βιολογία; Μικροσυστοιχίες; Διαφορική Γονιδιακή Έκφραση; Μηχανική Μάθηση; Ταξινόμηση; Μυοσκελετικό σύστημα; Αυτή η σελίδα είναι σκόπιμα λευκή.

ABSTRACT

The upcoming human deep-space exploration missions necessitate an in-depth understanding of the effects of spaceflight conditions on human physiological systems. The complexity of organisms is directly linked to the complexity of the environment that sustains them. It appears that gravity not only curves the space-time continuum but also the biological continuum.

The NASA GeneLab Open Science Repository (OSDR) (https://osdr.nasa.gov/bio/) serves as a valuable resource, hosting data derived from model organisms and human experiments conducted during spaceflights and terrestrial microgravity analogs. Machine Learning applications have the potential to maximize the optimal utilization of existing datasets to understand and ultimately mitigate physiological abnormalities during long-duration missions.

In this study, we identified enriched terms and pathways associated with significantly differentially expressed genes in each organism and across orthologous genes. Additionally, we constructed AI-ready merged meta-datasets consisting of musculoskeletal tissues from Mus musculus and Homo sapiens, while simultaneously applying multiple Supervised Learning models to classify significantly overexpressed and underexpressed genes. Furthermore, we explored Transfer Learning by pre-training a model on the Mus musculus dataset and subsequently fine-tuning it on the Homo sapiens dataset.

This doctoral dissertation highlights the significant biological impacts of altered gravity conditions on gene expression and the dysregulation of biological pathways. The findings in Mus musculus indicate disruptions in cell cycle regulation, associations between dysregulated signaling pathways and cancer development, as well as an increased risk of chronic inflammation and diabetic complications.

Correspondingly, in Homo sapiens, the results point to systemic metabolic disorders, cellular aging, diabetes, impaired tissue repair mechanisms, and cardiovascular vulnerabilities, such as ventricular tachycardia and long QT syndrome. The comparative meta-analysis of orthologous genes between species reveals conserved pathways affecting muscle and skeletal integrity, metabolic homeostasis, inflammatory responses, kidney and heart function. These biological impacts emphasize the need for targeted countermeasures to mitigate the systemic and long-term health risks for organisms experiencing microgravity conditions during extended spaceflights.

Finally, this study showcases the potential of leveraging Machine Learning and Transfer Learning methodologies to address the challenges of analyzing specialized datasets in space research. The ultimate goal is to bridge the gap between species, facilitating knowledge transfer from model organisms to humans, and overcoming the limitations imposed by the scarce availability of human data.

Keywords: Spaceflight; Microgravity; Space Biology; Microarrays; Differential Gene Expression; Machine Learning; Classification; Musculoskeletal system;

Αυτή η σελίδα είναι σκόπιμα λευκή.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα μου, Ομότιμο Καθηγητή Δημήτριο-Διονύσιο Κουτσούρη για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω διδακτορικές σπουδές στο Εργαστήριο Βιοϊατρικής Τεχνολογίας του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω τους Καθηγητές Ε.Μ.Π., Γιώργο Ματσόπουλο (Διευθυντή του Εργαστηρίου Βιοϊατρικής Τεχνολογίας) και Παναγιώτη Τσανάκα (Κοσμήτορα της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Ε.Μ.Π.) για τη συμμετοχή τους στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή της διδακτορικής διατριβής μου, καθώς και τους Καθηγητές Αθανάσιο Παναγόπουλο (Ε.Μ.Π.), Ευάγγελο Χριστοφόρου (Ε.Μ.Π.), Παντελεήμωνα Ασβεστά (Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής) και Κωνσταντίνο Δελήμπαση (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας) για τη συμμετοχή τους στην Επιτροπή.

Θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στον μέντορά μου Δρ. Γιώργο Λάμπρου, με τον οποίο ξεκίνησα το ερευνητικό μου ταξίδι τον Οκτώβριο του 2018 πραγματοποιώντας τη διπλωματική μου εργασία πάνω σε πείραμα που είχε διεξάγει. Οι ακόρεστες και γεμάτες έμπνευση συζητήσεις μας, η αστείρευτη ερευνητική του δίψα, καθώς και η καθοδήγησή του αποτέλεσαν τον ακρογωνιαίο λίθο της ερευνητικής αυτής διαδρομής.

Θερμά ευχαριστώ, μέσα από την καρδιά μου, στην Δρ. Ράνια Πετροπούλου για την ανιδιοτελή, ατέρμονη συμπαράσταση και υποστήριξη σε επιστημονικό και ψυχολογικό επίπεδο μέχρι την ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ πολύ όλους τους συναδέλφους του Εργαστηρίου Βιοϊατρικής Τεχνολογίας του Ε.Μ.Π. για τη συνεργασία μας. Ιδιαίτερα τον Μιχάλη και τη Μαριλένα (Δρ. Μιχάλης Σαραφίδης, Δρ. Μαριλένα Ταρούση) για τις ειλικρινείς συμβουλές τους τα πρώτα χρόνια των διδακτορικών μου σπουδών.

Είμαι βαθιά ευγνώμων στον Δρ. Sylvain Costes (Επικεφαλής του Space Biosciences Research Branch και GeneLab Project Manager, NASA Ames Ερευνητικό Κέντρο) και στην Δρ. Lauren Sanders (Acting Project Scientist, NASA OSDR), οι οποίοι επέβλεψαν το ερευνητικό μου έργο ως επισκέπτης ερευνητής στις Η.Π.Α. (Fulbright Scholar, Visiting Researcher) και με καθοδήγησαν υποδειγματικά αναφορικά με την αξιοποίηση, μέσω μεθόδων Μηχανικής Μάθησης και Βιοπληροφορικής, των πειραματικών δεδομένων Διαστημικής Βιολογίας που φιλοξενούνται στο GeneLab OSDR. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δημήτρη Λάσκο (University of Amsterdam) για την επίβλεψή του στο πεδίο των Προγραμματιστικών μεθοδολογιών, καθώς και τον Δρ. Κωνσταντίνο

Κωνσταντή, τον Υπ. Δρ. Βασίλη Μανουρά, τον Ευάγγελο Καβαλιώτη, την Πέννυ Αδαμοπούλου, τον Αντώνη Κατσαρό, την Πηνελόπη Καλογεροπούλου και τον Θοδωρή Βυλτανιώτη-Βυργιώτη για τη συνεχή αλληλεπίδραση σχετικά με τη διδακτορική μου διατριβή. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στους αγαπημένους μου ανθρώπους από το οικογενειακό και φιλικό μου περιβάλλον που στάθηκαν και στέκονται πάντα δίπλα μου. Αυτή η σελίδα είναι σκόπιμα λευκή

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| ПЕРІЛН | ΨН | 5 |
|---------------|--|-------------|
| ABSTRA | .CT | 8 |
| EYXAPI | ΣΤΙΕΣ | 11 |
| ΠΕΡΙΕΧ | OMENA | 14 |
| ПINAKA | ΔΣ ΕΙΚΟΝΩΝ | 16 |
| ΓΛΩΣΣΑ | APIO | 23 |
| ΠΡΟΛΟΙ | ΓΟΣ | 26 |
| ΜΕΡΟΣ | Ι - ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 27 |
| 1. ΕΙΣ | ΑΓΩΓΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ | 28 |
| 1.1. | ПРООІМІО | . 28 |
| 1.2. | Η ΝΕΑ ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΗ ΕΠΟΧΗ (SECOND SPACE AGE) | . 29 |
| 1.3. | ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ | . 31 |
| 2. ГEN | ΝΩΜΑ ΚΑΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ | 32 |
| 2.1. | ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ | . 32 |
| 2.2. | ΤΟ ΓΕΝΩΜΑ | . 34 |
| 2.3. | Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ | . 40 |
| 2.4. | ΑΠΟ ΤΟ ΓΕΝΩΜΑ ΣΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ | . 46 |
| 2.5. | ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ | . 50 |
| 2.6. | ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΗ ΕΞΕΛΕΚΤΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΚΒΑΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ | 53 |
| 3. ME | ΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ | 56 |
| 3.1. | ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΕΙΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ | . 56 |
| 3.2. | ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ | . 57 |
| 3.3. | ΠΛΑΤΦΟΡΜΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ | 60 |
| 4. MIH | KPOBAPYTHTA | 65 |
| 4.1. | ATTO TON Θ AAH KAI TON H Σ IO Δ O Σ TON EINSTEIN KAI Σ TON POINCARE | . 65 |
| 4.2. | Η ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΩΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ | . /1 |
| 4.3. | ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΜΙΚΡΟΒΑΡΥΤΗΤΑΣ | . 74 |
| 4.4. | ΣΤΡΕΣΟΙ ΟΝΟΙ ΠΑΡΑΙ ΟΝΤΕΣ ΣΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ | . // |
| 4.5. KATE` | ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚ ΥΘΥΝΣΕΙΣ | .ΕΣ . 79 |
| 5. BAX | ΣΕΙΣ ΑΕΛΟΜΕΝΩΝ ΑΙΑΣΤΗΜΙΚΩΝ ΒΙΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ | 82 |
| 5.1. | Η ΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΚΡΟΙΦ | . 82 |
| 5.2. | ANOIKTH EIIIZTHMH (OPEN SCIENCE). | . 83 |
| 5.3. | BAΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ GENELAB OSDR | . 85 |
| 6. BIO | ЛЛАНРОФОРІКН | 91 |
| 6.1. | ΟΡΙΣΜΟΣ | . 91 |
| 6.2. | ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ | , 94 |
| 7. MH | ΧΑΝΙΚΗ ΜΑΘΗΣΗ | 97 |
| 7.1. | ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ, ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΕΣ ΒΙΟΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙ | KH |
| ΜΑΘΗ | łΣH | . 97 |
| 7.2. | ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ | . 99 |

| ΜΕΡΟΣ Π-ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ111 |
|--|
| 8. ΡΟΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ112 |
| 9. ΕΞΟΡΥΞΗ, ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΣΧΕΤΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ114 |
| 10. ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ117 |
| 11. ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΛΟΜΕΝΩΝ118 |
| 12. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ, ΕΥΡΕΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ119 |
| 13. ΣΥΓΧΩΝΕΥΜΕΝΑ ΣΥΝΟΛΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΥΜΒΑΤΑ ΜΕ ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ (AI-READY MERGED DATASETS)121 |
| 14. ΤΑΞΙΝΟΜΗΤΕΣ ΕΠΙΒΛΕΠΟΜΕΝΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΜΑΘΗΣΗΣ (TRANSFER LEARNING)122 |
| ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ124 |
| 15. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΜΕΝΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΣΤΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ 125 15.1. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΙΚΡΟΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΣΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ MUS MUSCULUS ΚΑΙ HOMO SAPIENS 125 15.2. Η ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ 139 |
| 16. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΙΣΤΩΝ142 |
| 17. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΡΘΟΛΟΓΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ, ΕΜΠΛΟΤΙΣΜΕΝΟΙ ΟΡΟΙ ΚΑΙ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ154 |
| 18. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ163 |
| ΜΕΡΟΣ ΙV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ177 |
| 19. ΣΥΖΗΤΗΣΗ178 |
| 20. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ |
| 21. ANTI ЕПІЛОГОУ |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ188 |
| ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα εξώφυλλου

Η Πληροφορία & το βιολογικό-χωροχρονικό συνεχές.

Η Εικόνα δημιουργήθηκε με τη χρήση πλατφόρμας AI Image Generator.¹

| Εικόνα 2. Διακριτά όρια μικροσκοπίων |
|--|
| Εικόνα 3. Φωτογραφία 51 (Franklin & Gosling, Nature, 1953) ¹⁸ |
| Εικόνα 4. Ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα |
| Εικόνα 5. Η πληροφορία αποτελείται από πέντε χημικά στοιχεία: C, O, H, N, P |
| Εικόνα 6. Πεντόζες ριβόζης και δεοξυριβόζης |
| Εικόνα 7. Δομές έλικας DNA, (a) δομή β-DNA όπως αυτή προτάθηκε από τους Watson και Crick το 1953, (b) Οι δομές α, β, και ζ-DNA |
| Εικόνα 8. Το DNA συμπιεσμένο σε μορφή χρωμοσώματος στον κυτταρικό πυρήνα |
| Εικόνα 9. Καρυότυπος ανθρώπινου οργανισμού |
| Εικόνα 10. Λειτουργία RNA πολυμεράσης κατά τη μεταγραφή |
| Εικόνα 11. Μεταγραφή, μετάφραση, εσόνια και εξόνια |
| Εικόνα 12. Σχηματική αναπαράσταση των ρόλων των διαφόρων κατηγοριών ρυθμιστικών στοιχείων |
| Εικόνα 13. Είδη RNAs |
| Εικόνα 14. Από την πληροφορία στην πρωτεΐνη |
| Εικόνα 15. (a) Η αλληλουχία των αμινοξέων τους αποτελεί την πρωτοταγή δομή (primary |

¹ <u>https://pixlr.com/gr/image-generator/</u>

| Εικόνα 19. Κβαντικά φαινόμενα στη βιολογία | . 55 |
|--|------|
| Εικόνα 20. Μέθοδοι ανάλυσης γονιδιακής έκφρασης σε miRNA | . 56 |

Εικόνα 22. Σχηματική επισκόπηση πειράματος μικροσυστοιχίας δύο χρωμάτων και ενός χρώματος Affymetrix a) Σε ένα πείραμα δύο χρωμάτων, χρησιμοποιούνται αντικειμενοφόροι πλάκες μικροσυστοιχίας επικαλυμμένες με 15.000 ολιγονουκλεοτίδια 70-μερών. Ίσες ποσότητες δύο δειγμάτων RNA ενισχύονται και επισημαίνονται με διαφορετικές φθορίζουσες και υβριδοποιούνται σε μία μικροσυστοιχία (το ένα δείγμα (π.χ. έλεγχος, control) επισημαίνεται με Cy3 (πράσινο) και το δείγμα 2 (π.χ. συνθήκη μικροβαρύητας) επισημαίνεται με Cy5 (κόκκινο)). b) Τα τσιπ μικροσυστοιχίας Affymetrix περιέχουν πολλαπλούς ανιχνευτές 10μερών ανά μετάγραφο.

Εικόνα 33. Χαρακτηριστικά αναζήτησης OSDR. Η σελίδα του αποθετηρίου OSDR είναι εξοπλισμένη με μια μπάρα αναζήτησης για αναζήτηση με βάση λέξεις-κλειδιά ή φράσεις (επάνω στη μέση). Οι χρήστες μπορούν να κάνουν αναζήτηση με βάση φίλτρα αναζήτησης, συμπεριλαμβανομένης της πηγής δεδομένων (π.χ. GeneLab, ALSDA ή αναζήτηση στο NIH GEO), του τύπου δεδομένων (π.χ. μελέτη, πείραμα και θέμα), του τύπου έργου (π.χ. επίγεια, διαστημική πτήση), του τύπου δοκιμής (π.χ. π.χ. bisulfite sequencing, behavior-gait, RNA-seq), οργανισμός (π.χ. τρωκτικό, άνθρωπος και φυτό), ιστός (π.χ. ήπαρ, ρίζα και κύτταρα) και παράγοντας (π.χ. διαστημική πτήση, ιονίζουσα ακτινοβολία) (αριστερά). Τα αποτελέσματα της αναζήτησης εμφανίζονται και μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τη συνάφεια, την ημερομηνία έκδοσης, την Εικόνα 34 Μετρικές OSDR. Επισκόπηση των μελετών που φιλοξενούνται στο OSDR έως τον Εικόνα 35. Η βάση δεδομένων του GeneLab και οι συνδέσεις της με ενδο- και εξω-ιδρυματικά συστήματα. Το ΑΡΙ της βάσης δεδομένων αξιοποιείται εκτενώς από τα στοιχεία των συστημάτων δεδομένων του GeneLab: τη διεπαφή web browser της βάσης δεδομένων (A), το εργαλείο online καταχώρησης δεδομένων του GeneLab (B), ένα εργαλείο χώρου εργασίας για την ιδιωτική κοινή χρήση δεδομένων (Γ) και τον διακομιστή απεικόνισης δεδομένων του GeneLab (Δ). Το API της βάσης δεδομένων χρησιμοποιείται επίσης για την τροφοδοσία διαφόρων εργαλείων ανάλυσης και οπτικοποίησης εξωπανεπιστημιακών δεδομένων (Ε, F). Η δημόσια πλατφόρμα ανάλυσης του GeneLab (G) και τα συστήματα επεξεργασίας δεδομένων (Η) έχουν άμεση πρόσβαση στα αρχεία Εικόνα 38. Απομάκρυνση outliers (ακραίων δειγμάτων) μέσω εφαρμογής μεθόδων οπτικοποίησης ποιοτικού ελέγχου, όπως διαγνωστικά διαγράμματα (π.χ., PCA plots, boxplot κατανομής εντάσεων Εικόνα 39. Παράδειγμα Α) χάρτη θερμότητας (heatmap), B) διαγράμματος διασποράς (volcano Εικόνα 47. Σχήματα για τον νευρώνα του ανθρώπινου εγκεφάλου και ένα τεχνητό νευρωνικό Εικόνα 49. Πίνακας σύγχυσης για ένα πρόβλημα δυαδικής κλάσης και μετρικές επίδοσης...... 109 Εικόνα 51. Καμπύλες υπερμοντελοποίησης και υπομοντελοποίησης στο διάγραμμα πολυπλοκότητας μοντέλου και σφάλματος......110

Εικόνα 53. Σχεδιασμός και αποτελέσματα αναζήτησης στο αποθετήριο δεδομένων OSDR...... 115

Εικόνα 55. Βιοπληροφορική πλατφόρμα DAVID, σύνοψη λειτουργικών επισημειώσεων.......... 121

Εικόνα 57. Επισκόπηση των επιπτώσεων των συνθηκών μικροβαρύτητας στα φυσιολογικές συστήματα των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens συμπεριλαμβάνοντας μεταβολές στο μυοσκελετικό, ανοσοποιητικό, καρδιαγγειακό, αιθουσαίο, δερματικό και νευρικό σύστημα. 138

Εικόνα 58. OSD-21 calf. Τα γονίδια με log2-fold change $(\log_2 FC)$ πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 59. OSD-21 gastrocnemius. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 60. OSD-125 tongue. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 61. OSD-111 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 62. OSD-135 longissimus dorsi. Τα γονίδια με log2-fold change (log_2FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή –1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 64. OSD-227 gastrocnemius. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια

Εικόνα 65. OSD-227 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 66. OSD-51 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log_2FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 67. OSD-51 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 68. OSD-370 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change (log_2FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή –1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 69. OSD-195 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change (log_2FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή –1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Εικόνα 73. Οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) όλων των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων που παρουσιάζουν υποέκφραση σε δύο τύπους ιστών σε σύνολα δεδομένων του μυοσκελετικού

Εικόνα 76. Χάρτης θερμότητας των σημαντικά απορρυθμισμένων γονιδίων στο Mus musculus. Τα γονίδια που είναι σκιασμένα με σκούρο πράσινο χρώμα, υποδεικνύουν υψηλή ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1,5, ενώ τα γονίδια που είναι σκιασμένα με ανοιχτό πράσινο χρώμα υποδεικνύουν ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1. Γονίδια με τιμή logFC μεταξύ -1 και 1 θεωρούνται μη σημαντικά απορρυθμισμένα. Αντίθετα, τα γονίδια που σκιάζονται με σκούρο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν γονίδια με έντονη καθοδική ρύθμιση με τιμή logFC κάτω από -1,5. Οι αναλύσεις και τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο Heatmap, πραγματοποιήθηκαν λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα 50 κορυφαία γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά ανά μελέτη ή σύνολο δεδομένων.

Εικόνα 78. Χάρτης θερμότητας των σημαντικά δυσρυθμισμένων γονιδίων στον Homo sapiens. Τα γονίδια που είναι σκιασμένα με σκούρο πράσινο χρώμα, υποδεικνύουν υψηλή ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1,5, ενώ τα γονίδια που είναι σκιασμένα με ανοιχτό πράσινο χρώμα υποδεικνύουν ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1. Γονίδια με τιμή logFC μεταξύ -1 και 1 θεωρούνται μη σημαντικά δυσρυθμισμένα. Αντίθετα, τα γονίδια που σκιάζονται με σκούρο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν γονίδια με έντονη καθοδική ρύθμιση με τιμή logFC κάτω από - 1,5. Οι αναλύσεις και τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο Heatmap, πραγματοποιήθηκαν λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα 50 κορυφαία γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά ανά μελέτη ή σύνολο δεδομένων.

Εικόνα 79. Εμπλουτισμένοι όροι και μονοπάτια διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων στον οργανισμό Homo sapiens. Στον πίνακα α παρουσιάζονται οι εμπλουτισμένοι όροι των υπερεκφραζόμενων γονιδίων, ενώ στον πίνακα b οι εμπλουτισμένοι όροι των υποεκφραζόμεων γονιδίων. Οι αντίστοιχοι εμπλουτισμένοι όροι της γονιδιακής οντολογίας και τα μονοπάτια KEGG απεικονίζονται στη δεξιά πλευρά κάθε πάνελ, ενώ τα σχετικά γονίδια εμφανίζονται στο κάτω μέρος. Το σκούρο πράσινο χρώμα υποδεικνύει τις συσχετίσεις μεταξύ γονιδίων και εμπλουτισμένων όρων ή μονοπατιών.

Εικόνα 80. Αναγνώριση των κοινώς διαφορικά εκφραζόμενων ορθόλογων γονιδίων μεταξύ συνόλων δεδομένων ποντικού και ανθρώπου. Τα γονίδια που παρουσιάζουν κοινή αυξημένη έκφραση σε πολλούς ιστούς επισημαίνονται με πράσινο στη λίστα αριστερά, ενώ τα κοινώς μειωμένα γονίδια σημειώνονται με κόκκινο. Στη δεξιά πλευρά, εμφανίζονται οι εμπλουτισμένοι όροι και οι οδοί/μονοπάτια (pathways) που σχετίζονται με αυτά τα απορρυθμισμένα γονίδια. Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται είναι εξής: CC (cellular component) για το κυτταρικό συστατικό, MF (molecular function) για τη μοριακή λειτουργία, BP (biological process) για τη βιολογική διεργασία και KEGG για εμπλουτισμένα μονοπάτια σύμφωνα με το Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.

Εικόνα 89. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) αλγορίθμου ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών και της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). α) Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπου, β) Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ποντικού, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια, η κατηγορία 1 τα μη σημαντικά απορρυθμισμένα γονίδια και η κατηγορία 2 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. γ) Πίνακας σύγχυσης της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια και η

ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ

| Όρος | Ορισμός |
|---|---|
| Γονιδιακή έκφραση (Gene Expression) | Διαδικασία κατά την οποία οι γενετικές πληροφορίες του DNA μεταγράφονται σε RNA και μεταφράζονται σε πρωτεΐνες ή λειτουργικά μόρια RNA. |
| Διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια (Differentially Expressed Genes - DEGs) | Γονίδια των οποίων τα επίπεδα έκφρασης διαφέρουν σημαντικά μεταξύ διαφορετικών βιολογικών καταστάσεων. |
| Τελομερή (Telomeres) | Επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA στα άκρα των χρωμοσωμάτων που προστατεύουν από αποσταθεροποίηση κατά την κυτταρική διαίρεση. |
| Απόπτωση (Apoptosis) | Ρυθμιζόμενη, προγραμματισμένη διαδικασία κυτταρικού θανάτου απαραίτητη για την ανάπτυξη και την ομοιόσταση των ιστών. |
| PBLs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) | Μονοπύρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος, συμπεριλαμβανομένων λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων. |
| ECM (Extracellular Matrix) | Εξωκυττάριο δίκτυο που παρέχει μηχανική υποστήριξη και ρυθμίζει τη συμπεριφορά των κυττάρων. |
| PI3K-Akt signaling pathway | Σηματοδοτικό μονοπάτι εμπλεκόμενο σε κυτταρική επιβίωση, ανάπτυξη και μεταβολισμό. |
| PPAR signaling pathway | Μονοπάτι που ρυθμίζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων και την ενεργειακή ισορροπία. |
| AGE-RAGE signaling | Μονοπάτι σχετιζόμενο με χρόνια φλεγμονή και επιπλοκές του διαβήτη. |
| Microarray (Μικροσυστοιχία γονιδιακής έκφρασης) | Τεχνολογία για ταυτόχρονη μέτρηση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων. |
| Gene Ontology (GO) | Οντολογία για την ταξινόμηση των βιολογικών λειτουργιών, μοριακών δραστηριοτήτων και κυτταρικών εντοπισμών των γονιδίων. |
| KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) | Βάση δεδομένων που αναπαριστά μοριακά μονοπάτια και δίκτυα. |
| Pathway Enrichment Analysis | Ανάλυση για τον εντοπισμό εμπλουτισμένων βιολογικών μονοπατιών. |
| Normalization (Κανονικοποίηση) | Διαδικασία εξάλειψης τεχνικών παραμορφώσεων από δεδομένα. |
| Outliers (Ακραίες τιμές) | Δεδομένα που αποκλίνουν σημαντικά από την κανονική κατανομή. |
| Heatmap (Χάρτης Θερμότητας) | Οπτική αναπαράσταση τιμών μέσω διαβάθμισης χρώματος. |

| Όρος | Ορισμός |
|--|---|
| Meta-analysis (Μετα-ανάλυση) | Στατιστική τεχνική που συνδυάζει αποτελέσματα πολλαπλών μελετών για την ενίσχυση της ισχύος των συμπερασμάτων. |
| AI-ready dataset | Σύνολο δεδομένων κατάλληλα προεπεξεργασμένο για εφαρμογές τεχνητής νοημοσύνης. |
| OneHotEncoder | Τεχνική μετατροπής κατηγορικών μεταβλητών σε δυαδικές αριθμητικές μεταβλητές. |
| SMOTE (Synthetic Minority Over-sampling Technique) | Τεχνική για εξισορρόπηση κατηγοριών σε μη ισορροπημένα σύνολα δεδομένων. |
| DAVID | Εργαλείο βιοπληροφορικής για ανάλυση λειτουργικών όρων γονιδιακών συνόλων. |
| Machine Learning (Μηχανική Μάθηση) | Τομέας της τεχνητής νοημοσύνης που επιτρέπει στους υπολογιστές να μαθαίνουν από δεδομένα. |
| Transfer Learning (Μεταφορά Μάθησης) | Τεχνική που χρησιμοποιεί γνώσεις από ένα πρόβλημα για την επίλυση άλλου σχετικού προβλήματος. |
| Supervised Learning (Εποπτευόμενη μάθηση) | Τύπος μηχανικής μάθησης όπου τα δεδομένα εκπαίδευσης περιλαμβάνουν ετικέτες κατηγορίας. |
| Decision Tree (Δέντρο Απόφασης) | Αλγόριθμος που προβλέπει την τιμή ενός στόχου μέσω διαδοχικών διχαστικών αποφάσεων. |
| Random Forest | Σύνολο πολλών δέντρων απόφασης για βελτίωση ακρίβειας και ανθεκτικότητας του μοντέλου. |
| Support Vector Machine (SVM) | Αλγόριθμος που βρίσκει την υπερεπιφάνεια που διαχωρίζει κατηγορίες δεδομένων με μέγιστο περιθώριο. |
| Logistic Regression (Λογιστική Παλινδρόμηση) | Στατιστικό μοντέλο για την πρόβλεψη πιθανοτήτων δυαδικής εξαρτημένης μεταβλητής. |
| Neural Network (Νευρωνικό Δίκτυο) | Αρχιτεκτονική τεχνητής νοημοσύνης εμπνευσμένη από τη δομή του ανθρώπινου εγκεφάλου, κατάλληλη για μοντελοποίηση μη γραμμικών σχέσεων. |
| K-Nearest Neighbors (KNN) | Αλγόριθμος ταξινόμησης που αποδίδει νέα δεδομένα στην κατηγορία των k πλησιέστερων γειτόνων. |
| Fine-tuning | Διαδικασία επαναπροσαρμογής ενός προεκπαιδευμένου μοντέλου σε νέα, πιο εξειδικευμένα δεδομένα. |
| Feature Importance (Σημαντικότητα Χαρακτηριστικών) | Μέτρο για τη σχετική συμβολή κάθε χαρακτηριστικού στην απόδοση του μοντέλου. |
| Principal Component Analysis (PCA) | Τεχνική μείωσης της διαστασιμότητας των δεδομένων μέσω προβολής σε κύριες συνιστώσες. |
| Microgravity (Μικροβαρύτητα) | Περιβάλλον με εξαιρετικά χαμηλή δύναμη βαρύτητας, όπως στο διάστημα. |
| Hypergravity (Υπερβαρύτητα) | Περιβάλλον με επιτάχυνση μεγαλύτερη από αυτή της βαρύτητας της Γης. |
| Clinostat | Συσκευή που καταργεί την κατευθυντικότητα της βαρύτητας με συνεχή περιστροφή. |

| Όρος | Ορισμός |
|--|---|
| Random Positioning Machine (RPM) | Συσκευή που περιστρέφει δείγματα γύρω από δύο άξονες για προσομοίωση μικροβαρύτητας. |
| Hindlimb Suspension (HS) Model | Ζωικό μοντέλο για προσομοίωση μικροβαρύτητας μέσω ανάρτησης των οπισθίων άκρων. |
| OSDR (Open Science Data Repository) | Αποθετήριο δεδομένων ανοιχτής επιστήμης της NASA. |
| GeneLab | Πλατφόρμα της NASA για διαμοιρασμό και ανάλυση δεδομένων διαστημικής βιολογίας. |
| Meta-analysis (Μετα-ανάλυση) | Στατιστική μέθοδος συνδυασμού αποτελεσμάτων από πολλές ανεξάρτητες μελέτες. |
| Adjusted p-value | Προσαρμοσμένη τιμή p για έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων. |
| Benjamini-Hochberg correction | Μέθοδος για έλεγχο του ποσοστού ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (FDR). |
| log ₂ FC (log2 Fold Change) | Λογαριθμική κλίμακα μέτρησης της σχετικής αλλαγής έκφρασης ενός γονιδίου. |

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι επερχόμενες αποστολές εξερεύνησης του βαθέος διαστήματος από τον άνθρωπο επιτάσσουν την εις βάθος κατανόηση των επιδράσεων των συνθηκών διαστημικής πτήσης στα ανθρώπινα φυσιολογικά συστήματα. Η βαρύτητα, ως η μοναδική σταθερή περιβαλλοντική παράμετρος στην εξελικτική πορεία της ζωής στη Γη, καθίσταται καθοριστική στη διαμόρφωση της βιολογίας και της λειτουργίας των οργανισμών. Ωστόσο, η επίδρασής της στην εξέλιξη των ειδών δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς, δεδομένου ότι απαιτούνται πολυάριθμες γενιές πειραματικών οργανισμών σε συνθήκες μειωμένης ή αυξημένης βαρύτητας.

Σήμερα, οι συνθήκες μικροβαρύτητας που προσομοιώνονται τόσο σε επίγειες εγκαταστάσεις όσο και κατά τη διάρκεια διαστημικών πτήσεων, σε συνδυασμό με τις βάσεις δεδομένων (π.χ. NASA Open Science Data Repository, OSDR, Gene Expression Omnibus, GEO κ.α.) οι οποίες συγκεντρώνουν δεδομένα από σχετικά πειράματα σε μοντέλα οργανισμούς και ανθρώπους, προσφέρουν μια μοναδική δυνατότητα για τη μελέτη των βιολογικών μεταβολών σε επίπεδο γονιδίων, κυττάρων και οργάνων.

Παράλληλα, οι μέθοδοι Μηχανικής Μάθησης διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο συμβάλλοντας στην αναγνώριση μοτίβων γονιδιακής υπερέκφρασης ή υποέκφρασης ενισχύοντας τη δυνατότητα κατανόησης των θεμελιωδών μηχανισμών που διέπουν τις αποκρίσεις των οργανισμών στη μικροβαρύτητα.

Η αξιοποίηση αυτών των εργαλείων και δεδομένων θα συνεισφέρει στη διασφάλιση της βιωσιμότητας της ανθρώπινης παρουσίας πέρα από τη χαμηλή τροχιά της Γης και στην επιτυχή πραγματοποίηση αποστολών σε πλανήτες και φεγγάρια του ηλιακού μας συστήματος.

ΜΕΡΟΣ Ι - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΧΟΛΙΑ

1.1. ПРООІМІО

«Το Σύμπαν δεν έχει καμία υποχρέωση να βγάζει νόημα για εσάς.»

"The Universe in under no obligation to make sense to you." - Neil deGrasse Tyson [1]

«Ποιοι είμαστε; Ανακαλύπτουμε ότι ζούμε σε έναν ασήμαντο πλανήτη, που περιφέρεται γύρω από ένα συνηθισμένο αστέρι, χαμένο μέσα σε έναν γαλαζία, κρυμμένο σε μια ζεχασμένη γωνία ενός σύμπαντος όπου υπάρχουν πολύ περισσότεροι γαλαζίες από ότι άνθρωποι.» "Who are we? We find that we live on an insignificant planet of a humdrum star lost in a galaxy tucked away in some forgotten corner of a universe in which there are far more galaxies than people." - Carl Sagan [2]

«Το πιο ουσιαστικό μέρος ενός ζωντανού οργανισμού – η ίνα του χρωμοσώματος – μπορεί κάλλιστα να ονομαστεί απεριοδικός κρύσταλλος.»

"The most essential part of a living organism – the chromosome fiber – may well be called an aperiodic crystal."

«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 .. να αποτολμήσουν μερικοί από εμάς μια σύνθεση γεγονότων και θεωριών, ακόμη και με αποσπασματική ή έμμεση γνώση μερικών – διακινδυνεύοντας έστω να γελοιοποιηθούμε.» - **Erwin** Schrödinger [3]

«Τίποτα στην Φύση δεν τυχαίο.. Ένα πράγμα φαίνεται τυχαίο μόνο λόγω της ατελούς γνώσης μας.»

"Nothing in Nature is random. A thing appears random only through the incompleteness of our knowledge." - **Baruch Spinoza** [4]

«Νόηση: Φαινομενικό είναι το χρώμα, φαινομενική η γλύκα, φαινομενική η πίκρα, στην πραγματικότητα υπάρχουν μόνο άτομα και κενό,

Αισθήσεις: Καημένη νόηση, παίρνεις τα αποδεικτικά στοιχεία σου από εμάς και περιμένεις να μας νικήσεις με αυτά; Η νίκη σου είναι η ήττα σου.» - **Δημόκριτος** [5] [6]

1.2. H NEA Δ IA Σ THMIKH E Π OXH (SECOND SPACE AGE)

Η εκτόξευση του ρωσικού δορυφόρου Sputnik το 1957 και η ίδρυση της Εθνικής Υπηρεσίας Αεροναυτικής και Διαστήματος (National Aeronautics and Space Administration, NASA) το 1958 σηματοδότησαν την απαρχή της πρώτης διαστημικής εποχής. Αυτή η περίοδος δεν επηρέασε μόνο την ανθρωπότητα αλλά επαναπροσδιόρισε και σχέση μας με τη Σελήνη, το ηλιακό μας σύστημα και την εξερεύνηση του σύμπαντος. Κατά τη διάρκεια του Ψυχρού Πολέμου, η Σοβιετική Ένωση (ΕΣΣΔ) και οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) ανταγωνίζονταν έντονα στις διαστημικές εκτοξεύσεις, εξελίσσοντας τις αποστολές από σύντομες πτήσεις σε διαστημικούς σταθμούς, όπως ο Salyut 1 (ΕΣΣΔ) και ο Skylab (ΗΠΑ).

Με την πάροδο του χρόνου, περισσότερες χώρες απέκτησαν ικανότητες εξερεύνησης του διαστήματος, γεγονός που οδήγησε σε μεγαλύτερη ποικιλομορφία γενετικών, ιατρικών και πολιτισμικών χαρακτηριστικών μεταξύ των ανθρώπων που ταξίδευαν στο διάστημα. Αυτή η εξέλιξη πυροδότησε έντονο ενδιαφέρον για τις επιδράσεις της διαστημικής πτήσης στη φυσιολογία του ανθρωπίνου οργανισμού.[7]

Η επιλογή αστροναυτών, που παραδοσιακά πραγματοποιούσαν κυβερνητικοί οργανισμοί όπως η NASA, JAXA (Japan Aerospace Exploration Agency), και η ESA (European Space Agency), ξεκίνησε το 1959 με υποψήφιους προερχομένους από τον στρατό και το 1962 επεκτάθηκε συμπεριλαμβάνοντας και επιστήμονες.[8] Τα σημερινά κριτήρια περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, την υπηκοότητα, την κατοχή ανωτάτων τίτλων σπουδών και την επιτυχή ολοκλήρωση απαιτητικών δοκιμών φυσικής, πνευματικής και ψυχολογικής αντοχής.

Η συμμετοχή του ιδιωτικού τομέα, η οποία ξεκίνησε με την αποστολή Pegasus της Orbital Sciences Corporation το 1990 και συνεχίζεται με τις εταιρείες όπως Blue Origin, Virgin Galactic και SpaceX αναδιαμόρφωσε το τοπίο της διαστημικής εξερεύνησης. Το 2021, η αποστολή SpaceX Inspiration4 (I4) αποτέλεσε την πρώτη πλήρως ιδιωτική επανδρωμένη τροχιακή πτήση, υπογραμμίζοντας τη ραγδαία αύξηση των πολιτών αστροναυτών.[9], [10], [11] Τα έτη 2022 και 2023 σημειώθηκε ρεκόρ στον αριθμό εκτοξεύσεων από εμπορικούς και κρατικούς φορείς, με 188 και 196 εκτοξεύσεις αντίστοιχα.[12] Η επιτυχής τροχιακή πτήση του SpaceX Starship το 2024, του μεγαλύτερου πυραύλου που έχει κατασκευαστεί ποτέ, ανέδειξε τον επιταχυνόμενο ρυθμό της διαστημικής τεχνολογίας και τη δημιουργία νέων οικονομίων για την εξερεύνηση του διαστήματος.

Οι εξελίξεις αυτές δεν περιορίζονται μόνο στη διεύρυνση της κλίμακας, αλλά φέρνουν σημαντικές μεταβολές στον τρόπο, την ταχύτητα και το βαθμό πρόσβασης. Για παράδειγμα, πέρα από τον μοναδικό Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (International Space Station, ISS), η Kíva έχει ήδη θέσει σε λειτουργία τον διαστημικό σταθμό Tiangong, ενώ πέντε νέες τροχιακές πλατφόρμες βρίσκονται υπό ανάπτυξη από εταιρείες όπως οι Axiom, Northrop Grumman και Sierra Space-Blue Origin. Επιπρόσθετα, οι NASA, CNSA (China National Space Administration) και ROSCOSMOS (Ρωσική Ομοσπονδιακή Υπηρεσία Διαστήματος) σχεδιάζουν νέες ερευνητικές πλατφόρμες όπως ο Lunar Gateway σε τροχιά γύρω από τη Σελήνη και οι μόνιμες βάσεις στη Σελήνη αποδεικνύοντας την επέκταση της ανθρώπινης παρουσίας πέρα από τη χαμηλή τροχιά της Γης. Έως τα τέλη της δεκαετίας του 2030, η πλατφόρμα Mars Base Camp της Lockheed Martin προβλέπεται να τεθεί σε τροχιά γύρω από τον Άρη, εξασφαλίζοντας συνεχή πρόσβαση στην επιφάνειά του.[13]

Η Νέα (Δεύτερη) Διαστημική Εποχή (βλ. Εικόνα 1) χαρακτηρίζεται από ριζικές διαφορές σε σχέση με την πρώτη. Η εμπορική διαστημική βιομηχανία έχει πλέον αναλάβει ηγετικό ρόλο, ενώ η συμμετοχή χωρών στην εξερεύνηση του διαστήματος αυξάνεται εκθετικά. Παράλληλα, η πρόοδος στη μοριακή και κυτταρική βιολογία επιτρέπει τη εις βάθος κατανόηση της προσαρμογής του ανθρώπινου οργανισμού στις συνθήκες διαστήματος. Τα βιοϊατρικά δεδομένα, τα οποία διατίθενται πλέον μέσω των βιοτραπεζών, ενισχύουν σημαντικά τόσο τη διαστημική έρευνα όσο και την εφαρμογή της σε επίγεια πλαίσια.

Η αυξανόμενη ποικιλομορφία των πληρωμάτων και η επέκταση της ανθρώπινης παρουσίας σε πλανητικές βάσεις θέτουν τα θεμέλια για την ανάπτυξη εξατομικευμένης ιατρικής στον διαστημικό τομέα παρέχοντας προσαρμοσμένες λύσεις για τη διατήρηση της υγείας των αστροναυτών. Στη Νέα Διαστημική Εποχή διαμορφώνεται ένα μέλλον που επαναπροσδιορίζει τα όρια της ανθρώπινης γνώσης και δραστηριότητας. Τα δεδομένα και οι νέες ανακαλύψεις που περιγράφονται παραπάνω είναι συναρπαστικά, αλλά δημιουργούν το ερώτημα: Πώς θα γνωρίζουμε πότε θα έχουμε φτάσει στο τέλος της δεύτερης διαστημικής εποχής;[7], [10].



Εικόνα 1. Μια ιστορική επισκόπηση των διαστημικών εκτοξεύσεων. Ενδιάμεσα, οι εκτοξεύσεις που καθόρισαν την πρώτη διαστημική εποχή, από το 1957 έως το 2022, κατανεμημένες ανά χώρα προέλευσης. Η εκθετική αύξηση του αριθμού των εκτοξεύσεων ανά έτος, η οποία οφείλεται όλο και περισσότερο σε εμπορικές εκτοξεύσεις, σηματοδοτεί τη δεύτερη διαστημική εποχή.²

1.3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη διερεύνηση των επιδράσεων της μικροβαρύτητας και της υπερβαρύτητας στα διαφορετικά φυσιολογικά συστήματα οργανισμών. Αναλύονται πειράματα τα οποία έχουν διεξαχθεί είτε σε συνθήκες προσομοίωσης είτε σε πραγματικές συνθήκες μικροβαρύτητας (ή υπερβαρύτητας), με στόχο την κατανόηση της ενδεχόμενης επίδρασης σε επίπεδο γονίδιων, κυττάρων ή οργάνων. Παράλληλα, μελετάται το ενδεχόμενο συσχέτισης βαρύτητας και της εξέλιξης των ειδών στη Γη. Λόγω της δυσκολίας διερεύνησης των εξαρτώμενων από την βαρύτητα βιολογικών αλλαγών σε μία μόνο γενιά, εστιάζουμε σε παρατηρήσιμες μεταβολές που δύνανται να μελετηθούν εντός του περιορισμένου αυτού πλαισίου.

Επιπρόσθετα, εξετάζονται ενδελεχώς οι επιδράσεις της μικροβαρύτητας και των περιβαλλοντικών παραγόντων του διαστήματος στους οργανισμούς *Homo sapiens* και *Mus*

² <u>https://doi.org/10.1038/s41586-024-07586-8</u>

musculus, μέσω δεδομένων μικροσυστοιχιών που φιλοξενούνται στη βάση δεδομένων της NASA Open Science Data Repository (OSDR; <u>https://www.nasa.gov/osdr/</u>). Πραγματοποιείται εκτενής ανάλυση διαφορικής γονιδιακής έκφρασης σε πολλαπλά δείγματα εκτεθειμένα σε στρεσογόνες συνθήκες διαστημικής πτήσης, με στόχο τον εντοπισμό κοινών ορθόλογων γονιδίων με στατιστικά σημαντική διαφορική έκφραση και εμπλουτισμένων όρων και μονοπατιών συσχετισμένων με τις γονιδιακές αυτές απορρυθμίσεις.

Εν συνεχεία, κατασκευάσαμε σύνολα δεδομένων συμβατά με αλγορίθμους τεχνητής νοημοσύνης (AI-Ready) για τους οργανισμούς Homo sapiens και Mus musculus, τα οποία συμπεριλαμβάνουν θεμελιώδη χαρακτηριστικά (features) αναφορικά με την έκφραση των υπό έκθεση σε μικροβαρύτητα γονιδίων. Ακολούθως, εφαρμόσαμε πολλαπλούς αλγορίθμους μηχανικής μάθησης ώστε να ταξινομήσουμε συστάδες γονίδιων με διαφορικά αξιοποιώντας τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά. επίπεδα έκφρασης Τέλος. επιχειρήσαμε την μεταφορά πληροφορίας από ένα μοντέλο που έχει εκπαιδευτεί σε ένα μεγάλο σύνολο δεδομένων σε ένα άλλο, μικρότερο πιο εξειδικευμένο σύνολο δεδομένων. Στην προκειμένη περίπτωση, εφαρμόσαμε την τεχνική της μεταφοράς γνώσης (Transfer Learning) με σκοπό να προεκπαιδεύσουμε ένα μοντέλο σε ένα ευρύ σύνολο δεδομένων μοντέλου οργανισμού και να το βελτιστοποιήσουμε (στάδιο fine-tuning) χρησιμοποιώντας το μικρότερο σε όγκο αλλά πιο κρίσιμο σύνολο δεδομένων του ανθρώπινου οργανισμού. Αυτή η προσέγγιση επέτρεψε τη μεταφορά πληροφορίας από πειραματικά μοντέλα οργανισμών για την βαθύτερη αντίληψη των επιπτώσεων της μικροβαρύτητας στην ανθρώπινη φυσιολογία.

2. ΓΕΝΩΜΑ ΚΑΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ

2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το γονιδίωμά μας δύναται να παρομοιαστεί με ένα βιβλίο λεπτομερών οδηγιών το οποίο εμπεριέχει τις απαραίτητες πληροφορίες αναφορικά με την ανάπτυξη, την ωρίμανση, τη λειτουργία και την προσαρμοστικότητα των ζωντανών οργανισμών στο περιβάλλον τους. Αυτές οι οδηγίες, αποθηκευμένες με έναν εξαιρετικά οργανωμένο τρόπο, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο κάθε πτυχής της ζωής, από τα φυσικά χαρακτηριστικά έως τις πιο σύνθετες βιολογικές διαδικασίες. Η γονιδιακή έκφραση αποτελεί τη διαδικασία με την οποία οι πληροφορίες αυτές μεταφράζονται σε λειτουργικά προϊόντα. Η μελέτη των μηχανισμών που διέπουν αυτές τις οδηγίες αποσκοπεί στη βαθύτερη κατανόηση τη βιολογικής πολυπλοκότητας των έμβιων όντων. Με ποιον τρόπο, όμως, οι γενετικές οδηγίες που είναι ενός μονοκύτταρου οργανισμού, ενός δέντρου ή ενός ανθρώπου; Απομένει να μάθουμε πολλά σχετικά με το πώς οι πληροφορίες που αποθηκεύονται στα γονίδια ενός οργανισμού παράγουν ακόμα και το απλούστερο βακτήριο, παρόλο που η γλώσσα των γονιδίων δύναται πλέον να διαβαστεί.

Το 1655 καταγράφηκε για πρώτη φορά ο όρος «κύτταρο» από τον Hooke, ο οποίος χρησιμοποίησε ένα πρωτόγονο μικροσκόπιο για να περιγράψει μικρούς πόρους σε τομές φελλού (βλ. Εικόνα 2. Διακριτά όρια μικροσκοπίων.). 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. Στα τέλη της δεκαετίας του 1860 ο Miescher απομονώνει το νουκλεϊκό οξύ από τον πυρήνα του κυττάρου. Ο Levene διαχωρίζει τις δύο μορφές του νουκλεϊκού οξέος σε δεσοξυριβονουκλεϊκό (DNA) και ριβονουκλεϊκό (RNA) οξύ, ενώ το 1950 ο Chargaff με τη σειρά του θέτει τα θεμέλια της επερχόμενης ανακάλυψης της διπλής έλικας του DNA υποστηρίζοντας πως ο αριθμός των βάσεων αδενίνης ισούται πάντα με αυτόν της θυμίνης (αντίστοιχα ο αριθμός βάσεων γουανίνης και κυτοσίνης).[14]



Εικόνα 2. Διακριτά όρια μικροσκοπίων.³

Το 1953 οι Watson και Crick, με την πολύτιμη συμβολή της Franklin και του Wilkins, δημοσιεύουν το μοντέλο της διπλής έλικας του DNA.[15], [16] Οι Franklin και Gosling καθώς και οι Wilkins, Stokes και Wilson είχαν δημοσιεύσει το ίδιο έτος (1953) ερευνητικές εργασίες σχετικά με τη δομή του DNA.[17], [18] Συγκεκριμένα, η Franklin και ο υποψήφιος διδάκτωρ, εκείνη την περίοδο, Gosling εξέθεσαν σε ακτίνες-Χ για συνολικά 62 ώρες το DNA για την τελική λήψη (1952) της κρυσταλλογραφικής δομής του γνωστής ως

³ www.jic.ac.uk/microscopy/images/scale

Φωτογραφία 51 (βλ. Εικόνα 3), μιας εικόνας η οποία αντιμετωπίζεται ως η φιλοσοφική λίθος της μοριακής βιολογίας.



Εικόνα 3. Φωτογραφία 51 (Franklin & Gosling, Nature, 1953)[18]

2.2. ΤΟ ΓΕΝΩΜΑ

Τι διακρίνει τα έμβια όντα από την άβια ύλη; Ποιες θεμελιώδεις ιδιότητες χαρακτηρίζουν έναν ζωντανό οργανισμό; Τα έμβια όντα αποτελούνται από τις απλούστερες μορφές ζωής, τα κύτταρα, τα οποία αυξάνουν και διαιρούνται στα δύο παράγοντας αντίγραφα του εαυτού τους.[19]

Οι οργανισμοί που αποτελούνται από κύτταρα χωρίς πυρήνα καλούνται προκαρυώτες, ενώ εκείνοι των οποίων τα κύτταρα διαθέτουν πυρήνα ονομάζονται ευκαρυώτες (βλ. Εικόνα 4). 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. Όλοι οι σύνθετοι πολυκύτταροι οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των φυτών, των ζώων και των μυκήτων, σχηματίζονται από ευκαρυωτικά κύτταρα. 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 περισσότερες δραστηριότητες του κυττάρου. Άλλες διεργασίες επιτελούνται από αντίστοιχες ειδικές δομές, κυτταριάζου και το κυταρικά κυταρου.

οργανίδια, που βρίσκονται στο χώρο μεταξύ του πυρήνα και της κυτταρικής μεμβράνης, μέσα στο κυτταρόπλασμα ΄ όπως 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 πρωτεϊνοσύνθεση), 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).[20], [21]



Εικόνα 4. Ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα.4

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 δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA), η οποία φέρει στη δομή της τη γενετική πληροφορία που κατευθύνει όλες τις διαδικασίες που καθιστούν τον οργανισμό λειτουργικό. [19]

Τα κείμενα σε οποιαδήποτε ανθρώπινη γλώσσα δύνανται να χωριστούν σε παραγράφους οι οποίες αντιπροσωπεύουν περισσότερο ή λιγότερο συνεκτικές σκέψεις. Ομοίως, μπορούμε να χωρίσουμε οποιοδήποτε γονιδίωμα σε διακριτά τμήματα συνεκτικών

⁴ <u>https://www.technologynetworks.com/cell-science/articles/prokaryotes-vs-eukaryotes-what-are-the-key-</u> <u>differences-336095</u>

πληροφοριών, ήτοι τα γονίδια. Κάθε εμπύρηνο 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 (Human Genome Project). [22]

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, ενώ η αζωτούχος βάση θυμίνη αντικαθίσταται από την ουρακίλη (U) (βλ. Εικόνα 5 και Εικόνα 6).[23] 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. 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.[24] Το DNA παρουσιάζεται πάντα υπό την μορφή της δίκλωνης έλικας, ενώ το RNA είναι μονόκλωνο και δύναται να διπλωθεί σε ποικίλες δομές.


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



Εικόνα 6. Πεντόζες ριβόζης και δεοξυριβόζης⁶.

Κάθε ζεύγος βάσεων έχει παρόμοιο εύρος για να διατηρεί το σκελετό σε ίση απόσταση κατά μήκος του μορίου. Τα μέλη κάθε ζεύγους βάσεων συσχετίζονται στη διπλή έλικα επειδή οι δύο ταινίες της έλικας είναι προσανατολισμένες με τις αντίθετες πολικές μονάδες απέναντι (αντιπαράλληλα). Οι αντιπαράλληλοι κλώνοι περιελίσσονται και σχηματίζουν τη διπλή έλικα η οποία περιλαμβάνει δέκα ζεύγη βάσεων σε κάθε στροφή της. Η περιέλιξη αυτή συνεισφέρει στην ενεργειακά ευνοϊκή διαμόρφωση της διπλής έλικας του DNA. Συγκεκριμένα, η δομή της διπλής έλικας δύναται να διαμορφωθεί δεξιόστροφα στο χώρο ως α-έλικα, και β-έλικα καθώς επίσης και αριστερόστροφα ως ζ-έλικα αποτελώντας κατά αυτόν τον τρόπο στοιχείο αναγνώρισης από μεταγραφικούς παράγοντες (βλ. **Εικόνα 7.** Δομές έλικας DNA, (a) δομή β-DNA όπως αυτή προτάθηκε από τους Watson και Crick το 1953, (b) Οι δομές α, β, και ζ-DNA.). Το DNA δύναται να λάβει και τεταρτοταγείς δομές

⁵ <u>https://www.genome.gov/genetics-glossary/Base-Pair</u>

⁶ https://www.mun.ca/biology/scarr/Deoxyribose vs Ribose sugar.html

που συναντάμε συνήθως στους υποκινητές των γονιδίων (promoters). Η β- δομή αποτελεί την πιο κοινή μορφή που απαντάται στα κύτταρα υπό φυσιολογικές συνθήκες υγρασίας. Οι δομικές αυτές παραλλαγές συσχετίζονται με τη βιολογική λειτουργία του DNA, όπως την πρόσβαση των πρωτεϊνών στη διπλή έλικα και τη ρύθμιση της γονιδιακής μεταγραφής καθιστώντας τις κρίσιμες για την κυτταρική φυσιολογία.[19], [25], [26], [27]



Εικόνα 7. Δομές έλικας DNA, (a) δομή β-DNA όπως αυτή προτάθηκε από τους Watson και Crick το 1953, (b) Οι δομές α, β, και ζ-DNA.⁷

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) (βλ. Εικόνα 8 και Εικόνα 9).

Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο (γαμέτη) αποτελείται από περίπου 3×10⁹ ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 (22 αυτοσωμικά ζεύγη και ένα φυλετικό XX ή XY) ζεύγη χρωμοσωμάτων (βλ. Εικόνα 9). Η διάμετρος του πυρήνα ενός ανθρώπινου κυττάρου είναι περίπου 5 εώς 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. Ο Κέλβιν χρησιμοποίησε το κάτωθι παράδειγμα για να συλλάβουμε το πόσο μικρά και πολλά είναι τα άτομα. «Ας υποθέσουμε ότι μπορούσες να σημαδέψεις τα μόρια του νερού που περιέχονται σε ένα ποτήρι⁻ και μετά έριχνες το νερό στον ωκεανό και τον ανακάτευες καλά-καλά, έτσι που τα σημαδεμένα μόρια να

⁷ <u>http://dx.doi.org/10.1038/npg.els.0003122</u>

κατανεμηθούν ομοιόμορφα στις εφτά θάλασσες τότε, αν έπαιρνες ένα ποτήρι νερό από οποιοδήποτε σημείο του ωκεανού, θα έβρισκες μέσα του καμιά εκατοστή από τα σημαδεμένα σου μόρια».[3], [21]



Εικόνα 8. Το DNA συμπιεσμένο σε μορφή χρωμοσώματος στον κυτταρικό πυρήνα.⁸



Εικόνα 9. Καρυότυπος ανθρώπινου οργανισμού.⁹

⁸ http://ebooks.edu.gr/ebooks/v/html/8547/2668/Biologia_B-Lykeiou_html-empl/index4_2.html

⁹ <u>https://www.genome.gov/genetics-glossary/Karyotype</u>

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 είδος, το φύλο και τυχόν χρωμοσωμικές ανωμαλίες, καλείται καρυότυπος (βλ. Εικόνα 9). 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.[28]

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 σε 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.[19]

2.3. Η ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Τα κύτταρα αποκαλύπτουν τις γενετικές οδηγίες τους, ήτοι τα γονίδια τους, μέσω της μεταγραφής και της μετάφρασης. Από το ίδιο γονίδιο δύναται να παραχθούν πολλά ταυτόσημα αντίγραφα RNA. 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 (βλ. **Εικόνα 10**). 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.[29]



Εικόνα 10. Λειτουργία RNA πολυμεράσης κατά τη μεταγραφή.¹⁰

Η αλυσίδα του RNA (μετάγραφο) που παράγεται κατά την μεταγραφή επιμηκύνεται με ρυθμό ένα νουκλεοτίδιο τη φορά και έχει αλληλουχία νουκλεοτιδίων ακριβώς συμπληρωματική με την αλληλουχία του κλώνου DNA ο οποίος χρησιμοποιήθηκε ως εκμαγείο. Τα μόρια RNA που παράγονται από την μεταγραφή είναι μονόκλωνα και κατά πολύ βραγύτερα από τα μόρια του DNA. Ενώ το μόριο του DNA ενός ανθρώπινου γρωμοσώματος μπορεί να περιέχει έως και 250 εκατομμύρια ζεύγη νουκλεοτιδίων, τα μόρια του RNA περιέχουν το πολύ λίγες χιλιάδες νουκλεοτίδια. Ένα γονίδιο μέτριου μεγέθους 1.500 ζευγών νουκλεοτιδίων μεταγράφεται από ένα μόριο RNA πολυμεράσης περίπου μέσα σε 50 δευτερόλεπτα, ενώ κατά μήκος του ίδιου τμήματος DNA δύναται να επιχειρούν ταυτόχρονα έως και 15 μόρια RNA πολυμεράσης κάνοντας περίπου ένα λάθος ανά 10.000 νουκλεοτίδια (συχνότητα λάθους DNA πολυμεράσης 1 ανά 10⁷ νουκλεοτίδια). Για να αρχίσει η μεταγραφή, η RNA πολυμεράση πρέπει να αναγνωρίσει την αφετηρία ενός γονιδίου και να προσδεθεί ισχυρά στη συγκεκριμένη περιοχή του DNA. Αξίζει να σημειωθεί πως ενώ τα βακτήρια διαθέτουν ένα μόνο είδος RNA πολυμεράσης, τα ευκαρυωτικά έχουν τρία. Η RNA πολυμεράση Ι και ΙΙΙ μεταγράφουν γονίδια που κωδικοποιούν μεταφορικά, ριβοσωμικά και μικρά RNA που έχουν δομικό και καταλυτικό ρόλο στο κύτταρο, ενώ η RNA πολυμεράση ΙΙ είναι υπεύθυνη για τη μεταγραφή των περισσότερων ευκαρυωτικών γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Τα γονίδια στα ζώα και στα φυτά είναι διάσπαρτα πάνω στο DNA και διαχωρίζονται το ένα από το άλλο από τμήματα DNA μήκους έως και 100.000 ζευγών. Τα περισσότερα γονίδια χωρίζονται σε

¹⁰<u>https://www.khanacademy.org/science/biology/gene-expression-central-dogma/transcription-of-dna-into-rna/a/stages-of-transcription</u>

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 μικρά πυρηνικά RNA, snRNA). Αν και τα εσόνια δεν συμμετέχουν άμεσα στην πρωτεϊνική σύνθεση, συμμετέχουν σε καίριες ρυθμιστικές διαδικασίες, όπως η εναλλακτική μάτιση (splicing) που επιτρέπει την παραγωγή διαφορετικών πρωτεϊνικών ισομορφών από το ίδιο γονίδιο, αυξάνοντας έτσι τη γενετική ποικιλομορφία. Επιπρόσθετα, τα εσόνια περιέχουν ρυθμιστικές αλληλουχίες που συσχετίζονται με τις λειτουργίες του mRNA. Αυτά τα μόρια λειτουργούν ως σκελετοί για την πρόσληψη συμπλόκων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης, τροποποιώντας το τοπικό χρωματινικό περιβάλλον και εν τέλει επηρεάζοντας τη μεταγραφή.[19]



Εικόνα 11. Μεταγραφή, μετάφραση, εσόνια και εξόνια¹¹

Παρά το γεγονός ότι όλα τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού περιέχουν το ίδιο γενετικό υλικό, η εξειδίκευση τους οφείλεται στη διαφοροποιημένη έκφραση γονιδίων. Η διαφοροποίηση αυτή ρυθμίζεται από πολύπλοκα συστήματα ελέγχου που ενεργοποιούν ή απενεργοποιούν συγκεκριμένα γονίδια ανάλογα με τον τύπο και την λειτουργία του κυττάρου. Αυτή η εξειδίκευση επιτυγχάνεται μέσω ποικίλων μηχανισμών, όπως η επιλογή μεταγραφών RNA, η μεταφραστική ρύθμιση και οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών. Επομένως, οι μεταγραφικοί μηχανισμοί επιτρέπουν την ευέλικτη απόκριση

¹¹ <u>https://www.genome.gov/about-genomics/educational-resources/fact-sheets/ribonucleic-acid-fact-sheet</u>

στις μεταβαλλόμενες ανάγκες, ενώ οι ρυθμιστικές αλληλουχίες καθορίζουν τον χρόνο, τον τόπο και την ένταση της γονιδιακής δραστηριότητας. Οι τυχόν διαταραχές στη γονιδιακή ρύθμιση συχνά σχετίζεται με ασθένειες όπως ο καρκίνος.[30] Όπως προαναφέραμε, το γονίδιο διακρίνεται σε δυο κύριες περιοχές: τις εξωνικές περιοχές, οι οποίες περιέχουν τις κωδικοποιητικές αλληλουχίες για την παραγωγή πρωτεϊνών, και τις εσωνικές περιοχές, οι οποίες λειτουργούν κυρίως ρυθμιστικά ή υποστηρικτικά και δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες. Η γονιδιακή έκφραση ελέγχεται μέσω πολύπλοκων μηχανισμών. Σημαντικές ρυθμιστικές περιοχές (βλ. Εικόνα 12) αποτελούν οι κάτωθι:

- Ο προαγωγέας (promoter) καθορίζει πού και πότε θα εκκινήσει η μεταγραφή. Ο προαγωγέας περιλαμβάνει την ΤΑΤΑ-Βοχ, μια χαρακτηριστική αλληλουχία που αναγνωρίζουν οι μεταγραφικοί παράγοντες και κατευθύνουν την RNA πολυμεράση στην ακριβή θέση εκκίνησης της μεταγραφής.
- Ο γονιδιακός ενισχυτής (gene enhancer) συμβάλει στη διαδικασία της μεταγραφής μέσω της αναδίπλωσης της χρωματίνης όπου δύναται να έρθει σε επαφή με μεταγραφικούς παράγοντες, ενώ βρίσκεται σε απόσταση από τον προαγωγέα. Ο ενισχυτής παίζει ρόλο στην αύξηση της μεταγραφικής δραστηριότητας του γονιδίου, ενισχύοντας έτσι την παραγωγή RNA.
- Οι σιγαστήρες (silencers) αναστέλλουν τη μεταγραφή, ρυθμίζοντας τη γονιδιακή έκφραση προς όφελος των κυτταρικών αναγκών.
- Οι μονωτές (insulators) λειτουργούν ως φράγματα που εμποδίζουν την ανεπιθύμητη αλληλεπίδραση μεταξύ ενισχυτών και προαγωγέων, διασφαλίζοντας την ακρίβεια της ρύθμισης.
- 5'- μη μεταφραζόμενη περιοχή (5'- UTR): Παρόλο που δεν μεταφράζεται σε πρωτεΐνη, αυτή η περιοχή είναι κρίσιμη για τον έλεγχο της σταθερότητας και της μετάφρασης του RNA, επηρεάζοντας την παραγωγή πρωτεϊνών.
- Η περιοχή τερματισμού (termination) οριοθετεί το τέλος της μεταγραφής και εξασφαλίζει την ολοκλήρωση του RNA με το σωστό μήκος και περιεχόμενο.[31]



Εικόνα 12. Σχηματική αναπαράσταση των ρόλων των διαφόρων κατηγοριών ρυθμιστικών στοιχείων.¹²

Επιπρόσθετα, οι επιγενετικές τροποποιήσεις παρέχουν έναν πρόσθετο μηχανισμό ρύθμισης στις ρυθμιστικές περιοχές. Για παράδειγμα, η μεθυλίωση των νησίδων CpG (υψηλή πυκνότητα διπεπτικών νουκλεοτιδικών αλληλουχιών κυτοσίνης και γουανίνης συνδεδεμένων με φωσφοδιεστερικό δεσμό) στους προαγωγείς σχετίζεται με την ενεργή έκφραση των γονιδίων. Αυτές οι τροποποιήσεις ενσωματώνουν περιβαλλοντικά σήματα και προσαρμόζουν τη γονιδιακή δραστηριότητα στις ανάγκες του οργανισμού.[32]

Το DNA λειτουργεί αποκλειστικά ως απόθεμα πληροφοριών ενώ, τα διάφορα είδη RNA έχουν δομικές, πληροφοριακές, ρυθμιστικές και καταλυτικές λειτουργίες. Τα αγγελιοφόρα RNA, επί παραδείγματι, δύνανται να χρησιμεύουν και ως δομικά και ενζυμικά συστατικά των κυττάρων παίζοντας καίριο ρόλο στη μετάφραση του γενετικού μηνύματος. Πιο συγκεκριμένα, κατά την μεταγραφή του γονιδιώματος διακρίνουμε μεν τα μόρια RNA τα οποία θα οδηγηθούν στη διαδικασία της μετάφρασης και την παραγωγή πρωτεϊνών (ήτοι mRNA), δε τα μόρια RNA τα οποία δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες (ήτοι non-coding RNA, ncRNA). Αυτά με τη σειρά τους κατηγοριοποιούνται στα βραχέα και στα μακρά ncRNA (ήτοι miRNA και lncRNA). Τα ncRNA μεταγράφονται από περισσότερο από το 70% του γονιδιώματος. Είναι γνωστοί περισσότεροι από 40 διαφορετικοί τύποι ncRNAs όπως τα ριβοσωμικά RNAs (rRNAs) τα οποία σχηματίζουν το κέντρο των ριβοσωματίων, και τα μεταφορικά RNAs (tRNAs) τα οποία σχηματίζουν τους συναρμολογητές που επιλέγουν τα αμινοξέα και τα συγκρατούν στην κατάλληλη θέση πάνω στο ριβοσωμάτιο για να ενσωματωθούν σε μια πρωτεΐνη[33] Τις τελευταίες δεκαετίες ανακαλύφθηκαν πρόσθετοι τύποι ncRNAs, οι οποίοι έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζουν τόσο ρυθμιστικό όσο και σηματοδοτικό ρόλο. Τα μικρά μη κωδικοποιητικά RNAs (μήκους 50-200 νουκλεοτιδίων), όπως τα βραχέα RNAs ρυθμίζουν την έκφραση των ευκαρυωτικών

¹² <u>https://doi.org/10.1186/gm344</u>

γονιδίων με διάφορους μηχανισμούς και μεσολαβούν στη γονιδιακή αποσιώπηση σε μεταμεταγραφικό επίπεδο. Άλλες κατηγορίες μικρών μη κωδικοποιητικών RNAs είναι τα siRNAs (small interfering RNAs), δίκλωνα μόρια RNA που εμπλέκονται στην παρεμβολή RNA, και τα piRNAs, τα οποία δεσμεύουν τις πρωτεΐνες PIWI (P-element Induced WImpy testis in Drosophila) για να επάγουν τη γονιδιακή σίγαση σε μεταγραφικό και μεταμεταφραστικό επίπεδο. Τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNAs (μήκους άνω των 200 νουκλεοτιδίων) εμπλέκονται συχνά στην πρόσληψη συμπλόκων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης (βλ. **Εικόνα 13.** Είδη RNAs.). [34], [35]





Εικόνα 13. Είδη RNAs.¹³

Συμπερασματικά, η γονιδιακή έκφραση δεν περιορίζεται στη μετάφραση της γενετικής πληροφορίας σε λειτουργικά προϊόντα. Αντιθέτως, πρόκειται για μια σύνθετη διαδικασία που ρυθμίζεται από ποικίλους παράγοντες, όπως οι ρυθμιστικές αλληλουχίες του DNA, οι επιγενετικές τροποποιήσεις και τα μη κωδικοποιητικά RNAs. Η συνεργατική δράση όλων αυτών των στοιχείων είναι απαραίτητη για την ακριβή ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, εξασφαλίζοντας την εύρυθμη λειτουργία των κυττάρων και, κατ' επέκταση, των βιολογικών συστημάτων.

¹³ <u>https://www.genome.gov/about-genomics/educational-resources/fact-sheets/ribonucleic-acid-fact-sheet</u>

2.4. ΑΠΟ ΤΟ ΓΕΝΩΜΑ ΣΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

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;

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 (βλ. Εικόνα 14).[36]



Εικόνα 14. Από την πληροφορία στην πρωτεΐνη.¹⁴

¹⁴<u>https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/transcription</u>

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. [19] 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 κίνηση (ακτίνη και μυοσίνη κατά τη μυϊκή συστολή), η αποθήκευση (μυϊκές πρωτεΐνες στα θηλαστικά, π.χ. μυογλοβίνη), η μεταφορά (αιμοσφαιρίνη). Πιο συγκεκριμένα, όταν αναλύουμε τη βιοχημική και ηλεκτρική δραστηριότητα ενός κυττάρου ουσιαστικά παρατηρούμε τις πρωτεΐνες, οι οποίες αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της ξηρής μάζας και δομικούς λίθους συγκρότησης αυτού. Ορισμένες πρωτεΐνες βρίσκονται ενσωματωμένες στην κυτταρική μεμβράνη του πυρήνα σχηματίζοντας διαύλους ή αντλίες, άλλες δρουν ως μεταδότες ή επεξεργαστές σήματος, μερικές ως μοριακές μηχανές με κινητά μέρη, ενώ κάποιες λειτουργούν ως ορμόνες, αντισώματα, τοξίνες, ή πηγές φωταύγειας. Συνοπτικά, θα μπορούσαμε να τις κατηγοριοποιήσουμε ως εξής:

- Ένζυμα, υπεύθυνα αναφορικά με την κατάλυση διάσπασης ή σχηματισμού ομοιοπολικών δεσμών (π.χ. καρβοξυλάση της διφωσφορικής ριβουλόζης στο μετασχηματισμό του διοξειδίου του άνθρακα σε σάκχαρα στα φυτά).
- Δομικές πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη μηχανική στήριξη κυττάρου και ιστών (π.χ. α-κερατίνη στα επιθηλιακά κύτταρα).
- Μεταφορικές πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη μεταφορά ιόντων και μικρών μορίων (π.χ. αντλία ασβεστίου στα μυϊκά κύτταρα).
- Κινητήριες πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη παροχή κινητήρια δύναμης σε κύτταρα και ιστούς (π.χ. κινησίνη).
- Αποθηκευτικές πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη αποθήκευση ιόντων και μικρών μορίων (π.χ. φερριτίνη υπεύθυνη για την αποθήκευση σιδήρου στο ήπαρ).
- Σηματοδοτικές πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη μεταφορά σημάτων από κύτταρο σε κύτταρο (π.χ. ινσουλίνη υπεύθυνη για τον έλεγχο του επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα).
- Πρωτεΐνες Υποδοχείς, υπεύθυνες αναφορικά με την ανίχνευση σημάτων και τη μεταβίβασή τους στον απαντητικό μηχανισμό των κυττάρων (π.χ. ροδοψίνη όπου ανιχνεύει το φως στον αμφιβληστροειδή).
- Μεταγραφικοί ρυθμιστές, όπου συνδέονται με το DNA ενεργοποιώντας ή καταστέλλοντας τη γονιδιακή έκφραση(π.χ. καταστολέας της λακτόζης

αδρανοποιεί τα γονίδια τα οποία κωδικοποιούν τα ένζυμα που αποδομούν το σάκχαρο λακτόζη).

 Πρωτεΐνες με ειδική λειτουργία, όπως αντιψυκτικές σε ψάρια της Αρκτικής, συγκολλητικές στα μύδια, καθώς επίσης και φθορίζουσες στις μέδουσες που εκπέμπουν πράσινο φως.

Οι πρωτεΐνες δύνανται να επιτελούν τόσο διαφορετικές λειτουργίες λόγω των πολλαπλών ποικίλων τρισδιάστατων στερεοδομών τους.[37]

Η δομή και το σχήμα των πρωτεϊνών διαμορφώθηκε κατά τη διάρκεια δισεκατομμυρίων ετών εξελικτικής ιστορίας, γεγονός που συνεπάγεται την εκτενή δομική και λειτουργική πολυπλοκότητα. Ένα μόριο πρωτεΐνης αποτελείται από μια μακριά αλυσίδα αμινοξέων, όπου το εκάστοτε αμινοξύ συνδέεται με ομοιοπολικό πεπτιδικό δεσμό με το επόμενο. Αυτός ο δεσμός σχηματίζεται όταν το άτομο άνθρακα της καρβοξυλομάδας ενός αμινοξέος μοιράζεται ηλεκτρόνια με το άτομο αζώτου της αμινομάδας του επόμενου σε μια αντίδραση συμπύκνωσης (αποσπάται ένα μόριο νερού). Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από το σκελετό και τις πλευρικές αλυσίδες, ήτοι ομάδες του μορίου των αμινοξέων οι οποίες προσδίδουν τις μοναδικές ιδιότητές του. Οι πλευρικές αλυσίδες κατηγοριοποιούνται σε πολικές, μη-πολικές, δραστικές, μη-δραστικές, υδρόφιλες, υδρόφοβες, ηλεκτροθετικές, ηλεκτραρνητικές κ.α. Οι πρωτεΐνες εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ποικιλομορφία από όλα τα μακρομόρια του κυττάρου και αποτελούνται συνήθως από 50 έως 2.000 αμινοξέων (το μήκος κυμαίνεται από 30 έως 10.000 και πλέον). Το ένα άκρο μιας πολυπεπτιδική αλυσίδας διαθέτει μια ελεύθερη αμινομάδας, ενώ το άλλο άκρο μια ελεύθερη καρβοξυλική ομάδα. Η αλληλουχία των αμινοξέων εμφανίζει κατεύθυνση από το αμινοτελικό (N-) προς το καρβοξυτελικό (C-), ενώ ο αριθμός των πολικών πλευρικών αλυσίδων ισούται με αυτόν των μη πολικών. Οι υδρόφοβες δυνάμεις συντελούν στον σχηματισμό ενός διπλωμένου πολυπεπτιδίου σε μια συμπαγή δομή εντός υδατικού περιβάλλοντος. Αντίθετα, οι πολικές πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων συγκεντρώνονται στην εξωτερική επιφάνεια του μορίου. Οι πρωτεΐνες πτυχώνονται στη διαμόρφωση με τη χαμηλότερη ενέργεια, ωστόσο η διαμόρφωση αυτή μεταβάλλεται όταν η πρωτεΐνη αλληλοεπιδρά με άλλα μόρια του κυττάρου. Όταν η πτύχωση αυτή πραγματοποιείται με λανθασμένο τρόπο δύναται να σχηματίσουν αθροίσματα που παραβλάπτουν κύτταρα ή ιστούς όπως λαμβάνει γώρο σε νευροεκφυλιστικές διαταραγές (π.γ. νόσοι Alzheimer, Huntington). Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από πολλαπλές λειτουργικές περιοχές οι οποίες διπλώνονται και σχηματίζουν μια συμπαγή τρισδιάστατη δομή παρουσιάζοντας στα τμήματά τους δύο συνήθη πρότυπα πτύχωσης την α-έλικα (ahelix) και το β-πτυχωτό φύλλο (β sheet). Όταν δύο α-έλικες περιελίσσονται η μία γύρω

από την άλλη σχηματίζουν μια πολύ σταθερή δομή η οποία ονομάζεται σπειροειδές σπείραμα (coiled-coil). Ενώ, αξίζει να σημειωθεί ότι τα β-πτυχωτά φύλλα προσδίδουν στην αντιπηκτική πρωτεΐνη τις ιδιότητές της.

Η δομή των πρωτεϊνών διαθέτει ανώτερα επίπεδα οργάνωσης από τις α-έλικες και τα βπτυχωτά φύλλα. Συγκεκριμένα, η αλληλουχία των αμινοξέων τους αποτελεί την πρωτοταγή δομή (primary structure), ο σχηματισμός των α-ελικών και β-πτυχωτών φύλλων αποτελεί τη δευτεροταγή (secondary structure), ενώ η πλήρης τρισδιάστατη από διαμόρφωση που σχηματίζεται ολόκληρη την πολυπεπτιδική αλυσίδα συμπεριλαμβανόμενων των προαναφερθέντων σχηματισμών, τις σπείρες, όλες τις πτυχές και τους συνδυασμούς αυτών αποτελεί την τριτοταγή δομή (tertiary structure). Τέλος, μια πρωτεΐνη η οποία διαμορφώνεται από το σύμπλοκο πολλαπλών πολυπεπτιδίων συντελεί στο σχηματισμό μιας πλήρους τεταρτοταγής δομής (quaternary structure). Ο ρυθμιστικός κώδικας μιας πρωτεΐνης που βασίζεται στην ομοιοπολική διαμόρφωση των πλευρικών αλυσίδων αμινοξέων επιτρέπει σε κάθε κύτταρο να ρυθμίζει πόσα μόρια κάθε ενζύμου θα συντεθούν ρυθμίζοντας την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν συγκεκριμένες πρωτεΐνες, καθώς επίσης να ρυθμίζει την ενζυμική δραστηριότητα περιορίζοντας ομάδες ενζύμων σε ειδικά ενδοκυττάρια διαμερίσματα. Επομένως, ποικίλοι μηχανισμοί δύνανται να ενεργοποιήσουν ή να απενεργοποιήσουν, να μεταβάλλουν το σχήμα και τη δομή της πρωτεΐνης και κατά συνέπεια της δραστηριότητά της (βλ. Εικόνα 15).



Εικόνα 15. (a) Η αλληλουχία των αμινοξέων τους αποτελεί την πρωτοταγή δομή (primary structure), (b) ο σχηματισμός των α-ελικών και β-πτυχωτών φύλλων αποτελεί τη δευτεροταγή (secondary structure),(c) η πλήρης τρισδιάστατη διαμόρφωση που σχηματίζεται από ολόκληρη την πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελεί την τριτοταγή δομή (tertiary structure), (d) μια πρωτεΐνη η οποία

διαμορφώνεται από το σύμπλοκο πολλαπλών πολυπεπτιδίων συντελεί στο σχηματισμό μιας πλήρους τεταρτοταγής δομής (quaternary structure).¹⁵

2.5. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

Σε αυτό το σημείο, θα εστιάσουμε στον κυτταρικό κόσμο εξετάζοντας τη θεμελιώδη διαδικασία της κυτταρικής διαίρεσης, που αποτελεί τον πυρήνα ανάπτυξης και ανανέωσης της ζωής. Τα κύτταρα παράγονται από κύτταρα και ο μοναδικός τρόπος για την παραγωγή περισσοτέρων 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.[19]

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 θυγατρικών 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 Χ, είτε ένα Υ.[22]

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 θυγατρικά 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

¹⁵ <u>https://www.mun.ca/biology/scarr/iGen3_06-04.html</u>

μίτωση και η διαίρεση του κυττάρου, γνωστή και ως κυτταροκίνηση. Συλλογικά, οι δύο αυτές διεργασίες συνιστούν τη φάση Μ του κυτταρικού κύκλου. Σε ένα συνηθισμένο κύτταρο θηλαστικού, ολόκληρη η φάση Μ διαρκεί περίπου μια ώρα, δηλαδή αποτελεί ένα πολύ μικρό κλάσμα του συνολικού κυτταρικού κύκλου (βλ. Εικόνα 16). 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 τρεις φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Κατά τη φάση 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 G1 είναι το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης Μ και την αρχή της φάσης S, ενώ η φάση G_2 το μεσοδιάστημα ανάμεσα στο τέλος της φάσης S και την αρχή της φάσης Μ. 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 G₁ και G2 όπου το κύτταρο παίρνει μια απόφαση αν θα προχωρήσει στην επόμενη φάση ή αν θα σταματήσει έτσι ώστε να έχει περισσότερο χρόνο να προετοιμαστεί.[21], [38]



Εικόνα 16. Οι φάσεις της μίτωσης.¹⁶

¹⁶<u>https://biocyclopedia.com/index/general_zoology/phases_in_mitosis.php</u>

Κατά τη διάρκεια όλης της μεσόφασης, ένα κύτταρο συνεχίζει να μεταγράφει τα γονίδια του, να συνθέτει πρωτεΐνες και να αυξάνει μάζα. Συλλογικά, οι φάσεις G1 και G2 προσφέρουν επιπρόσθετο χρόνο στο κύτταρο για να αυξηθεί και να διπλασιάσει τα κυτταροπλασματικά οργανίδιά του. Αν η μεσόφαση διαρκούσε μόνο οσο 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 Μ είναι η προοδευτική συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων του. Καθώς η συμπύκνωση προχωρεί, τα χρωμοσώματα πρώτα γίνονται ορατά στο φωτονικό μικροσκόπιο σαν μακριές κλωστές, οι οποίες σταδιακά γίνονται βραχύτερες και παχύτερες, Αυτή η συμπύκνωση αποτρέπει το μπέρδεμα των γρωμοσωμάτων κι επομένως διευκολύνει το διαγωρισμό τους κατά τη διάρκεια της μίτωσης.[19] Προκειμένου να διπλασιάσουν το DNA και τα οργανίδιά 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). 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.[39]

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 εξωκυττάριες 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 G₂ 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 προσδεδεμένα στη μιτωτική άτρακτο πριν το διαχωρισμό και την κατανομή τους στα δύο θυγατρικά κύτταρα. Το σημείο ελέγχου της φάσης G₁ 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.[19]



Εικόνα 17. Ο Κυτταρικός κύκλος 17

2.6. ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΗ ΕΞΕΛΕΚΤΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΚΒΑΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

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

¹⁷ <u>http://mde-didaktiki.biol.uoa.gr</u>

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 οικουμενικού 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, αξιοποιώντας τις δυνατότητες του μηχανισμού με ανεξάντλητη επινοητικότητα (βλ. Εικόνα 18).[19]



Εικόνα 18. Από πού προήλθαν οι ευκαρυώτες; Ευκαρυωτική εξελικτική θεωρία [19](πηγή: *Alberts* et al (2011) p. 69).

Η ευκαρυωτική εξελικτική θεωρία διερευνά τις διαδικασίες που οδήγησαν στην εμφάνιση και την προσαρμογή των ευκαρυωτικών οργανισμών στον πλανήτη μας. Παράλληλα, η κβαντική βιολογία εξετάζει τον ρόλο των κβαντικών φαινομένων στις θεμελιώδεις βιολογικές διεργασίες. Τι σχέση μπορεί να έχει ο παράξενος κόσμος των κβάντων με τον αόρατο μικρόκοσμο της έμβιας ύλης; Πώς τιθασεύει η ζωή τις δυνάμεις του Χάους, καθώς γεννιέται και πεθαίνει στην κόψη κλασικού και κβαντικού κόσμου (βλ. Εικόνα 19); 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 και Johnjoe McFadden από το Πανεπιστήμιο του Σάρεϊ υποστηρίζουν: «ένα τουλάχιστον από τα πιο άγνωστα κομμάτια του παζλ της ζωής βρίσκεται στον κόσμο της κβαντικής μηχανικής, όπου τα σωματίδια 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 υποστηρίζουμε, ζει στην κβαντική μεθόριο». [21], [40], [41]



Εικόνα 19. Κβαντικά φαινόμενα στη βιολογία.¹⁸

¹⁸ <u>https://doi.org/10.3390/ijms242216464</u>

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΕΙΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι μεθοδολογίες μεγάλης κλίμακας για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης, όπως οι μικροσυστοιχίες (microarrays), η αλληλούχιση RNA (RNA-seq), η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qPCR), η in situ υβριδοποίηση, η Northern blotting και άλλες έχουν καταστεί αναπόσπαστα εργαλεία της μοριακής βιολογίας και της γενωμικής (βλ. Εικόνα 20). Σκοπός αυτών των τεχνικών αποτελεί η κατανόηση της λειτουργίας των γονιδίων μέσω της παρακολούθησης και της σύγκρισης της έκφρασής τους σε διάφορες συνθήκες, αναπτυξιακά στάδια ή παθολογικές καταστάσεις. Μέσω αυτών των μεθόδων, είναι δυνατό να ανιχνευθούν πρότυπα έκφρασης και βιοδείκτες που σχετίζονται με πιθανές ασθένειες.



Εικόνα 20. Μέθοδοι ανάλυσης γονιδιακής έκφρασης σε miRNA.¹⁹

¹⁹ <u>http://dx.doi.org/10.3390/bios13020226</u>

Οι μικροσυστοιχίες, οι οποίες πρωτοεμφανίστηκαν τη δεκαετία του 1990 και χρησιμοποιείται ευρέως από το 2000, αποτελούν μια τεχνολογία βασισμένη στον υβριδισμό, που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση χιλιάδων γονιδίων. Αποτελούν ένα ισχυρό εργαλείο για τη σύγκριση της έκφρασης μεταξύ δειγμάτων, αποκαλύπτοντας διαφοροποιήσεις που μπορεί να συνδέονται με διαφορετικές καταστάσεις ή περιβάλλοντα. Από την άλλη πλευρά, η RNA-seq, που εισήχθη περίπου δέκα χρόνια αργότερα, αντιπροσωπεύει μια εξελιγμένη προσέγγιση που βασίζεται στην αλληλούχιση υψηλής απόδοσης. Επιτρέπει όχι μόνο την ποσοτικοποίηση της γονιδιακής έκφρασης με ακρίβεια, αλλά και την ταυτόχρονη ανίχνευση νέων γονιδίων, εναλλακτικών μεταγραφών και microRNA.[42] Και στις δύο μεθόδους, το RNA εξάγεται από ένα βιολογικό δείγμα ενδιαφέροντος (π.χ. ιστούς όπως ο ανθρώπινος εγκέφαλος ή από καλλιέργειες κυττάρων). Οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της γονιδιακής έκφρασης, επιτρέποντας τη συγκριτική ανάλυση μεταξύ διαφορετικών καταστάσεων, όπως αναπτυξιακά στάδια, περιοχές ιστών ή παθολογικές συνθήκες (π.χ. μεταξύ φυσιολογικών και καρκινικών ιστών).[43], [44], [45]

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών λειτουργεί χρησιμοποιώντας προκαθορισμένες αλληλουχίες DNA οι οποίες είναι προσαρμοσμένες σε ένα υπόστρωμα. Το RNA μετατρέπεται σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) ή RNA (cRNA), επισημαίνεται με φθορίζουσα χρωστική και στη συνέχεια υβριδοποιείται με τις προεπιλεγμένες αλληλουχίες DNA. Οι διαφορές στην ένταση της υβριδοποίησης αντιστοιχούν στα επίπεδα της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων. Παρόλο που οι μικροσυστοιχίες αποτελούν οικονομικά και ταχεία εργαλεία, έχουν περιορισμούς, όπως η εξάρτηση από προκαθορισμένες αλληλουχίες και η δυσκολία ανίγνευσης νέων μεταγράφων. Η RNAseq, ωστόσο, βασίζεται στην αλληλούχιση ολόκληρου του RNA περιεχομένου ενός δείγματος. Αυτή η τεχνολογία επιτρέπει την ανίχνευση νέων μεταγράφων, ισόμορφων γονιδίων και σπάνιων RNAs, καθώς και τη μέτρηση των επιπέδων έκφρασης με υψηλή ακρίβεια. Επίσης, παρέχει πληροφορίες για μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις και επεξεργασία RNA. Οι δύο μέθοδοι έχουν συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση της βιολογίας, επιτρέποντας την αναγνώριση γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες, την κατανόηση μηγανισμών κυτταρικής διαφοροποίησης και τη διερεύνηση της επίδρασης περιβαλλοντικών παραγόντων στη γονιδιακή έκφραση.[42], [46], [47], [48]

3.2. ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ

Πιο συγκεκριμένα, μια μικροσυστοιχία αποτελεί μια διατεταγμένη απεικόνιση αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων από ένα ορισμένο βιολογικό δείγμα, οι οποίες τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου ή ειδικά κατασκευασμένων τσιπ σε μορφή συστοιχιών (συνήθως από γυαλί ή πυρίτιο). Οι ανιχνευτές (probes), ήτοι γνωστά δείγματα νουκλεϊκού οξέος που εναποτίθενται και προσκολλώνται στα τσιπ, δύνανται να είναι ολιγονουκλεοτίδια, συμπληρωματικό DNA ή DNA. Αυτές οι συστοιχίες υβριδοποιούνται με συμπληρωματικά νουκλεοτίδια από το δείγμα με στόχο τον προσδιορισμό της ύπαρξης (ή μη) και την ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων που έχουν επισημανθεί με φθορίζουσες ουσίες.

Τα μόρια δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος απομονώνονται από τα βιολογικά δείγματα, όπως μεμονωμένα κύτταρα, πυρήνες, κυτταρικές καλλιέργειες, ιστούς ή όργανα. Παρομοίως μόρια ριβονουκλεϊκού οξέος μπορούν να απομονωθούν από τα ίδια δείγματα και στη συνέχεια να μεταγραφούν αντίστροφα σε συμπληρωματικό DNA (cDNA). Τα νουκλεοτίδια που απομονώνονται επισημαίνονται με φθορίζουσες χρωστικές συγκεκριμένου χρώματος και αφήνονται να υβριδοποιηθούν με ανιχνευτές. Οι ανιχνευτές αυτοί αποτελούνται από σύντομες αλληλουχίες δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα γνωστά γονίδια-στόχους και είναι προσκολλημένοι σε προκαθορισμένες θέσεις σε μια συστοιχία πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα. Εάν το βιολογικό δείγμα εκφράζει το αντίστοιχο γονίδιοστόχο, το επισημασμένο DNA θα υβριδοποιηθεί με τον ανιχνευτή γονιδίου, εκπέμποντας φθορίζον σήμα με συγκεκριμένο χρώμα όταν διεγείρεται. Το σήμα αυτό ανιχνεύεται μέσω σάρωσης και φωτογράφισης της μικροσυστοιχίας. Η ένταση φθορισμού είναι ανάλογη με το επίπεδο υβριδισμού, επιτρέποντας έτσι την έμμεση μέτρηση της γονιδιακής έκφρασης.

Η ανάλυση των δεδομένων από μικροσυστοιχίες εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τρόπος προετοιμασίας των δειγμάτων, ο σχεδιασμός της μικροσυστοιχίας και το σύστημα σάρωσης που χρησιμοποιείται για τη συλλογή των δεδομένων. Οι παράμετροι αυτές μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των διαφορετικών πλατφορμών μικροσυστοιχιών, καθορίζοντας την ποιότητα και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων.[46], [49]

Τα κύρια στάδια ενός πειράματος με τη χρήση της μεθόδου μικροσυστοιχιών είναι τα εξής:

Προετοιμασία δείγματος και σήμανση (labeling): Το πρώτο στάδιο αφορά στην εξαγωγή και καθαρισμό του mRNA από το βιολογικό δείγμα. Το δείγμα αυτό, επί παραδείγματι δύναται να είναι είτε από ασθενή είτε υγιή ιστό. Η σήμανση πραγματοποιείται μέσω της αντίστροφης μεταγραφής. Η σήμανση δύναται να εφαρμοστεί με φθορίζουσες χρωστικές όπως η Cy3 (π.χ. πράσινη) ή Cy5 (π.χ.

κόκκινη) που επιτρέπουν τη διάκριση διαφορετικών δειγμάτων. Σε μικροσυστοιχίες δύο καναλιών, αυτά τα χρώματα χρησιμοποιούνται για να επισημανθούν τα test (π.χ. ασθενής ιστός ή υπό συνθήκες μικροβαρύτητας) και control (υγιής ιστός ή υπό επίγειες κανονικές συνθήκες βαρύτητας) δείγματα τα οποία εναποτίθενται στην ίδια μικροσυστοιχία και υβριδοποιούνται.

- Υβριδοποίηση: Στο στάδιο της υβριδοποίησης, οι ανιχνευτές στην επιφάνεια της μικροσυστοιχίας αλληλεπιδρούν με τα σεσημασμένα DNA από τα δείγματα, σύμφωνα με την αρχή της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Η διαδικασία αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε χειροκίνητα είτε με ρομποτικό τρόπο. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες διασφαλίζουν ότι μόνο οι κατάλληλες αλληλουχίες θα προσδεθούν.
- Πλύσιμο: Κατά τη διάρκεια της μικροσυστοιχίας απομακρύνονται οι μη ειδικές συνδέσεις και η περίσσεια διαλύματος υβριδισμού. Αυτό επιτυγχάνεται με διαλύματα που περιέχουν δωδεκυλοθειικό νάτριο (SDS) και αλατούχο διάλυμα κιτρικού νατρίου (SSC), τα οποία συνεισφέρουν στην απομάκρυνση των μη υβριδοποιημένων μορίων.
- Σάρωση: Κατά τη σάρωση, οι μικροσυστοιχίες τοποθετούνται σε έναν σαρωτή λέιζερ, ο οποίος διεγείρει τις φθορίζουσες χρωστικές Cy3 και Cy5. Η εικόνα που προκύπτει περιλαμβάνει σημεία φθορισμού που αντιστοιχούν σε ανιχνευτές (probes) της μικροσυστοιχίας. Ο σαρωτής, έτσι, σκανάρει κάθε σημείο της μικροσυστοιχίας διασφαλίζοντας ότι τα δεδομένα είναι ακριβή χωρίς παρεμβολές φωτός από γειτονικά σημεία.
- Κανονικοποίηση: Το τελευταίο στάδιο πριν την ανάλυση δεδομένων αποτελεί η κανονικοποίηση η οποία επιδιορθώνει τις συστηματικές αποκλίσεις που προκύπτουν κατά τη διάρκεια του πειράματος ή της σάρωσης.
 Χρησιμοποιούνται μέθοδοι (π.χ. Locally Weighted Scatterplot Smoothing, LOWESS) για την απαλοιφή μεροληψιών.
- Ανάλυση δεδομένων.[49]



Εικόνα 21. Στάδια μεθόδου μικροσυστοιχίας²⁰

3.3. ΠΛΑΤΦΟΡΜΕΣ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ

Έχουν αναπτυχθεί ποικίλες πλατφόρμες μικροσυστοιχιών, καθεμία από τις οποίες διαθέτει χαρακτηριστικά που την καθιστούν κατάλληλη για διαφορετικές εφαρμογές. Οι τρέχουσες μέθοδοι κατασκευής μικροσυστοιχιών δύνανται να ομαδοποιηθούν σε τέσσερις κατηγορίες.

- Η in situ (επιτόπου) σύνθεση ανιχνευτών νουκλεικων οξέων με τη χρήση φωτολιθογραφικών τεχνικών,
- η in situ σύνθεση με τη χρήση της τεχνολογίας εκτύπωσης ink-jet ή μη επαφής (noncontact),
- η ρομποτική εναπόθεση προκατασκευασμένων νουκλεϊκών οξέων με χρήση των τεχνολογιών εκτύπωσης επαφής ή μη επαφής
- η τυχαία τοποθέτηση προκατασκευασμένων νουκλεϊκών οξέων συνδεδεμένων με σφαιρίδια.

Παρόλο που κάθε κατασκευαστής χρησιμοποιεί μια ελαφρώς διαφορετική μέθοδο

²⁰ <u>https://www.intechopen.com/chapters/34641</u>

για την παραγωγή μικροσυστοιχιών, ο μηχανισμός χρήσης παραμένει ο ίδιος. Η αντίδραση υβριδισμού νουκλεϊκών οξέων αξιοποιείται για τη σύλληψη και τη διάκριση μιας αλληλουχίας νουκλεϊκών οξέων από μια άλλη.[50]

Ακολουθεί μια επισκόπηση των κυριότερων πλατφορμών που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιολογική έρευνα.

• Affymetrix GeneChip (Santa Clara, CA, USA): Η πλατφόρμα της Affymetrix χρησιμοποιεί την τεχνολογία, που αναπτύχθηκε στη βιομηχανία ημιαγωγών, GeneChips. Η τεχνολογία αυτή, ήτοι φωτολιθογραφία, χρησιμοποιεί ένα σύνολο αδιαφανών μασκών για τον επιλεκτικό αποκλεισμό ή την έκθεση του φωτός σε περιοχές ενός στερεού υποστρώματος στήριξης (wafer). Με την επιλεκτική έκθεση τμημάτων του πλακιδίου σε υπεριώδες φως καθίσταται δυνατή η σύνθεση νουκλεϊκών οξέων ή άλλων μορίων μέσω φωτοχημικών κατευθυνόμενων αντιδράσεων με έναν χωρικά εξαρτώμενο τρόπο.

Η Affymetrix συνθέτει συνήθως 25-μερείς ολιγονουκλεοτιδικούς ανιχνευτές (probes) στις συστοιχίες της. Τα ολιγονουκλεοτίδια συντίθενται με την επανάληψη μερικών χημικών αντιδράσεων. Στο πρώτο βήμα, ένα πλακίδιο εκτίθεται σε συγνότητες υπεριώδους φωτός που αφαιρεί τις φωτοδιαλυτές προστατευτικές ομάδες στα άκρα των ολιγονουκλεοτιδικών ανιχνευτών. Μόνο τα ολιγονουκλεοτίδια στο τμήμα του πλακιδίου που εκτίθεται στο υπεριώδες φως, το οποίο δεν εμποδίζεται από την αδιαφανή μάσκα, παύουν να προστατεύονται. Αυτά τα εκτεθειμένα τμήματα ενεργοποιούνται για το επόμενο βήμα της διαδικασίας. Τα ολιγονουκλεοτίδια στις μη εκτεθειμένες περιοχές του πλακιδίου παραμένουν προστατευμένα και εποσμένως ανενεργά. Στο δεύτερο βήμα (κατά την αντίδραση σύζευξης), μονομερή δεοξυνουκλεοσιδικής (deoxynucleoside φωσφοραμίδης phosporamidite) με φωτοευαίσθητες προστατευτικές ομάδες ξεπλένονται πάνω στη στερεά επιφάνεια του φορέα. Τα μονομερή αντιδρούν μόνο με τις ομάδες υδροξυλίου που έχουν εκτεθεί στο προηγούμενο βήμα. Μόνο ένα τύπος μονομερούς Α, G, T ή C προστίθεται ανά κύκλο. Στη συνέχεια, η φωτολιθογραφική μάσκα ανταλλάσσεται για την παύση της προστασίας της επόμενης ομάδας νουκλεοτιδίων που πρέπει να προστεθεί στις αναπτυσσόμενες αλυσίδες των ανιχνευτών. Η περίσσεια αντιδραστηρίων απομακρύνεται μετά από κάθε βήμα και η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου συντεθούν όλοι οι ολιγονουκλεοτιδικοί ανιγνευτές για μια συστοιγία. Πολλές συστοιχίες δύνανται να κατασκευαστούν στο ίδιο πλακίδιο. Η ατελής παύση προστασίας ή σύζευξης μπορεί να οδηγήσει σε διαφορές αλληλουχίας μεταξύ των ανιχνευτών στις συστοιχίες σε μία παρτίδα (ή μεταξύ παρτίδων). Κάθε γονίδιο αποτελείται συνήθως από πολλαπλά ζεύγη ανιχνευτών. Κάθε ζεύγος αποτελείται από δύο αλληλουχίες ολιγονουκλεοτιδίων, όπου η μια είναι συμπληρωματική προς το υπό εξέταση μετάγραφο (ανιχνευτής τέλειας ταύτισης, Perfect Match, PM), ενώ η άλλη έχει κεντρική αναντιστοιχία στην αλληλουχία του ανιχνευτή (mismatch, MM). Ο ανιχνευτής αναντιστοιχίας (MM probe) χρησιμοποιείται για τη διόρθωση και τη διάκριση μη ειδικών γεγονότων υβριδισμού, καθώς και για τον υπολογισμό του υποβάθρου. Ο ανιχνευτής αναντιστοιχίας (MM) είναι σχεδόν όμοιος με τον ανιχνευτή PM, αλλά έχει μια κρίσιμη διαφορά, καθώς η 13η βάση είναι διαφορετική. Ένας απλουστευτικός τρόπος «διόρθωσης» του ανιχνευτή PM και μείωσης του μη ειδικού υβριδισμού θα ήταν η αφαίρεση του MM από τον PM για κάθε σύνολο ανιχνευτών (probe set). Μία τιμή έκφρασης υπολογίζεται με τη χρήση όλων των ανιχνευτών αναφορικά με ένα συγκεκριμένο γονίδιο.[50], [51]



Εικόνα 22. Σχηματική επισκόπηση πειράματος μικροσυστοιχίας δύο χρωμάτων και ενός χρώματος Affymetrix a) Σε ένα πείραμα δύο χρωμάτων, χρησιμοποιούνται αντικειμενοφόροι πλάκες μικροσυστοιχίας επικαλυμμένες με 15.000 ολιγονουκλεοτίδια 70-μερών. Ίσες ποσότητες δύο δειγμάτων RNA ενισχύονται και επισημαίνονται με διαφορετικές φθορίζουσες και υβριδοποιούνται σε μία μικροσυστοιχία (το ένα δείγμα (π.χ. έλεγχος, control) επισημαίνεται με Cy3 (πράσινο) και το δείγμα 2 (π.χ. συνθήκη μικροβαρύητας) επισημαίνεται με Cy5 (κόκκινο)). b) Τα τσιπ μικροσυστοιχίας Affymetrix περιέχουν πολλαπλούς ανιχνευτές 10μερών ανά μετάγραφο.

 Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA): Χρησιμοποιεί την εκτύπωση ολιγονουκλεοτιδίων σε γυάλινες επιφάνειες μέσω ρομποτικών συστημάτων

²¹ <u>http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2010.275</u>

τεχνολογίας ψεκασμού μελανιού (ink-jet). Η Agilent Technologies χρησιμοποιεί τυποποιημένα ink-jets για τη χωρική παράδοση και διαχωρισμό των χημικών αντιδραστηρίων σε γυάλινο υπόστρωμα. Αυτή η τεχνολογία είναι ευέλικτη, δεδομένου ότι χρησιμοποιείται ένα ηλεκτρονικό αρχείο αντί για ένα σύνολο φυσικών μασκών για τον καθορισμό του μοτίβου και των ακολουθιών των ολιγονουκλεοτιδίων στη μικροσυστοιχία. Παρόλο που τα βασικά στάδια της αντίδρασης της σύζευξης που ακολουθείται είναι παρόμοια, η επιτόπια (in situ) χημική σύνθεση των ολιγονουκλεοτιδίων είναι ελαφρώς διαφορετική από εκείνη της Affymetrix. Αρχικά, τα μονομερή νουκλεϊκών οξέων εναποτίθενται σε χωρικά διακριτές θέσεις σε γυάλινο υπόστρωμα με τη χρήση εκτοξευτήρων μελανιού. Κάθε θέση λαμβάνει μία από τις τέσσερις πιθανές τροποποιημένες πρόδρομες ουσίες νουκλεϊνικού οξέος, Α, Τ, C ή G. Οι εναποτιθέμενες πρόδρομες ουσίες αντιδρούν με εκτεθειμένες αντιδραστικές θέσεις στο αναπτυσσόμενο ολιγονουκλεοτίδιο. Μετά την αντίδραση, η περίσσεια μονομερών ξεπλένεται. Στη συνέχεια, το υπόστρωμα πλένεται με ένα οξύ για την παύση προστασίας του τελευταίου πρόδρομου νουκλεοτιδίου που προστέθηκε κατά το τελευταίο βήμα. Το ολιγονουκλεοτίδιο είναι πλέον ενεργοποιημένο και έτοιμο για την προσθήκη του επόμενου πρόδρομου Α, Τ, C ή G που εναποτίθεται από τις δέσμες μελανιού. Δύναται να τροποποιηθεί η αλληλουχία του ολιγονουκλεοτιδίου οποιουδήποτε ή όλων των ανιχνευτών σε μια συστοιχία με αυτή την τεχνολογία. Με την ευελιξία της τεχνολογίας ink-jet είναι δυνατός ο εμπειρικός σχεδιασμός ανιχνευτών έναντι γονιδίων ενδιαφέροντος. [50], [52]

. Illumina BeadArray (San Diego, CA, USA): Οι ανιχνευτές συνδέονται με μικροσκοπικά σφαιρίδια (beads) και τοποθετούνται τυχαία σε χαραγμένες κοιλότητες ενός υποστρώματος. Κάθε σφαιρίδιο φέρει ένα συγκεκριμένο ανιχνευτή και τοποθετείται τυχαία, καθιστώντας την κάθε μικροσυστοιχία μοναδική. Ένα τσιπ δύναται να φέρει χιλιάδες μικροσφαίρες. Πιο συγκεκριμένα, σε αντίθεση με τις in situ τεχνικές κατασκευής των Affymetrix, Agilent και Nimblegen, η Illumina γρησιμοποιεί μια μέθοδο αυτοσυναρμολόγησης για την κατασκευή μικροσυστοιχίων που ονομάζονται BeadChips. Κατά αυτόν τον τοποθέτηση ογκδωδώς συντεθειμένων τρόπο αξιοποιεί την τυχαία ολιγονουκλεοτιδικών ανιχνευτών σε ένα υπόστρωμα με καθορισμένο μοτίβο. Σε αυτή τη μέθοδο, οι ανιχνευτές μήκους 70 ολιγονουκλεοτιδίων συντίθενται πρώτα με την τεχνολογία Oligator Illumina, η οποία χρησιμοποιεί μια τεχνική φυγοκέντρησης για την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ολιγονουκλεοτιδίων. Κάθε ανιγνευτής περιέχει μια αλληλουχία 50 νουκλεοτιδίων για το γονίδιο που εξετάζει και μια αλληλουχία 20 νουκλεοτιδίων για τον προσδιορισμό της θέσης του σφαιριδίου στη συστοιχία. Τα ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένα σε σφαιρίδια πυριτίου, ομαδοποιούνται και τοποθετούνται σε ένα υπόστρωμα με χαραγμένες κοιλότητες. Τα σφαιρίδια σε κάθε ομάδα βρίσκουν τυχαία μεμονωμένες κοιλότητες στο υπόστρωμα για να προσδεθούν. Λόγω της τυχαιότητας της κατανομής των ανιχνευτών στη μικροσυστοιχία, κάθε συστοιχία που δημιουργείται έχει διαφορετικό μοτίβο κατανομής και αριθμό ανιγνευτών ολιγονουκλεοτιδίων. Κατά μέσο όρο, κάθε συστοιχία περιέχει περίπου 30 σφαιρίδια από κάθε τύπο ανιχνευτή. Σε αντίθεση με τις άλλες πλατφόρμες μικροσυστοιχιών που συζητήθηκαν, κάθε συστοιχία της Illumina είναι μοναδική και απαιτεί την εξαγωγή της θέσης των σφαιριδίων πριν από τη χρήση της. Για να προσδιοριστεί η κατανομή των σφαιριδίων στη συστοιχία, κάθε μικροσυστοιχία περνάει από μια σειρά αντιδράσεων υβριδισμού για την αποσυμπίεση του μοτίβου των ανιχνευτών στο υπόστρωμα. Κατά τη κάθε βήματος διαδικασίας, δύο φθορίζοντες διάρκεια της στόχοι υβριδοποιούνται στη συστοιχία, απεικονίζονται και στη συνέχεια αφαιρούνται από τη συστοιχία για την επόμενη αντίδραση υβριδοποίησης με διαφορετικό σύνολο φθοριζόντων στόχων. Μετά από κάθε αντίδραση, κάθε ανιχνευτής έχει μία από τις τρεις καταστάσεις με βάση την αλληλουχία των δύο στόχων που υβριδοποιούνται, κόκκινο, πράσινο ή χωρίς χρώμα. Κατά τη διάρκεια της επόμενης αντίδρασης υβριδισμού, κάθε ανιχνευτής θα έχει ένα άλλο σύνολο τριών πιθανών καταστάσεων με βάση ένα διαφορετικό σύνολο αλληλουχιών στόχων. Με ένα κατάλληλο σύνολο φθοριζόντων στόχων σχεδιασμένων έναντι των αλληλουχιών των 20-μερών ανιχνευτών, κάθε σφαιρίδιο ή ανιχνευτής μπορεί να αναγνωριστεί μοναδικά στη συστοιχία. Δεδομένου ότι η τοποθέτηση των ανιγνευτών σε κάθε μικροσυστοιγία Illumina είναι μοναδική, εξαλείφονται οι μεροληψίες που οφείλονται στο σημείο στο οποίο βρίσκονται οι ανιχνευτές στη συστοιχία, δηλαδή στο κέντρο ή στην άκρη. Κάθε ανιχνευτής σε κάθε συστοιγία δοκιμάζεται επίσης πειραματικά κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων υβριδισμού αποκωδικοποίησης, γεγονός που παρέχει πρόσθετες πληροφορίες ελέγχου ποιότητας για την κατασκευή των συστοιχιών και των ανιχνευτών. [50], [53]

Roche NimbleGen (Madison, WI, USA): Η Nimblegen χρησιμοποιεί μια

φωτολιθογραφική τεχνική για την κατασκευή μικροσυστοιχιών παρόμοια με εκείνη της Affymetrix. Ωστόσο, η Nimblegen δεν χρησιμοποιεί ένα σύνολο φυσικών μασκών για την καθοδήγηση των φωτοχημικών αντιδράσεων. Αντί αυτού, η Nimblegen χρησιμοποιεί μια σειρά μικροκαθρεφτών για την επιλεκτική κατεύθυνση του φωτός σε περιοχές του υποστρώματος της μικροσυστοιχίας. Κάθε μικροκαθρέφτης στη συστοιχία είτε αντανακλά το φως σε μια συγκεκριμένη περιοχή του υποστρώματος είτε δεν αντανακλά το φως, δημιουργώντας μια ψηφιακή μάσκα. Δεδομένου ότι η ψηφιακή συστοιχία μικροκατόπτρων ελέγχεται από λογισμικό, είναι εύκολη η αλλαγή των αλληλουχιών των ολιγονουκλεοτιδίων. Τα βήματα για την κατασκευή της συστοιχιών είναι παρόμοια με εκείνα της Affymetrix[50], [54], [55]

 Luminex xMAP: Χρησιμοποιεί τεχνολογία πλατφόρμας μικροσφαιριδίων που δύνανται να φέρουν ανιχνευτές, αντισώματα ή πρωτεΐνες. Υποστηρίζει μέχρι 500 διαφορετικούς ανιχνευτές σε μονό δείγμα.[56]

4. MIKPOBAPYTHTA

4.1. ΑΠΟ ΤΟΝ ΘΑΛΗ ΚΑΙ ΤΟΝ ΗΣΙΟΔΟ ΣΤΟΝ ΕΙΝSTΕΙΝ ΚΑΙ ΣΤΟΝ POINCARE

Ο Θαλής ο Μιλήσιος (6°ς αιώνας π.Χ.) αναγνωρίζεται ιστορικά ως το πρώτο άτομο που ασχολήθηκε με την φιλοσοφική επιστήμη, τη θεωρητική γεωμετρία και την αστρονομία. Ο Θαλής υπέθεσε ότι η γενεσιουργός αρχή του άφθαρτου και αγέννητου σύμπαντος και η φύση της ύλης ήταν μια και μόνη υλική ουσία, το νερό. Ο Ηράκλειτος από την Έφεσο (5°ς αιώνας π.Χ.) υποστήριξε ότι ο κόσμος ήταν φτιαγμένος από φωτιά και ότι η φωτιά, το νερό και η γη ήταν απλώς διαφορετικές καταστάσεις της μίας και μοναδικής ύλης. Ο Δημόκριτος (4°ς αιώνας π.Χ.) και ο Λεύκιππος (5°ς αιώνας π.Χ.) από τα Άβδηρα ήταν εξ ολοκλήρου υλιστές, πιστεύοντας ότι τα πάντα είναι αποτέλεσμα φυσικών νόμων και ότι αποτελούνται από τα άτομα, τα οποία είναι φυσικά, αλλά όχι γεωμετρικά, αδιαίρετα. Ο Αριστοτέλης (350 π.Χ.), ο οποίος διδάχθηκε από τον Πλάτωνα ($4^{\circ\varsigma}$ αιώνας π.Χ.), άσκησε μοναδική επιρροή σχεδόν σε κάθε μορφή γνώσης στη Δύση. Περιέγραψε δύο είδη κίνησης, τη βίαιη και τη φυσική κίνηση. Ο Αριστοτέλης ανέφερε ότι ο αιθέρας κινείται φυσικά κυκλικά γύρω από τον ουρανό, ενώ τα τέσσερα στοιγεία (σύμφωνα με τον Εμπεδοκλή) κινούνται κάθετα προς τα πάνω (όπως η φωτιά) ή προς τα κάτω (όπως η γη) προς τις φυσικές θέσεις ανάπαυσής τους. Ο Αρίσταρχος από τη Σάμο (3°ς αιώνας π.Χ.) παρουσίασε το πρώτο γνωστό ηλιοκεντρικό μοντέλο, το οποίο απορρίφθηκε υπέρ των γεωκεντρικών θεωριών της εποχής εκείνης. Ο Αρχιμήδης από τις Συρακούσες (2°ς αιώνας

π.Χ.) μαθηματικός, φυσικός, μηγανικός και αστρονόμος, υπέθεσε ότι αν δύο μάζες έχουν το ίδιο βάρος αλλά διαφορετικά κέντρα βάρους, τότε το συνολικό τους κέντρο βάρους θα βρίσκεται στο μέσο της ευθείας που ενώνει τα κέντρα βάρους των δύο μαζών. Ο Κοπέρνικος (1473-1543) επιγείρησε να εξηγήσει τις πλανητικές κινήσεις με όρους του ηλιοκεντρικού σύμπαντος, τοποθετώντας τον Ήλιο στο κέντρο αυτού που σήμερα ονομάζουμε ηλιακό σύστημα. Ο Γαλιλαίος (1564-1642) πραγματοποίησε πειράματα για να αποδείξει ότι σφαίρες διαφορετικής μάζας είχαν τον ίδιο χρόνο καθόδου, ο οποίος ήταν ανεξάρτητος από τη μάζα τους. Ο Νεύτωνας (1642-1726) κατόρθωσε εκπληκτικό αριθμό θεμελιωδών ανακαλύψεων. Επιθυμούσε να κατανοήσει πώς κινούνται τα πάντα – όχι μόνο οι πλανήτες γύρω από τον Ήλιο - αλλά και μια μπάλα που πετιέται στον αέρα ή μια πέτρες που κυλάει από έναν λόφο. Ο Σερ Ισαάκ Νεύτωνας ήταν ο πρώτος που διατύπωσε τον νόμο της παγκόσμιας έλξης και τους τρεις θεμελιώδεις νόμους της κίνησης, οι οποίοι αποτελούν τη βάση για την κατανόηση της πλανητικής κίνησης και των διαστημικών πτήσεων. Ο νόμος της παγκόσμιας έλξης αναφέρει ότι κάθε σωματίδιο έλκει κάθε άλλο σωματίδιο με μια δύναμη που είναι ανάλογη με το γινόμενο των μαζών τους και αντιστρόφως ανάλογη με το τετράγωνο της απόστασης μεταξύ των κέντρων μάζας τους. Παράλληλα, η δύναμη ορίζεται ως το γινόμενο της μάζας ενός αντικειμένου επί την επιτάχυνσή του. Έτσι, οποιοδήποτε αντικείμενο στην επιφάνεια της Γης υφίσταται επιτάχυνση προς το κέντρο της με τιμή περίπου 9,8 m/s², λόγω της βαρυτικής έλξης. Πέρασαν περίπου δύο αιώνες μέχρι ο Άλμπερτ Αϊνστάιν να μεταμορφώσει πλήρως την αντίληψή μας για τη βαρύτητα.[57], [58]

Η βαρύτητα διαμορφώνει το χωροχρονικό συνεχές. Ο χώρος μπορεί να περιγραφεί μέσω των φυσικών ιδιοτήτων του από την επιστήμη της γεωμετρίας. Ένα κρίσιμο φυσικό μέγεθος στο χωροχρόνο, το οποίο χαρακτηρίζει το είδος της γεωμετρίας και περιγράφει τις ιδιότητές του, αποτελεί ο συντελεστής καμπυλότητας ε. Συγκεκριμένα, ο χώρος όπως ορίζεται από την γεωμετρία του Ευκλείδη (3^{oc} αιώνας π.Χ.) χαρακτηρίζεται από ε = 0, ο χώρος Λομπατσέφσκι (1792-1856) παρουσιάζει αρνητική καμπυλότητα (ε < 0), ενώ ο χώρος του Ρίμαν (1826-1866) παρουσιάζει θετική καμπυλότητα (ε > 0) (βλ. Εικόνα 23).[59] Το 1905 (Ειδική Θεωρία της Σχετικότητας), ο Αϊνστάιν εισήγαγε ένα καινοτόμο κοσμολογικό μοντέλο στο οποίο ο χώρος και ο χρόνος δεν είναι απόλυτες, αλλά σχετικές έννοιες οι οποίες εξαρτώνται από την ταχύτητα του παρατηρητή και ο χώρος δεν μπορεί να είναι συνδικά ομοιογενής παρά μόνο για μικρές περιοχές. Ο χώρος και ο χρόνος είναι άρρηκτα προχρος δημουργώντας την (τουλάχιστον) τετραδιάστατη κοσμική πραγματικότητα. [60] Στη Γενική Θεωρία της Σχετικότητας (1915), ο χωροχρόνος δεν μπορεί να γίνει αντιληπτός από την ανθρώπινη φυσιολογία και αισθήσεις. Ως εκ τούτου, η

γεωμετρία του Ρίμαν κυριαρχεί στο διάστημα, όπου το φως και η ύλη δεν κινούνται σε κυκλικές τροχιές εξαναγκασμένες από οποιαδήποτε δύναμη, αλλά κινούνται σε ευθείες γραμμές του καμπύλου χωροχρόνου, γνωστών ως γεωδαισιακές καμπυλότητες. Ο Αϊνστάιν πρότεινε την επαναστατική ιδέα ότι η βαρύτητα αποτελεί συνέπεια του γεγονότος ότι ο χωροχρόνος καμπυλώνεται από την παρουσία μάζας και ενέργειας. Η καμπυλότητα του χωροχρονικού συνεχούς καθορίζεται από την φύση της ύλης που το γεμίζει. Έτσι η ύλη δεν αντιμετωπίζεται πια ως ένα αμετάβλητο σύμπλεγμα μορίων, όπως θεωρούσε ο Νεύτωνας, αλλά ως μια παραδοξότητα του χωροχρονικού συνεχούς.[61], [62]



Εικόνα 23. Γεωμετρία σύμφωνα με τους Ευκλείδη, Λομπατσέφσκι και Ρίμαν²²

²² <u>http://dx.doi.org/10.1177/1473095213487967</u>

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.[63]

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. Πιστεύουμε βέβαια ότι είναι ευσταθείς, αφού όλα τα μέχρι σήμερα δεδομένα δείγνουν 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. [63] Χαοτική συμπεριφορά μπορεί να εκδηλωθεί ακόμη και στην κίνηση ενός και μόνο ατόμου ή μορίου, όταν το σύστημα περιγράφεται από τουλάχιστον τρεις μεταβλητές που αλληλεπιδρούν μέσω μη γραμμικών δυνάμεων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η κίνηση ενός ατόμου μέσα σε ένα τρισδιάστατο δοχείο, όπου ανακλάται συνεχώς στα τοιχώματα. Αν οι επιφάνειες του δοχείου είναι καμπύλες ή ανομοιογενείς, ακόμα και απειροελάχιστες διαφορές στην αρχική θέση ή ταχύτητα του ατόμου μπορούν να οδηγήσουν σε δραστικά διαφορετικές διαδρομές, καθιστώντας την πρόβλεψη της ακριβούς κίνησης σχεδόν αδύνατη — αυτό αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του χάους. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και στην πιο καθημερινή εμπειρία της ρίψης ενός ζαριού. Αν και πρόκειται για ένα μακροσκοπικό αντικείμενο, η συμπεριφορά του είναι ευαίσθητη σε μικροσκοπικές μεταβολές: μια ανεπαίσθητη αλλαγή στη γωνία ρίψης, στη δύναμη ή στη φορά της κίνησης μπορεί να οδηγήσει σε εντελώς διαφορετικό αποτέλεσμα. Όπως και με το άτομο στο δοχείο, η τελική κατάσταση του ζαριού δεν μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια, παρά μόνο πιθανολογικά.[64]

Σε αρκετά δυναμικά συστήματα παρατηρείται μακροσκοπική τάξη (π.χ. ρεύματα μεταφοράς μέσα σε ένα δοχείο με θερμαινόμενο νερό, στους τυφώνες, στους ανεμοστρόβιλους, στην ερυθρά κηλίδα του πλανήτη Δία) 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.[65]

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

- Σύγκλιση προς (ή απόκλιση από) απομονωμένα σταθερά σημεία του χώρου φάσεων, ή σημεία ισορροπίας, αναλόγως αν αυτά αποτελούν ευσταθείς (ή ασταθείς) κόμβους,
- Ταλαντώσεις που είναι περιοδικές ή σχεδόν περιοδικές,
- Χαοτική συμπεριφορά, κατά την οποίαν 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 ένας ελκυστής του δυναμικού συστήματος. Στις δύο πρώτες περιπτώσεις ο εν λόγω ελκυστής λέγεται κανονικός ενώ στην τρίτη λέγεται παράξενος (strange attractor).[66]

Η παρακάτω κατηγοριοποίηση χρονοσειρών πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό του χαοτικού συστήματος (βλ. Εικόνα 24):

- 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 (∞).
- 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 τρέχουσας κατάστασης για τον υπολογισμό των μελλοντικών τιμών της επόμενης κατάστασης.
- (Ευαίσθητη) Εξάρτηση από τις αρχικές συνθήκες: Συνεπάγεται πως δύο σημεία που είναι αρχικά κοντά θα απομακρυνθούν αισθητά καθώς αυξάνεται η μεταβλητή

του χρόνου. 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.[21], [64]



Εικόνα 24. Οι παραδοσιακές χρονοσειρές (πάνω) και οι τροχιές στο χώρο των φάσεων (κάτω) είναι δύο τρόποι παρουσίασης των ίδιων στοιχείων και απεικόνισης 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.²³

Το πλανητικό σύστημα αποτελεί ένα πολυσωματιδιακό χαοτικό σύστημα, όπου οι βαρυτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλανητών, των φεγγαριών και των μικρότερων σωμάτων μπορούν να οδηγήσουν σε μακροχρόνια μη προβλέψιμες τροχιακές μεταβολές. Μελέτες δυναμικής συστημάτων έχουν δείξει ότι παρότι το ηλιακό σύστημα φαίνεται σταθερό σε μικρές χρονικές κλίμακες, σε βάθος εκατομμυρίων ετών οι τροχιές των πλανητών μπορούν να παρουσιάσουν χαοτική συμπεριφορά λόγω της αλληλεπίδρασης βαρυτικών δυνάμεων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η κίνηση του πλανήτη Ερμή, όπου μικρές διαταραχές από άλλους πλανήτες μπορούν να οδηγήσουν σε μη γραμμικές αλλαγές στην τροχιά του. Στο περιβάλλον μικροβαρύτητας, οι φυσικές διεργασίες – όπως η δυναμική ρευστών, η κίνηση σωμάτων και η μεταφορά θερμότητας – παρουσιάζουν έντονη μη γραμμικότητα και είναι εξαιρετικά ευαίσθητες στις αρχικές συνθήκες. Αυτό είναι εμφανές σε πειράματα φυσικής ρευστών στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό, όπου

²³ Gleick J. Chaos: Making a new science: Open Road Media; 2011.

ακόμα και μικροσκοπικές διαταραχές μπορούν να προκαλέσουν απρόβλεπτες δυναμικές αλλαγές στη διάταξη και κίνηση των ρευστών. Η σύνδεση της μικροβαρύτητας και του πλανητικού συστήματος με το αιτιοκρατικό χάος αφορά κυρίως στη δυναμική εξέλιξη των συστημάτων αυτών και την ευαισθησία τους στις αρχικές συνθήκες. Το αιτιοκρατικό χάος εμφανίζεται σε πολύπλοκα συστήματα όπου μικρές αλλαγές στις αρχικές συνθήκες δύνανται να οδηγήσουν σε μεγάλες αποκλίσεις στην εξέλιξή τους.[67], [68], [69], [70]

4.2. Η ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΩΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ

Το πλανητικό σύστημα που αποκαλούμε σπίτι μας βρίσκεται σε έναν εξωτερικό σπειροειδή βραχίονα του Γαλαξία (Milky Way) μας. Το ηλιακό μας σύστημα αποτελείται από το αστέρι μας, τον Ήλιο, τους πλανήτες Ερμή, Αφροδίτη, Γη, Άρη, Δία, Κρόνο, Ουρανό και Ποσειδώνα, πλανήτες νάνους όπως ο Πλούτωνας, δεκάδες φεγγάρια και εκατομμύρια αστεροειδείς, κομήτες και μετεωρίτες. Ο Ήλιος και το υπόλοιπο ηλιακό σύστημα σχηματίστηκαν από ένα γιγάντιο, περιστρεφόμενο νέφος αερίων και σκόνης που ονομάζεται ηλιακό νεφέλωμα πριν από περίπου 4.5 δισεκατομμύρια χρόνια. Καθώς το νεφέλωμα κατέρρεε λόγω της συντριπτικής του βαρύτητας, περιστρεφόταν ταχύτερα και ισοπεδώθηκε σε έναν δίσκο. Το μεγαλύτερο μέρος της ύλης τραβήχτηκε προς το κέντρο για να σχηματιστεί ο Ήλιος, ο οποίος αντιπροσωπεύει το 99,8% της μάζας ολόκληρου του ηλιακού μας συστήματος. Η Γη σχηματίστηκε όταν η βαρύτητα τράβηξε τα στροβιλισμένα αέρια και τη σκόνη προς τα μέσα δημιουργώντας έτσι τον τρίτο πλανήτη κατά σειρά από τον Ήλιο. Η Γη διαθέτει κεντρικό πυρήνα, βραχώδη μανδύα και στερεό φλοιό όπως και άλλοι γήινοι πλανήτες.[71]

Η βαρύτητα αποτελεί την μόνη περιβαλλοντική παράμετρο που παρέμεινε σταθερή κατά την περίοδο εξέλιξης της έμβιας ύλης στη Γη. Τα πάντα στη Γη υπόκεινται σε σταθερή δύναμη βαρύτητας, η οποία επηρεάζει καθοριστικά τα φυσικά, χημικά και βιολογικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα στον πλανήτη. Η βαρύτητα έλκει όλα τα αντικείμενα προς κέντρο της Γης, καθορίζοντας τη δομή και τις λειτουργίες των φυσικών συστημάτων. Από τη ροή των ποταμών και τη μετακίνηση των ηφαιστείων μέχρι τις βιολογικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα μέσα στα σώματά μας, η βαρύτητα αποτελεί μια από τις θεμελιώδεις δυνάμεις που διαμορφώνουν το περιβάλλον μας. Τα ανθρώπινα σώματα, όπως και όλα τα ζωντανά συστήματα στη Γη, έχουν προσαρμοστεί στο συγκεκριμένο επίπεδο βαρύτητας. Η σύνθεση και η αρχιτεκτονική του σκελετού μας, η διάταξη και η λειτουργία των οργάνων μας, ακόμα και η κατανομή των σωματικών υγρών, έχουν εξελιχθεί ώστε να υποστηρίζουν την επιβίωσή μας σε ένα περιβάλλον επιπέδου βαρύτητας 1g. Η επιρροή της βαρύτητας είναι τόσο ουσιαστική που η απουσία της (π.χ. συνθήκη μικροβαρύτητας στο διάστημα) δύναται να προκαλέσει σημαντικές προσαρμογές στην φυσιολογία του εκάστοτε οργανισμού. Ο όρος μικροβαρύτητα χρησιμοποιείται για να περιγράψει την κατάσταση όπου η δύναμη της βαρύτητας είναι εξαιρετικά μειωμένη συγκριτικά με τα επίπεδα αυτής στη Γη. Αυτή η συνθήκη γίνεται αντιληπτή στο διάστημα, όπου οι αστροναύτες και τα αντικείμενα κινούνται χωρίς τη συνηθισμένη αντίσταση της επίγειας βαρύτητας, επιτρέποντας τους να αιωρούνται ελεύθερα μέσα στο διαστημόπλοιο ή να πραγματοποιούν εξωτερικούς διαστημικούς περιπάτους. Αν και συχνά χρησιμοποιείται ο όρος «μηδενική βαρύτητα» για να περιγράψει την προαναφερθείσα κατάσταση, αυτό δεν ισχύει, καθώς μια μικρή δύναμη βαρύτητας εξακολουθεί να υφίσταται ακόμα και στο διάστημα. Η βαρύτητα είναι η δύναμη που διατηρεί το φεγγάρι σε τροχιά γύρω από τη Γη, κρατά τη Γη σε τροχιά γύρω από τον Ήλιο, καθώς επίσης συγκρατεί το Ήλιο σε θέση εντός του Γαλαξία μας. Η ένταση της βαρύτητας εξασθενεί όσο μεγαλώνει η απόσταση από την πηγή της. Αν και είναι δυνατόν ένα διαστημόπλοιο να απομακρυνθεί τόσο πολύ από τη Γη ώστε η βαρύτητα να γίνει αισθητά μικρότερη, αυτό δεν εξηγεί το γεγονός ότι τα αντικείμενα αιωρούνται μέσα σε ένα διαστημόπλοιο σε τροχιά. Ο Νεύτωνας είχε αναπτύξει ένα πείραμα σκέψης για να εξηγήσει αυτή την έννοια. Φανταστείτε ότι τοποθετούμε ένα κανόνι στην κορυφή ενός πολύ ψηλού βουνού. Όταν πυροδοτήσουμε το κανόνι, η σφαίρα που θα εκτοξευτεί θα αρχίσει να πέφτει προς τη Γη. Αν αυξήσουμε την ταχύτητα της εκτόξευσης, η σφαίρα θα διανύσει μεγαλύτερη απόσταση προτού προσγειωθεί. Αν η σφαίρα πυροδοτηθεί με την κατάλληλη ταχύτητα, θα συνεχίσει να πέφτει γύρω από τη Γη, επιτυγγάνοντας μια κατάσταση συνεχούς ελεύθερης πτώσης. Αυτή η κίνηση ονομάζεται τροχιά.

Ο Διεθνής Διαστημικός Σταθμός (International Space Station, ISS) (αντικείμενο μάζας περίπου 450 τόνων, ύψους 20 μέτρων και μήκους 51 μέτρων) κινείται σε ύψος περίπου μεταξύ 400 και 410 χιλιομέτρων πάνω από την επιφάνεια της Γης, όπου η βαρύτητα βρίσκεται σε επίπεδα 90% της έντασης που αισθανόμαστε στην επιφάνεια. Λόγω του γεγονότος ότι η περίοδος της τροχιάς του σταθμού γύρω από τη Γη είναι μια φορά κάθε 91 λεπτά, οι παρατηρητές εντός του ISS βιώνουν μια ανατολή ή δύση του ηλίου περίπου κάθε 45 λεπτά (βλ. Εικόνα 25. Παράμετροι Διεθνούς Διαστημικού Σταθμού, ISS (πηγή ESA).. Τα αντικείμενα και αστροναύτες βιώνουν μια συνθήκη συνεχούς ελεύθερης πτώσης από τη Γη. Ένα διαστημόπλοιο που βρίσκεται σε τροχιά κινείται με την κατάλληλη ταχύτητα (περίπου 27.750 χιλιόμετρα την ώρα) όπου η καμπύλη της πτώσης του αντιστοιχεί στην καμπυλότητα της Γης. Αυτό το φαινόμενο διατηρεί το διαστημόπλοιο σε υνεχή ελεύθερη πτώση γύρω από τον πλανήτη, αποτρέποντάς το από το να προσκρούσει στην επιφάνεια του. Το διαστημόπλοιο, οι αστροναύτες και όλα τα αντικείμενα εντός του βρίσκοται σε
διαρκή ελεύθερη πτώση γύρω από τη Γη. Επειδή όλα πέφτουν ταυτόχρονα και με την ίδια ταχύτητα, τα αντικείμενα και το πλήρωμα φαίνονται να αιωρούνται σε σχέση με το διαστημόπλοιο. Αυτή η συνθήκη δημιουργεί την ψευδαίσθηση μηδενικού βάρους που βιώνουν οι αστροναύτες σε τροχιά, αν και βρίσκονται υπό την επίδραση της γήινης βαρύτητας.

Παράλληλα, σε ένα περιβάλλον κενού, όπως το διάστημα, η βαρύτητα επηρεάζει όλα τα αντικείμενα με τον ίδιο ρυθμό, ανεξαρτήτως της μάζας τους. Για παράδειγμα, αν κάποιος ρίξει ένα σφυρί και ένα φτερό στη Γη, η αντίσταση του αέρα θα επιβραδύνει το φτερό, αλλά χωρίς την ύπαρξη ατμόσφαιρας και τα δύο αντικείμενα θα έπεφταν με την ίδια ταχύτητα. Παρόλο που η μάζα των αντικειμένων παραμένει αμετάβλητη σε μικροβαρύτητα, το βάρος τους ποικίλλει ανάλογα με την τοποθεσία. Επομένως, ενώ η μάζα παραμένει σταθερή, το βάρος ενός αντικειμένου εξαρτάται από το περιβάλλον

| PARAMETER | ASSEMBLY COMPLETE (2014) | | | | |
|--|--|--|--|--|--|
| Length | 73 m (~87 m with either ATV or Progress docked) | | | | |
| Module Length | 51 m | | | | |
| Width | 108,5 m (along truss) | | | | |
| Solar Array Length | 73 m | | | | |
| Height | 20 M | | | | |
| Mass | 450 000 kg | | | | |
| Habitable Volume | 388 m³ | | | | |
| Pressurized Volume | 916 m ³ | | | | |
| Power Generation | 84 kW (8 solar arrays) | | | | |
| Pressurised Laboratory Modules | ratory 5 (1 US, 2 Russian, 1 European, 1 Japanese) | | | | |
| ISPR Racks | 33 (13 in US Lab, 10 in Columbus, 10 in Kibo) | | | | |
| Multi-user External Payload Sites | 18 (4 on S3 Truss, 4 on Columbus module, 10 on Kibo External Facility) | | | | |
| Crew | 6 (crew complement is nominally 3 or 6 depending on increment phase but sometimes as high as 9 [in the post-Shuttle era] during an additional ESA short duration mission) | | | | |
| Orbit inclination | 51.64° | | | | |
| Mean Altitude | 350 – 450 km | | | | |
| Orbital period | ~91 minutes | | | | |
| Orbital velocity | ~7.66 km/s | | | | |
| Eccentricity of orbit | ~0 | | | | |
| Nominal Attitude | XVV (LVLH) | | | | |
| Average Research Crew Time/Week (Hours) | 35-40 hrs/wk (for both US and Russian segment) | | | | |
| S-Band Command Uplink Rate | High Data Rate (HDR): 72 kbps, Low Data Rate (LDR): 6 kbps | | | | |
| S-Band Telemetry Downlink Rate | High Data Rate (HDR): 192 kbps, Low Data Rate (LDR): 12 kbps | | | | |
| S/G Voice loops | 4 | | | | |
| Ku-Band Video | 6 | | | | |
| Downlink channels | | | | | |
| Data/Video Downlink Rate (Ku-Band) | 300 Mbps total (US Segment only) of which 259 Mbps usable after overheads. ~100 Mbps available for utilisation. | | | | |
| Ku-Band Contingency | 1 kbps | | | | |
| Command Uplink | | | | | |
| Ku-Band Internet | 25 Mbps | | | | |
| Protocol Uplink | | | | | |
| S-Band & Ku-Band | 30 - 70 % | | | | |
| coverage | | | | | |

Εικόνα 25. Παράμετροι Διεθνούς Διαστημικού Σταθμού, ISS (πηγή ESA).²⁴

4.3. ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΜΙΚΡΟΒΑΡΥΤΗΤΑΣ

Η προσομοίωση και μοντελοποίηση του διαστημικού περιβάλλοντος παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις λόγω των μοναδικών συνθηκών που επικρατούν στο διάστημα. Από τις πρώτες επανδρωμένες διαστημικές πτήσεις, η NASA και οι υπόλοιπες διαστημικές υπηρεσίες έχουν προσπαθήσει να κατανοήσουν και να ελαχιστοποιήσουν τις επιπτώσεις των στρεσογόνων παραγόντων στην υγεία των αστροναυτών. Εκτός από την έρευνα που αφορά στους ανθρώπους, διάφοροι οργανισμοί (βακτήρια, νηματώδεις, ζυμομύκητες, ποντίκια, μύγες φρούτων, αχινούς, ορτύκια, μέδουσες κ.α.) έχουν σταλεί σε διαστημικά φορτία με σκοπό την μελέτη των βιολογικών επιδράσεων του διαστήματος. Παρόλο που τα σύγχρονα συστήματα εκτόξευσης έχουν μειώσει το κόστος, η αποστολή οργανισμών

²⁴ https://www.esa.int/ESA Multimedia/Images/2018/07/Principal ISS parameters

εξαιρετικά δαπανηρές συγκριτικά με τα πειράματα στη Γη. Επιπρόσθετα, τα επιστημονικά δεδομένα περιορίζονται από το μικρό μέγεθος των πειραματικών δειγμάτων και τον γενικό περιορισμό του όγκου δεδομένων και πειραμάτων στο διάστημα. Οι προσομοιώσεις διαστημικών συνθηκών στη Γη, τα περιβαλλοντικά ανάλογα και οι έρευνες που διεξάγονται δύνανται να επιταχύνουν τη μελέτη βασικών βιολογικών προσαρμογών σε συνθήκες μικροβαρύτητας. [74]

Οι διαστημικές υπηρεσίες αξιοποιούν ποικίλες εγκαταστάσεις για τη δημιουργία συνθηκών μικροβαρύτητας, οι οποίες είναι καθοριστικής σημασίας τόσο για την εκπαίδευση των αστροναυτών όσο και για την προσομοίωση των συνθηκών που επικρατούν στο διάστημα. Συγκεκριμένα, οι παραβολικές πτήσεις αεροσκαφών επιτρέπουν προσομοιώσεις μικροβαρύτητας για σύντομα χρονικά διαστήματα (20-25 δευτερόλεπτα). Στο Διαστημικό Κέντρο Τζόνσον της NASA, τα αεροσκάφη C-9 Low-G Flight Research (γνωστό ως Vomit Comet) και KC-135 χρησιμοποιούνται για πολλαπλές τέτοιες πτήσεις. Επιπρόσθετα, η Ερευνητική Εγκατάσταση Μηδενικής Βαρύτητας, ένας πύργος ύψους περίπου 500 ποδιών αξιοποιείται για την ελεύθερη πτώση στο κενό δοκιμαστικών αντικειμένων για περίπου 5 δευτερόλεπτα.[75], [76], [77]

Ορισμένοι στρεσογόνοι παράγοντες, όπως η κοινωνική απομόνωση και ο περιβαλλοντικός θόρυβος, είναι σχετικά βατό να αναπαραχθούν σε διαστημικά ανάλογα.[78] Ωστόσο, η μικροβαρύτητα και ιονίζουσα ακτινοβολία αποτελούν σαφώς πιο δύσκολες συνθήκες για να προσομοιωθούν στη Γη. Τα επίπεδα μικροβαρύτητας δύνανται να προσομοιωθούν μέσω αναλόγων όπως:

- τους κλινοστάτες (clinostats) (βλ. Εικόνα 26),
- τα περιστρεφόμενα τοιχώματα (rotating wall vessels),

τις μηχανές τυχαίας τοποθέτησης (random positioning machines) για κύτταρα, φυτά ή ιστούς (βλ.

Εικόνα 27).[79]

Υπάρχουν, επίσης, συσκευές ανάρτησης για ζωικά μοντέλα οργανισμούς και μέθοδοι προσομοίωσης της ροής του αίματος σε συνθήκες διαστημικής πτήσης, όπως η χρήση παρατεταμένης ανάπαυσης στο κρεβάτι (bed rest) σε ανθρώπους ή ανάρτησης οπίσθιων άκρων σε τρωκτικά (βλ. Εικόνα 28).[74], [80] Η προσομοίωση μικροβαρύτητας σε ανθρώπους και τρωκτικά έχει συνδυαστεί με διαστημικούς στρεσογόνους παράγοντες όπως τα αυξημένα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα, την ιονίζουσα ακτινοβολία και την κοινωνική απομόνωση.[81], [82], [83], [84]



Εικόνα 26. 2D Clinostat. Σε ελεύθερη πτώση (πραγματική μικροβαρύτητα) τα αντικείμενα κατανέμονται ομοιόμορφα και δεν παρατηρείται καθίζηση. Η περιστροφή του κλινοστάτη αναγκάζει τα αντικείμενα σε κυκλικές διαδρομές των οποίων η γεωμετρία καθορίζεται από την ταχύτητα και την απόσταση από το κέντρο περιστροφής.



Εικόνα 27. a) Η πρώτη πλήρης κλίμακα RPM τοποθετημένη σε προσαρμοσμένη πλήρως ελεγχόμενη θερμοκοιτίδα που βρίσκεται στο ESA-ESTEC, TEC-MMG, Noordwijk, the Netherlands, b) RPM για την προσομοιώσης μικροβαρύτητας και μερικής βαρύτητας στο Dutch Space, Leiden, the Netherlands.²⁵

²⁵ <u>https://doi.org/10.1007/s12217-015-9471-8</u>



Εικόνα 28. Υποθετικές αρτηριακές πιέσεις αίματος (mmHg) και συσσώρευση ιστικών υγρών στη Γη και σε πραγματική μικροβαρύτητα, οριζόντια κατάκλιση και κατάκλιση με κλίση του κεφαλιού προς τα κάτω κατά 6 μοίρες.²⁶

Το περιβάλλον ακτινοβολίας του διαστήματος είναι επίσης δύσκολο να προσομοιωθεί πιστά, καθώς απαιτεί παρατεταμένη έκθεση σε μεικτά πεδία ιονίζουσας ακτινοβολίας σε χαμηλούς ρυθμούς δόσης. Συνήθως προσεγγίζεται στην Γη με την ίδια συνολική οξεία δόση ακτινοβολίας όπως ακτίνες γάμμα και Χ. Έχει προσφάτως αναπτυχθεί μια μέθοδος προσομοίωσης Γαλαξιακής Κοσμικής Ακτινοβολίας (GCR) στο Εργαστήριο Διαστημικής Ακτινοβολίας της NASA (NSRL) με εφαρμογή σε κύτταρα, ιστούς και ζωικά μοντέλα.[85], [86], [87] Παρά τις δυσκολίες, οι επίγειες προσομοιώσεις και οι μελέτες σε ανάλογα μικροβαρύτητας και των υπόλοιπων στρεσογόνων παραγόντων εξακολουθούν να αποτελούν βασικό εργαλείο για την κατανόηση των βιολογικών επιδράσεων της διαστημικής πτήσης.[88], [89]

4.4. ΣΤΡΕΣΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ

Το διαστημικό περιβάλλον συμπεριλαμβάνει ποικίλους στρεσογόνους παράγοντες οι οποίοι δύνανται να επιδράσουν στην ανθρώπινη φυσιολογία, καθώς και σε άλλους οργανισμούς (βλ. Εικόνα 29).[88] Οι κυριότεροι προαναφερθέντες παράγοντες είναι οι εξής:

 Απόσταση από τη Γη: Αυτή η συνθήκη προκαλεί ψυχολογικό στρες και διαταράσσει την αλληλουχία της ευρύτερης ομάδας. Η απόσταση από τη Γη περιορίζει το εύρος ιατρικών θεραπειών, καθώς επίσης την δυνατότητα άμεσης διάσωσης κατά την διάρκεια των διαστημικών αποστολών. Κατά αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται η ανάγκη μιας αυτόνομης υγειονομικής υποστήριξης μέσω των

²⁶ <u>https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00935.2015</u>

ιατρών αστροναυτών (όπως μια ενδεχόμενη χειρουργική επέμβαση), του απομακρυσμένου ελέγχου ιατρικών μετρικών μέσω φορητών αισθητήρων, αλλά και της ιατρικής διάγνωσης μέσω της γενετικής αλληλούχισης επί του σκάφους, της τεχνητής νοημοσύνης και των μοντέλων πρόβλεψης κινδύνου της ανθρώπινης υγείας.[90], [91], [92], [93]

- Κοινωνική Απομόνωση: Η παρατεταμένη κοινωνική απομόνωση αυξάνει τους ψυχολογικούς, συμπεριφορικούς και φυσιολογικούς κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία. Η μελέτη της κοινωνικής απομόνωσης, μέσω προσομοιώσεων στη Γη, σε ανθρώπινα και άλλα ζωικά μοντέλα έχει οδηγήσει σε ευρήματα που συνηγορούν σε επιπτώσεις όπως νευρολογικά ελλείματα, αυξημένο άγχος και δυσλειτουργίες στον ιππόκαμπο και το ανοσοποιητικό σύστημα. [94], [95], [96], [97], [98]
- Κλειστό Περιβάλλον: Η συνεχής και παρατεταμένη διαμονή σε ένα κλειστό οικοσύστημα διαστημοπλοίου αποτελεί ένα βιολογικά εχθρικό και κλειστό περιβάλλον για την ανθρώπινη φυσιολογία. Παράμετροι όπως η θερμοκρασία, ποιότητα του αέρα, επίπεδο πίεσης, φωτισμού, θορύβου και μικροβίων πρέπει να ελέγχονται διαρκώς σε μια διαστημική πτήση. Τα υψηλά επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα, ο συνεχής θόρυβος, οι διαταραχές στον ύπνο των αστροναυτών και ο παρατεταμένος εγκλεισμός του επηρεάζουν το καρδιαγγειακό, νευρολογικό και ανοσοποιητικό σύστημα. [99], [100]
- Ακτινοβολία: Η έκθεση στην ιονίζουσα ακτινοβολία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους κινδύνους, ιδιαίτερα κατά τις μελλοντικές αποστολές στο βαθύ διάστημα. Η ακτινοβολία βαρέων ιόντων (ΗΖΕ) αναφέρεται σε ιόντα υψηλής ενέργειας (μεγαλύτερα του ηλίου) και υψηλού φορτίου που αποτελούν μόλις το 1% της σύνθεσης των Γαλαξιακών Κοσμικών Ακτινοβολιών (GCR). Το περιβάλλον διαστημικής ακτινοβολίας συμπεριλαμβάνει ενεργητικά ηλιακά σωματίδια που εκπέμπονται κατά τη διάρκεια ηλιακών εκλάμψεων και των στεμματικών εκτοξεύσεων μάζας, καθώς και την GCR η οποία αποτελείται από ηλεκτρόνια, ποζιτρόνια (2%), πρωτόνια (85%), πυρήνες ηλίου (12%) και βαρέων ιόντων ΗΖΕ (1%). Η χρόνια έκθεση σε GCR, ιδίως τα σωματίδια HZE, προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία λόγω της ιονίζουσα φύσης τους, της υψηλής διεισδυτικότητας και της υψηλής εναπόθεσης ενέργειας. Στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό, ενώ το πλήρωμα προστατεύεται εν μέρει από το μαγνητικό πεδίο της Γης, παραμένει εκτεθειμένο σε μέση δόση ακτινοβολίας 100 με 200 mSv ετησίως. Οι δόσεις ακτινοβολίας κατά τη διάρκεια μιας μελλοντικής αποστολής στον Άρη προβλέπεται ότι θα φτάσουν τα 350mSv ανά έτος. Αντίθετα, το ετήσιο όριο έκθεσης σε ακτινοβολία για

επαγγελματίες στη Γη είναι τα 50 mSv. [101], [102], [103], [104]

Μικροβαρύτητα: Όλη η ζωή στη Γη έχει εξελιχθεί και προσαρμοστεί στη δύναμη της βαρύτητας. Υπάρχουν διαφορετικά επίπεδα βαρύτητας σε άλλους πλανήτες ή δορυφόρους, όπως στη Σελήνη η οποία εμφανίζει στην επιφάνειά της το ένα έκτο της βαρύτητας της Γης, ενώ στον Άρη βιώνει κάποιος το ένα τρίτο της γήινης βαρύτητας. Από την άλλη πλευρά, οι αστροναύτες βιώνουν επίπεδα βαρύτητας τριπλάσιας έως εξαπλάσιας έντασης εξαιτίας των ακραίων επιταχύνσεων που προκαλούνται από την ισχυρή ώθηση των πυραύλων κατά την εκτόξευση ή την απότομη επιβράδυνση κατά την είσοδο στην ατμόσφαιρα. Η μικροβαρύτητα προκαλεί κυτταρικές και μοριακές προσαρμογές και μεταβολές στο γονιδίωμα, στο επιγονιδίωμα καθώς και στο πρωτέωμα.[88], [105], [106]



Εικόνα 29. Το διαστημικό περιβάλλον ενέχει κινδύνους λόγω των ποικίλων στρεσογόνων παραγόντων.²⁷

4.5. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗ ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ

Παρά το γεγονός ότι η μελέτη των διδύμων αδερφών (Twins Study) της NASA αποτέλεσε ένα σημαντικό ορόσημο στην κλινική γονιδιωματική ανάλυση κατά τη διάρκεια των διαστημικών πτήσεων, οι περιορισμοί οι οποίοι προκύπτουν είναι εμφανείς. Οι εγγενείς προκλήσεις του περιορισμένου αριθμού υποκειμένων σε διαστημικά πειράματα παραμένουν λόγω των περιορισμένων πτήσεων, των κανονιστικών περιορισμών και του

²⁷ <u>https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.050</u>

υψηλού κόστους. Παρά αυτές τις προκλήσεις, ο προσεκτικός σχεδιασμός, οι διαδικασίες και η ανάλυση, σε συνδυασμό με μια εξειδικευμένη ερευνητική ομάδα, έχουν αποδείξει ότι μπορούν να προκύψουν πολύτιμες επιστημονικές γνώσεις από τις μελέτες Ι4 και JAXA. Οι επίγειες μελέτες και οι ομάδες ελέγχου, συμπεριλαμβανομένων πρωτοβουλιών όπως το HI-SEAS και το EXPAND, σε συνδυασμό με συνεργασίες με προγράμματα όπως το UK Biobank και εμπορικούς φορείς όπως το Pheno.AI και το Human Phenome Project, συνεχίζουν να εμπλουτίζουν την κατανόησή μας, παρά τους εγγενείς περιορισμούς στον αριθμό των ανθρώπινων υποκειμένων για τη διαστημική έρευνα.

Η σύγκριση των μοντέλων που προσομοιώνουν τις συνθήκες μικροβαρύτητας, όπως η ανάρτηση των οπίσθιων άκρων, η αποφόρτιση των άκρων, η ακινητοποίηση ή άλλα μοντέλα προσομοίωσης μικροβαρύτητας, με τις συνθήκες διαστημικής πτήσης, αποκαλύπτει τόσο κοινά στοιχεία όσο και σημαντικούς περιορισμούς. Τα προαναφερθέντα μοντέλα παρέχουν χρήσιμα δεδομένα σχετικά με τις επιδράσεις της μειωμένης μηχανικής φόρτωσης στους οργανισμούς, αλλά δεν αναπαράγουν πλήρως το σύνολο των παραμέτρων και των προσαρμογών της εκάστοτε φυσιολογίας που συνδέονται με την πραγματική έκθεση σε μικροβαρύτητα κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης. Μερικές από αυτές τις παραμέτρους είναι η έκθεση σε κοσμική ακτινοβολία, η διαταραχή των κιρκαδικών ρυθμών, η μεταβολή της κατανομής των υγρών, καθώς και οι διαφοροποιήσεις στην κυτταρική και ορμονική λειτουργία. Ενώ τα μοντέλα μικροβαρύτητας προσφέρουν σημαντικά δεδομένα για τις άμεσες αντιδράσεις του σώματος σε μειωμένη φόρτωση, οι περιορισμοί τους έγκεινται και στο γεγονός ότι δεν αναπαράγουν πλήρως την πολυπλοκότητα και τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης. Επομένως, παρά τις κοινές πτυχές των μοντέλων μικροβαρύτητας, είναι απαραίτητο να λαμβάνονται υπόψη οι διαφορές στην αποτύπωση των φυσιολογικών, μηχανικών και περιβαλλοντικών παραμέτρων, καθώς και οι μακροχρόνιες προσαρμογές του οργανισμού κατά τη διαστημική πτήση. Η κατανόηση αυτών των περιορισμών είναι κρίσιμη για την ακριβή εκτίμηση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από αυτά τα μοντέλα και για την βέλτιστη κατανόηση των επιδράσεων του διαστημικού περιβάλλοντος στην φυσιολογία του οργανισμού.[107], [108]

Συνοπτικά, η πληθώρα των πιθανών προαναφερθέντων κινδύνων που προκύπτουν από τις διαστημικές πτήσεις επηρεάζει πολλαπλά βιολογικά συστήματα. Αυτοί οι στρεσογόνοι παράγοντες προκαλούν επιπτώσεις όπως το οξειδωτικό στρες, οι βλάβες στο γονιδίωμα, η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, οι επιγενετικές ή / και ρυθμιστικές αλλαγές, η δυναμική συμπεριφορά του μήκους των τελομερών και οι μεταβολές στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ξενιστή και μικροβιώματος. Φυσιολογικά συστήματα συμπεριλαμβανομένων του

80

καρδιαγγειακού, του κεντρικού νευρικού, του μυοσκελετικού, του ηπατικού και του ανοσοποιητικού φαίνονται να πλήγονται στις συνθήκες αυτές. Η εφαρμοσμένη έρευνα είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μέτρων αντιμετώπισης και τη βελτιστοποίηση της παρακολούθησης βιοδεικτών για ανθρώπινη υγεία. Οι τομείς της διαστημικής βιολογίας και της αεροδιαστημικής ιατρικής θα ωφεληθούν από μακροχρόνιες πολύ-ομικές αναλύσεις που καταγράφουν τις επιδράσεις από την έκθεση στις στρεσογόνες συνθήκες και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορών βιολογικών χαρακτηριστικών και οργάνων. Η αναγκαιότητα μιας συλλογικής ανάλυσης πολλαπλών μοντέλων και μελετών συνεπάγεται και υπογραμμίζει τη σημασία της χρήσης μιας πληθώρας διαστημικών και επίγειων μοντέλων προσομοίωσης.

Η αποστολή πειραμάτων και οργανισμών στο διάστημα αποτελεί μια δαπανηρή διαδικασία, με εκτιμώμενο κόστος περίπου 10.000 δολάρια ανά κιλό. Οι βάσεις δεδομένων και τα αποθετήρια βιολογικών δειγμάτων (ακατέργαστα δεδομένα και μεταδεδομένα) είναι προσβάσιμα στο κοινό με μεγάλο μέρος των δεδομένων να είναι ανοιχτής πρόσβασης. Η ανοιχτή πρόσβαση σε αυτούς τους πόρους επιτρέπει στους ερευνητές να διεξάγουν νέες ανακαλύψεις μέσω θεμελιώδους και εφαρμοσμένης έρευνας, βιοπληροφορικής και μεταφραστικής επιστήμης. Η επαναχρησιμοποίηση δεδομένων από τις μελέτες διαστημικών πτήσεων και η συνεχής παρακολούθηση δύνανται να επιτρέψουν τη μοντελοποίηση των κινδύνων που σχετίζονται με τις διαστημικές πτήσεις, την ανάπτυξη ημιαυτόνομων ιατρικών συστημάτων υποστήριξης, τη δημιουργία βάσεων δεδομένων για τη διάγνωση ασθενειών και την ανάλυση αρνητικών επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία. Η Εικόνα 30 απεικονίζει ορισμένες από τις προγραμματισμένες αποστολές μεγάλης διάρκειας και μεγάλων αποστάσεων (βλ. αναλυτικά https://www.nature.com/articles/s41586-024-07586-8/tables/1). Υπάρχουν ήδη εκτεταμένα σχέδια για μακροχρόνιους ανθρώπινους οικισμούς στη Σελήνη και στον Άρη, καθώς επίσης σχέδια για την ανάπτυξη της διαστημικής εμπορικότητας και τουρισμού στη Χαμηλή Γήινη Τροχιά. Οι αποστολές αυτές σχετίζονται με τα προαναφερθέντα ερευνητικά ερωτήματα της διαστημικής βιολογίας. Από την άλλη πλευρά, η αξιοποίηση επίγειων αναλόγων υψηλής ακρίβειας, που προσομοιώνουν τις συνθήκες της ανθρώπινης διαστημικής πτήσης, είναι απαραίτητη για την οικονομικότερη και ταχύτερη διεξαγωγή πειραμάτων, καθώς και για την αξιόπιστη εξαγωγή αποτελεσμάτων. [109], [110]

Τα δεδομένα και οι νέες ανακαλύψεις που περιγράφονται παραπάνω είναι συναρπαστικά, αλλά δημιουργούν το ερώτημα: πώς θα γνωρίζουμε πότε θα έχουμε φτάσει στο τέλος της δεύτερης διαστημικής εποχής; Αυτό θα μπορούσε να συμβεί μέσα σε λίγες δεκαετίες. Τόσο η Κίνα όσο και οι ΗΠΑ έχουν ανακοινώσει σχέδια για επανδρωμένες αποστολές

81

στον Άρη (όχι νωρίτερα από το 2035 και το 2039, αντίστοιχα), καθώς και για ενεργές εργασίες επιστροφής δειγμάτων από τον Άρη. Οι νέες τροχιές που επιτρέπουν οι πύραυλοι βαριάς ανύψωσης, όπως το Starship, μπορούν να επιτρέψουν αποστολές που καλύπτουν μεγαλύτερα σεληνιακά τόξα ή τρεις πλανήτες σε ένα ταξίδι, ενώ οι μελλοντικές αποστολές θα επιτρέπουν στους ανθρώπους να ταξιδέψουν μακρύτερα από ό,τι στο παρελθόν. Μέχρι το έτος 2050 θεωρείται πιθανό να υπάρχουν: (1) δορυφόροι σε τροχιά γύρω από όλους τους πλανήτες του ηλιακού μας συστήματος, (2) μόνιμη παρουσία ανθρώπων στη Σελήνη, (3) η πρώτη επίσκεψη με πλήρωμα σε άλλον πλανήτη (π.χ. Άρης), (4) ανταλλαγή υλικών και δειγμάτων μεταξύ των πλανητών και (5) σχέδια για την αποστολή ανιχνευτών σε άλλα άστρα. Όταν αυτό το στάδιο θα έχει διαμορφωθεί, θα εισέλθουμε στην επόμενη διαστημική εποχή, κατά την οποία οι άνθρωποι θα είναι μόνιμοι ταξιδιώτες και εξερευνητές στο διάστημα.



Εικόνα 30. Προσεχείς διαπλανητικές αποστολές. 28

5. ΒΑΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΩΝ ΒΙΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ5.1. Η ΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΚΡΌΙΦ

Διαβάζοντας για πρώτη φορά το ένατο κεφάλαιο του δεύτερου μέρους του βιβλίου του Καθηγητή Βασίλη Κωστάκη με τίτλο «Αλλάζοντας τον κόσμο με μια μπάλα», θεώρησα πως υπογραμμίζεται έμμεσα, με υποδειγματικό τρόπο, η σπουδαιότητα της ανοικτής επιστήμης. Συγκεκριμένα, αναφέρει: Φανταστείτε, ο Γιόχαν Κρόιφ να είχε πατεντάρει τη χαρακτηριστική κοφτή ντρίπλα που είχε κάνει στο 24° λεπτό στον αγώνα της εθνικής Ολλανδίας ενάντια στη Σουηδία στο Παγκόσμιο Κύπελλο του 1974. Η ντρίπλα αυτή, λόγω της απλότητας, της ομορφιάς και της αποτελεσματικότητάς της, αποτελεί μέχρι και σήμερα μια από τις πιο δημοφιλείς κινήσεις στην ιστορία του ποδοσφαίρου. Το ότι έμεινε στην ιστορία ως «στροφή του Κρόιφ» δεν σημαίνει, βέβαια, ότι ο Κρόιφ ήταν ο πρώτος

²⁸ <u>https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.050</u>

που την έκανε. Δεν είναι γνωστή η προέλευσή της. Ωστόσο σίγουρα ο Ολλανδός ήταν αυτός που την έκανε τόσο γνωστή. Πόσο θα αφαιρούσε από το άθλημα αν οι παίκτες πατένταραν τις χαρακτηριστικές τους κινήσεις εμποδίζοντας τους άλλους ποδοσφαιριστές να τις επαναλάβουν, να τις κρατήσουν στη συλλογική μνήμη και να τις εμπλουτίσουν. Η αυστηρή πνευματική ιδιοκτησία είναι ο βασικός πυλώνας του συστήματος που καθορίζει τις ζωές μας. Του καπιταλισμού. Η γνώση είναι εγγενώς ελεύθερη. Και όταν αυτή μοιράζεται, γίνεται πιο πολύτιμη. Περισσότεροι άνθρωποι έχουν πρόσβαση στη γνώση και οι πιο ειδικοί μπορούν και να τη βελτιώσουν. Οι αυστηρές πατέντες κάνουν τεχνητά ένα αγαθό -την κάθε είδους γνώση- σπάνιο, ενώ αυτό γεννιέται ελεύθερο. Αυτή η τεχνητή σπανιότητα είναι η προϋπόθεση για να κερδοσκοπήσει κανείς. Βάζει ο καπιταλισμός τη γνώση σε μπουκάλια και τη μετατρέπει σε εμπόρευμα. Η άνιση πρόσβαση στη γνώση δημιουργεί ανισότητες.

Τη δεκαετία του 1920, τρεις Καναδοί ερευνητές ανακάλυψαν την ινσουλίνη για τη θεραπεία του διαβήτη και πούλησαν το δίπλωμα ευρεσιτεχνίας συμβολικά αντί ενός δολαρίου στο Πανεπιστήμιο του Τορόντο. Πριν την ανακάλυψη της ινσουλίνης, η ζωή των ατόμων με διαβήτη ήταν σύντομη. Τώρα εκατοντάδες εκατομμύρια διαβητικοί ζουν μια φυσιολογική ζωή. Λίγα χρόνια αργότερα, τη δεκαετία του 1950, ο γιατρός Γιόνας Σαλκ ανέπτυξε το εμβόλιο κατά της πολιομυελίτιδας. Την εποχή εκείνη, ο μέσος αριθμός θυμάτων της πολιομυελίτιδας, στις ΗΠΑ μόνο, ήταν περίπου 45 χιλιάδες άνθρωποι ετησίως. Λίγα χρόνια αργότερα, με το εμβόλιο του Σαλκ, ο αριθμός θα έπεφτε κάτω από τα χίλια θύματα. Ο Σαλκ δεν κατοχύρωσε με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας το εμβόλιο αυτό, επειδή πίστευε ότι άνηκε σε όλους τους ανθρώπους. Το 1955, σε ερώτηση ενός δημοσιογράφου για το ποιος είναι ο ιδιοκτήτης της πατέντας του εμβολίου που είχε εφεύρει, ο Σαλκ απάντησε: «Οι άνθρωποι, θα έλεγα. Δεν υπάρχει πατέντα. Θα μπορούσες να πατεντάρεις τον Ήλιο;».[111]

5.2. ANOIKTH E Π I Σ THMH (OPEN SCIENCE)

Τι ορίζουμε ως δεδομένα; Γενικά, τα δεδομένα αποτελούν κομμάτια πληροφορίας για μια θεματολογία συμπεριλαμβάνοντας θεωρητικές αλήθειες, ακατέργαστες μετρήσεις ή επεξεργασμένες τιμές. [112]

Τι ορίζεται ως Ανοικτή Επιστήμη (Open Science); Σύμφωνα με την ESA, η Ανοικτή Επιστήμη (ή Επιστήμη 2.0) αναφέρεται στις ταχείες και συστηματικές αλλαγές που επηρεάζουν τον τρόπο οργάνωσης της επιστήμης και της διεξαγωγής της έρευνας. Αυτή η εξέλιξη καθοδηγείται από τις ραγδαίες εξελίξεις στις τεχνολογίες πληροφορίας και επικοινωνίας, καθώς και στις ψηφιακές τεχνολογίες, σε συνδυασμό με τη διαρκώς αυξανόμενη απαίτηση για μια επιστήμη για την κοινωνία και μέσα στην κοινωνία.

Η φιλοσοφία της ανοικτής επιστήμης (Open Science) εδράζεται στην ιδέα ότι η ευρεία και ελεύθερη πρόσβαση σε επιμελημένα επιστημονικά δεδομένα δύναται να οδηγήσει στη βέλτιστη συσσώρευση επιστημονικής γνώσης με σκοπό την πραγματοποίηση πρωτογενών, δευτερογενών και μετα- αναλύσεων (βλ. Εικόνα 31). Η προαναφερθείσα πρωτοβουλία ευθυγραμμίζεται με το εγχείρημα της NASA να εφαρμόσει το πρότυπο «FAIR» («ΕΠΔΕ») ώστε να διασφαλίσει ότι όλα τα δεδομένα αποτελούν:

- Findable (Ευρέσιμα): Οι σταθερές και σαφείς περιγραφές καθιστούν τα επιστημονικά δεδομένα βατά ως προς την εύρεσή τους τόσο από ανθρώπους όσο και από υπολογιστικά συστήματα,
- Accesible (Προσβάσιμα): Η χρήση ανοιχτών πρωτοκόλλων διασφαλίζει ότι τα δεδομένα είναι προσβάσιμα και διαθέσιμα σε όλους,
- Interopable (Διαλειτουργικά): Η υιοθέτηση επισήμως ευρέως αποδεκτών σημασιολογιών, λεξιλογίων και όρων διασφαλίζει την επέκταση της χρηστικότητας των δεδομένων και τη συμβατότητα αυτών με εναλλακτικά συστήματα (π.χ. αποθετήρια, πλατφόρμες κ.α.),
- Reusable (Επαναχρησιμοποιήσιμα): Τα δεδομένα περιγράφονται λεπτομερώς σύμφωνα με τα ισχύοντα πρότυπα, ώστε να δύνανται να αναπαραχθούν και επισημανθούν τα δικαιώματα χρήσης τους.



Εικόνα 31 Ανοικτή Επιστήμη, Open Science (πηγή NASA). 29

Η ανοιχτή επιστήμη αναφέρεται στη φιλοσοφία και την πρακτική της διαφάνειας και της ελεύθερης διάθεσης όλων των πτυχών της επιστημονικής έρευνας, επιτρέποντας σε άλλους να παρακολουθούν τη διαδικασία και να συμμετέχουν ενεργά σε αυτήν. Αν και δεν

²⁹ <u>https://www.nasa.gov/osdr-about-open-science/</u>

υπάρχει ένας αυστηρά καθορισμένος ορισμός, η ανοιχτή επιστήμη περιλαμβάνει συνήθως βασικές αρχές όπως η ελεύθερη πρόσβαση στη γνώση, η ανοιχτή αξιολόγηση, η μεταδημοσίευση με αξιολόγηση από την επιστημονική κοινότητα και η διάθεση ανοιχτών δεδομένων. Επιπλέον, περιλαμβάνει μια σειρά από πρακτικές που καθιστούν την επιστήμη πιο διαφανή και προσιτή καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας. Σε αυτές συγκαταλέγονται η ανοιχτή επιστήμη μέσω ψηφιακών σημειωματάριων, η συμμετοχική επιστήμη των πολιτών, καθώς και πτυχές του ανοιχτού λογισμικού και των ερευνητικών έργων που υλοποιούνται μέσω μαζικής χρηματοδότησης (crowdfunding). Σήμερα, ομάδες ερευνητών σε όλο τον κόσμο μπορούν εύκολα να έχουν πρόσβαση σε ένα ευρύ φάσμα ανοικτών δεδομένων από διάφορους κλάδους και να τα επεξεργάζονται εξ αποστάσεως στο νέφος (Cloud). Μπορούν να τα συνδυάσουν με τα δικά τους δεδομένα για να δημιουργήσουν γνώση, να αναπτύξουν προϊόντα πληροφοριών για κοινωνικές εφαρμογές και να αντιμετωπίσουν σύνθετα προβλήματα που δεν μπορούσαν να αντιμετωπιστούν προηγουμένως.

5.3. BASH Δ E Δ OMEN Ω N GENELAB OSDR

Τα παραπάνω κοινά χαρακτηριστικά δεδομένων έχουν εφαρμοστεί στο αποθετήριο OSDR (<u>https://osdr.nasa.gov/bio</u>) με στόχο την ενίσχυση της συνεργατικής ανταλλαγής και ανάλυσης επιστημονικών δεδομένων. Τα προγράμματα Open Science περιλαμβάνουν τα κάτωθι:

- Ames Life Sciences Data Archive (ALSDA), το αρχείο δεδομένων βιοεπιστημών,
- GeneLab, το εργαστήριο γονιδίων,
- NASA Biological Institutional Scientific Collection (NBISC), η βιολογική ιδρυματική επιστημονική συλλογή,
- Biological Sample Sharing Program (BSP), το πρόγραμμα ανταλλαγής βιολογικών δειγμάτων της Διαστημικής Βιολογίας.

Το OSDR δεν προάγει μόνο την ευρύτερη πρόσβαση σε δεδομένα FAIR/Open, αλλά διευκολύνει επίσης τη σύγκριση εκατοντάδων συνόλων δεδομένων που αφορούν διαφορετικά είδη και προέρχονται από ποικίλες αποστολές και πειράματα (βλ. Εικόνα 32). Αυτή η δυνατότητα ενισχύει ουσιαστικά την επιστημονική αξία της διαστημικής εξερεύνησης, συμβάλλοντας στην εμβάθυνση των βιοϊατρικών γνώσεων που αντλούνται από τα κοινά δεδομένα. Το αποθετήριο επιμελείται επίσης δεδομένα από άλλες διαστημικές υπηρεσίες και εταιρείες, όπως ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Διαστήματος, παρέχοντας μελέτες για την κατάκλιση με το κεφάλι προς τα κάτω σε ανθρώπους, την

ξηρή βύθιση σε ανθρώπους, οργανισμούς-μοντέλα που εκτίθενται σε προσομοιωμένη διαστημική ακτινοβολία, καθώς και άλλους οργανισμούς-μοντέλα που έχουν ταξιδέψει στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (ISS).

Το αποθετήριο είναι εξοπλισμένο με διευρυμένες λειτουργίες αναζήτησης που επιτρέπουν στους χρήστες να ταξινομούν τις μελέτες χρησιμοποιώντας αναζητήσεις με λέξεις-κλειδιά και φίλτρα αναζήτησης μελετών, συμπεριλαμβανομένου του τύπου του έργου (π.χ. διαστημικές πτήσεις, επίγεια), του τύπου της ανάλυσης (π.γ. αλληλουχία RNA, φασματομετρία μάζας, υπερηχογραφία κ.λπ.), οργανισμός (π.χ. τρωκτικό, άνθρωπος, φυτό, βακτήρια κ.λπ.), ιστός (π.χ. φύλλο, φυτά, κύτταρα, ήπαρ, αμφιβληστροειδής, αίμα κ.λπ.) και παράγοντες (π.γ. διαστημική πτήση, ιονίζουσα ακτινοβολία, ηλικία, φύλο, οικολογικός τύπος κ.λπ.). Οι χρήστες μπορούν επίσης να φιλτράρουν τις αναζητήσεις με βάση τον τύπο δεδομένων, όπως μελέτη, πείραμα, υποκείμενο, βιοδείγμα, ωφέλιμο φορτίο, αποστολή κ.α. Μπορούν να καθορίσουν την αναζήτησή τους στο OSDR ώστε να περιλαμβάνει omics (GeneLab), non-omics δεδομένα (ALSDA) ή και τα δύο χρησιμοποιώντας το φίλτρο αναζήτησης πηγής δεδομένων (βλ. Εικόνα 33). Εκτός από την αναζήτηση εντός του OSDR, το φίλτρο αναζήτησης πηγής δεδομένων περιλαμβάνει τώρα δυνατότητες ομοσπονδιακής αναζήτησης, επιτρέποντας στους χρήστες να αναζητούν σε άλλα αποθετήρια, όπως το NIH GEO (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds), το EBI PRIDE (https://www.ebi.ac.uk/pride/), το ANL MG-RAST (https://www.mg-rast.org/) και το JGI (https://data.jgi.doe.gov/) και το NMDC (https://data.microbiomedata.org/). Αυτές οι διευρυμένες δυνατότητες αναζήτησης βελτιώνουν την ευρεσιμότητα, βοηθώντας τους γρήστες να εντοπίζουν σγετικά σύνολα δεδομένων σε διαφορετικές βάσεις δεδομένων.[113], [114], [115]



Εικόνα 32. Το NASA Open Science Data Repository ενίσχυσε σημαντικά την πρόσβαση σε ένα ευρύ φάσμα δεδομένων βιοεπιστημών, βιοϊατρικών-κλινικών δεδομένων και δεδομένων τηλεμετρίας αποστολών, παράλληλα με τα υπάρχοντα δεδομένα 'omics από το GeneLab.³⁰

Βασικοί στόχοι του OSDR αποτελούν οι κάτωθι:

- Διατήρηση του Αποθετηρίου Ανοικτών Επιστημονικών Δεδομένων της NASA (Open Science Data Repository, OSDR), το οποίο θα φιλοξενεί δεδομένα που θα είναι μέγιστα ανοικτής πρόσβασης, ευρεσιμότητας, προσβασιμότητας, διαλειτουργικότητας και επαναχρησιμοποίησης (FAIR).
- Διασφάλιση της δημόσιας διάθεσης όλου του φάσματος των βιοεπιστημών και των βιοϊατρικών δεδομένων από διαστημικά και επίγεια αναλογικά πειράματα και αποστολές που καλύπτουν τα omics δεδομένα (DNA, RNA, πρωτεΐνες και μεταβολίτες), τα φυσιολογικά, φαινοτυπικά, συμπεριφορικά, περιβαλλοντικά τηλεμετρικά δεδομένα, αρχεία αποστολών, λεπτομέρειες υλικού και δεδομένα βιοαπεικόνισης.
- Εξορθολογισμός της υποβολής διαστημικών δεδομένων και συνεργασία με ενδιαφερόμενα διαστημικά έργα μέσω της κοινής χρήσης δειγμάτων ή της ενίσχυσης πειραματικών δεδομένων για την επέκταση των μελετών OSDR.
- Μεγιστοποίηση της επιστημονικής απόδοσης από τις αποστολές διαστημικών πτήσεων με την επεξεργασία διατηρημένων δειγμάτων που έχουν απομείνει για τη δημιουργία νέων δεδομένων ή την ενίσχυση των υφιστάμενων μελετών OSDR.
- Καθιέρωση προτύπων και βέλτιστων πρακτικών με γνώμονα την κοινότητα για την επεξεργασία δειγμάτων, την επιμέλεια μεταδεδομένων και την επεξεργασία δεδομένων διαστημικών δειγμάτων, ενισχύοντας έτσι την προσβασιμότητα, την ερμηνευσιμότητα και την επαναχρησιμοποίηση συνόλων δεδομένων διαστημικής βιολογίας.
- Παροχή ολοκληρωμένων δημόσιων εργαλείων οπτικοποίησης για δεδομένα περιβαλλοντικής τηλεμετρίας, δεδομένα δοσιμετρίας ακτινοβολίας, αναλύσεις «omics» και φαινοτυπικά-φυσιολογικά αποτελέσματα, εκδημοκρατίζοντας την πρόσβαση σε διαστημικά δεδομένα και διαδίδοντας τη γνώση για το πώς η ζωή ανταποκρίνεται στο διαστημικό περιβάλλον.
- Προώθηση της παγκόσμιας συνεργασίας και εμπλοκής στη διαστημική βιολογία μέσω των ομάδων εργασίας ανάλυσης OSDR (AWGs) και εκπαιδευτικών προγραμμάτων όπως το GeneLab για κολέγια και πανεπιστήμια και το GeneLab

³⁰ <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkae1116</u>

για το λύκειο. $^{111-113}$

| | Q | Care Surveyor but Life in Spaces | Home Almat v Data I | i Toola - Monting Graups - | e Help e |
|--|----------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------|--|
| mend Baarah Filters | Open Science Data Repor | itory Search | | | |
| to base | Sweet Detands | | 9. | | Soft By: Helsess Date |
| 5444.48 A-354 3 484 (48) 3 684 PROF | Peninterce of Eacher | tohia cali in the microbiomes of | ved Rostainer lettuce (Lactuca sa | lika ov. "Outredgeloue")- do | es see a serie a s |
| and out and | - Pagement | Partners | through Typere | determination (Series | Surveyory . |
| to Sam | Wale Northern | Teatmani Sout Santzatur | Amplicon Sequencing | 19-Ap-2004 | Band sentitution on charms of processes removal reduces microlise from the animal surfaces of the seed and thereby could have an impact on the plantscheath or productivity. To determine |
| Experiment Relped | COD-385 Highlights care | | | | |
| Payload Drow mars w | Traincriptional profile | ng of heart tissue from mice fiber | n on the RPIPM-2 mission. | | |
| | The second | Partners | Among Typese | former from | Sampler . |
| dy Search Filters. | DSD-580 | Dpacefight Age Sufference Location | tanatyles pelling | 63-Ar-2024 | In the Rester Research Reference Harden (RMM-3), tony female CMR, Minlar mice ware free or the Instructional Space Dation. To assess differences in subscript, due to age, twenty 12 water stall and two. |
| and Spec | Highlighter spece | | | | |
| Secure Se | Taracriptional profile | ng of Ithialis anterior muscle from | mice favor on the RA-23 mass | ah. | |
| | | Partners | Annual Typese | Summer Date | Installer |
| an han | State Man manufacture | Seveningen | transcription profiling | (2-Dec-090) | The adjustment of the Restort Research (2) measure (ML23) was to tasker understand the affects of specificity on the space, specifically on the directory and function of the priority, setting, and seconds. |
| Angelian Departing Away Beufite Separating DIA ^t Sep | COCHOPE Management operate | | | | |
| Behavior (Get) Get Electrophoreen | loning radiation ind | vent framperentional effects of | DNA methylation in aslandish | | |
| Shin test w | • | Parton. | And and Parson | Annual Sale | Teacipee. |
| - | 2.49 Decemen | longing Radiaton Galasiaton | Shall-matrylation profiling | I*-Aug-2000 | lenting reliation is increan to cause (NAI damage, yet the mechanisms underlying outamise transpresentance effects of apprecias have been scarboly auxiliation theories, we observed when |

Εικόνα 33. Χαρακτηριστικά αναζήτησης OSDR. Η σελίδα του αποθετηρίου OSDR είναι εξοπλισμένη με μια μπάρα αναζήτησης για αναζήτηση με βάση λέξεις-κλειδιά ή φράσεις (επάνω στη μέση). Οι χρήστες μπορούν να κάνουν αναζήτηση με βάση φίλτρα αναζήτησης, συμπεριλαμβανομένης της πηγής δεδομένων (π.χ. GeneLab, ALSDA ή αναζήτηση στο NIH GEO), του τύπου δεδομένων (π.χ. μελέτη, πείραμα και θέμα), του τύπου έργου (π.χ. επίγεια, διαστημική πτήση), του τύπου δοκιμής (π.χ. π.χ. bisulfite sequencing, behavior-gait, RNA-seq), οργανισμός (π.χ. τρωκτικό, άνθρωπος και φυτό), ιστός (π.χ. ήπαρ, ρίζα και κύτταρα) και παράγοντας (π.χ. διαστημική πτήση, ιονίζουσα ακτινοβολία) (αριστερά). Τα αποτελέσματα της αναζήτησης εμφανίζονται και μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τη συνάφεια, την ημερομηνία έκδοσης, την προσχώρηση ή τον τίτλο (πάνω δεξιά).

To GeneLab αποτελεί μια ολοκληρωμένη παγκόσμια βάση δεδομένων η οποία φιλοξενεί έναν διαρκώς αυξανόμενο όγκο ομικών (omics) δεδομένων που αντλούνται από πειράματα διαστημικών πτήσεων και αντίστοιχα πειράματα προσομοίωσης διαστημικών συνθηκών. Υπάρχουν τρεις βασικές πηγές για την απόκτηση δεδομένων που φιλοξενούνται στο GeneLab:

- Εξόρυξη δεδομένων από βιβλιογραφία και δημόσιες βάσεις δεδομένων όπως το GEO (Gene Expression Omnibus) του NHI (National Institutes of Health), το PRIDE (Proteomics Identification) του EBI (European Bioinformatics Institute), και το MG-RAST (Metagenomics Rapid Annotations using Subsystems Technology) του ANL (Argonne National Laboratory),
- Απευθείας μεταφορτώσεις από επιστήμονες που διεξάγουν πειράματα Διαστημικών Επιστήμων,
- Παραγωγή δεδομένων από το ίδιο το GeneLab μέσω του Εργαστηρίου Επεξεργασίας Δειγμάτων (SPL, Sample Processing Lab).

Η πλατφόρμα NASA GeneLab, η οποία αποτελεί μέρος του NASA Open Science Data

Repository (OSDR), είναι μια διαδραστική βάση δεδομένων ανοιχτής πρόσβασης για πολυ-ομικές αναλύσεις (π.χ. γονιδιωματική, μεταγραφωματική, πρωτεωμική, μεταβολωμική). Μέσω αυτής της πλατφόρμας, οι χρήστες έχουν τη δυνατότητα να ανεβάζουν, κατεβάζουν, κοινοποιούν, αποθηκεύουν και αναλύουν δεδομένα που προέρχονται από διαστημικές πτήσεις και πειράματα σχετιζόμενα με το διάστημα. Περίπου το 60% των δεδομένων που περιλαμβάνει η βάση GeneLab αφορά αναλύσεις προφίλ μεταγραφής (transcription profiling assays) (βλ. Εικόνα 34). Ο πιο διαδεδομένος τύπος ανάλυσης στις μελέτες μεταγραφής είναι η μικροσυστοιχία (microarray), ενώ η αλληλούχιση RNA (RNA sequencing) αναπτύσσεται με τον ταχύτερο ρυθμό στην πλατφόρμα.

Άλλοι τύποι αναλύσεων που περιλαμβάνονται είναι:

- Αλληλούχιση γονιδιώματος (Genome sequencing)
- Έκφραση πρωτεϊνών (Protein expression)
- Μεταβολικό προφίλ (Metabolite profiling)
- Επιγονιδιωματική (Epigenomics)
- Μεταγονιδιωματική (Metagenomics)
- Επιμεταγραφωματική (Epitranscriptomics)



Εικόνα 34 Μετρικές OSDR. Επισκόπηση των μελετών που φιλοξενούνται στο OSDR έως τον Οκτώβριο του 2024.³¹

To NASA GeneLab αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την ανάλυση και την κατανόηση

³¹ <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkae1116</u>

των βιολογικών επιδράσεων των διαστημικών συνθηκών, διευκολύνοντας την έρευνα σε διάφορους τομείς της διαστημικής βιολογίας. Η πλατφόρμα NASA GeneLab προωθεί τη διαφάνεια και τη συνεργασία στην επιστημονική κοινότητα. Οι βάσεις δεδομένων της είναι ανοιχτής πρόσβασης, επιτρέποντας σε ερευνητές από όλο τον κόσμο να χρησιμοποιούν τα δεδομένα για περαιτέρω ανάλυση. Επιπλέον, η NASA συνεργάζεται με πανεπιστήμια, ερευνητικά ινστιτούτα και ιδιωτικούς φορείς για να επεκτείνει τη χρησιμότητα αυτής της πλατφόρμας. Το εργαστήριο συνεργάζεται με διεθνείς οργανισμούς όπως η ESA (Ευρωπαϊκή Διαστημική Υπηρεσία), η JAXA (Ιαπωνική Διαστημική Υπηρεσία), η Roscosmos (Ρωσία) και η CNSA (Κίνα), καθώς και με κορυφαία πανεπιστήμια και ερευνητικά ιδρύματα όπως το Harvard, το MIT, το Stanford, το Oxford και το NASA Ames Research Center. Μέσα από αυτές τις συνεργασίες, η πλατφόρμα στοχεύει στη μεγιστοποίηση της επιστημονικής αξιοποίησης των δεδομένων της, ενισχύοντας τη διαστημική βιολογία και την αεροδιαστημική ιατρική.^{112,113}

Τα δεδομένα της NASA GeneLab προέρχονται από διαστημικές αποστολές και πειράματα που έχουν διεξαχθεί στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (ISS), σε διαστημικά λεωφορεία και σε μη επανδρωμένα πειράματα. Μερικές από τις σημαντικότερες αποστολές που συνέβαλαν στη βάση δεδομένων περιλαμβάνουν:

- Διεθνής Διαστημικός Σταθμός (ISS) Μακροχρόνιες μελέτες αστροναυτών και βιολογικών συστημάτων.
- SpaceX CRS Missions Μεταφορά πειραμάτων GeneLab στον ISS.
- Artemis Lunar Missions Πειράματα για τη μελέτη των επιπτώσεων της διαστημικής ακτινοβολίας σε μακροχρόνια αποστολή στη Σελήνη.
- NASA Twins Study Έρευνα των γενετικών αλλαγών μεταξύ δίδυμων αστροναυτών.
- Rodent Research Missions Πειράματα σε ποντίκια για την ανάλυση των φυσιολογικών προσαρμογών στο διάστημα.

Το GeneLab παρέχει μια ολοκληρωμένη βάση δεδομένων που περιλαμβάνει πολλαπλά συστατικά και μια νέα διαδικτυακή διεπαφή αποθετηρίου δεδομένων, καθώς και το GeneLab Online Data Entry (GEODE) web portal, το οποίο επιτρέπει την αυτοματοποιημένη επιμέλεια δεδομένων (βλ. Εικόνα 35). Το GEODE έχει σχεδιαστεί ώστε να διευκολύνει την εισαγωγή ακριβών μεταδεδομένων μέσω ελεγχόμενων λεξιλογίων, μειώνοντας έτσι τον φόρτο επιμέλειας για την ομάδα του GeneLab. Παράλληλα, το GeneLab διαθέτει μια νέα διεπαφή προγραμματισμού εφαρμογών (API) που υποστηρίζει εργαλεία οπτικοποίησης επεξεργασμένων ομικών δεδομένων,

90

συνδέεται τόσο με εσωτερικά όσο και με εξωτερικά συστήματα, επιτρέποντας την πρόσβαση μέσω του διαδικτυακού περιηγητή της βάσης, του GEODE, ενός εργαλείου ιδιωτικής κοινοποίησης δεδομένων, καθώς και του διακομιστή οπτικοποίησης δεδομένων του GeneLab. Επιπλέον, το API χρησιμοποιείται για την υποστήριξη αναλυτικών και οπτικοποιητικών εργαλείων τρίτων, ενώ η δημόσια αναλυτική πλατφόρμα και τα συστήματα επεξεργασίας δεδομένων του GeneLab έχουν άμεση πρόσβαση στα αρχεία του αποθετηρίου. Μέσω αυτών των τεχνολογικών υποδομών, το GeneLab προάγει την ελεύθερη διάθεση επιστημονικών δεδομένων, επιτρέποντας στην επιστημονική κοινότητα να διερευνήσει τον αντίκτυπο των διαστημικών πτήσεων σε διάφορους οργανισμούς, από



Εικόνα 35. Η βάση δεδομένων του GeneLab και οι συνδέσεις της με ενδο- και εξω-ιδρυματικά συστήματα. Το API της βάσης δεδομένων αξιοποιείται εκτενώς από τα στοιχεία των συστημάτων δεδομένων του GeneLab: τη διεπαφή web browser της βάσης δεδομένων (A), το εργαλείο online καταχώρησης δεδομένων του GeneLab (B), ένα εργαλείο χώρου εργασίας για την ιδιωτική κοινή χρήση δεδομένων (Γ) και τον διακομιστή απεικόνισης δεδομένων του GeneLab (Δ). Το API της βάσης δεδομένων χρησιμοποιείται επίσης για την τροφοδοσία διαφόρων εργαλείων ανάλυσης και οπτικοποίησης εξωπανεπιστημιακών δεδομένων (Ε, F). Η δημόσια πλατφόρμα ανάλυσης του GeneLab (G) και τα συστήματα επεξεργασίας δεδομένων (Η) έχουν άμεση πρόσβαση στα αρχεία δεδομένων του αποθετηρίου.³²

6. ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ

6.1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Σύμφωνα με τον ορισμό που αποδίδει το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH), η βιοπληροφορική αφορά στην έρευνα, στην ανάπτυξη ή/και στην εφαρμογή υπολογιστικών

³² <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkaa887</u>

εργαλείων και προσεγγίσεων για τη χρήση βιολογικών, ιατρικών και υγειονομικών δεδομένων συμπεριλαμβανομένων εκείνων που σχετίζονται με την απόκτηση, αποθήκευση, ανάλυση και οπτικοποίηση αυτών των δεδομένων. Η βιοπληροφορική αποτελεί ένα σύγχρονο επιστημονικό πεδίο που βρίσκεται στη διασταύρωση των ταχέως αναπτυσσόμενων τομέων της μοριακής βιολογίας και των υπολογιστικών συστημάτων. Συγκεκριμένα, ορίζεται ως η χρήση βάσεων δεδομένων και αλγορίθμων για την ανάλυση γονιδιωμάτων, γονιδίων ή / και πρωτεϊνών. Μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στη βιολογία αποτελεί η κατανόηση των τεράστιων ποσοτήτων δεδομένων που παράγονται από προγράμματα αλληλούχισης γονιδιωμάτων, την πρωτεομική και άλλες κλίμακες μοριακής βιολογίας. Τα εργαλεία της βιοπληροφορικής περιλαμβάνουν προγράμματα υπολογιστών που συμβάλλουν στην αποκάλυψη των θεμελιωδών μηχανισμών που διέπουν τα βιολογικά φαινόμενα, από τη δομή και λειτουργία των μακρομορίων μέχρι τα βιοχημικά μονοπάτια και την εξέλιξη.

Ένας συναφής επιστημονικός κλάδος, αυτός της υπολογιστικής βιολογίας εστιάζει στην ανάπτυξη και εφαρμογή μαθηματικών μοντέλων, θεωρητικών μεθόδων και υπολογιστικών τεχνικών για τη μελέτη βιολογικών συστημάτων. Επιπρόσθετα, το Εθνικό Ινστιτούτο Έρευνας Ανθρώπινου Γονιδιώματος (NHGRI) ορίζει τη βιοπληροφορική ως τον κλάδο της βιολογίας που αναλύει και διαχειρίζεται τα δεδομένα που προκύπτουν από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών. Οι Άλτμαν και Ντίγκαν προσφέρουν δύο ορισμούς αναφορικά με τη βιοπληροφορική, όπου ο πρώτος επικεντρώνεται στη ροή πληροφοριών σύμφωνα με το κεντρικό δόγμα της μοριακής βιολογίας το οποίο περιγράφει τη μεταφορά της γενετικής πληροφορίας από το DNA στο RNA και στη συνέγεια στις πρωτεΐνες (βλ. Εικόνα 36). Από την άλλη πλευρά, ο δεύτερος ορισμός περιλαμβάνει τη ροή πληροφοριών που βασίζεται σε επιστημονικές μεθόδους εστιάζοντας σε προβλήματα όπως ο σχεδιασμός, η αποθήκευση, η αξιολόγηση δεδομένων, η έρευνα που δύναται να αναπαραχθεί και η ερμηνεία των πειραμάτων. Παρόλο που βιοπληροφορική επικεντρώνεται στην ανάλυση μοριακών αλληλουχιών, συνδέεται επίσης στενά με τους κλάδους της γονιδιωματικής και της λειτουργικής γονιδιωματικής. Η γονιδιωματική στοχεύει στον προσδιορισμό και την ανάλυση της πλήρους αλληλούχισης του DNA ενός οργανισμού, ενώ η λειτουργική γονιδιωματική περιλαμβάνει τη μελέτη της λειτουργίας των γονιδίων και πρωτεϊνών μέσω δοκιμών σε όλο το γονιδίωμα. [116]



Εικόνα 36. Κεντρικό Δόγμα μοριακής βιολογίας όπως εκφράστηκε από τον Crick.³³

Η ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης αποτελεί κεντρικό εργαλείο για τη μελέτη των βιολογικών διεργασιών και περιλαμβάνει τη διατύπωση ενός βιολογικού ερωτήματος και τον σχεδιασμό του πειράματος. Υπάρχουν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις στη βιοπληροφορική (βλ. Εικόνα 37):

- Διαδικτυακά εργαλεία: Τα εργαλεία αυτά είναι σχεδιασμένα για να είναι φιλικά προς το χρήστη χωρίς να απαιτούν γνώσεις προγραμματισμού. Οποιοσδήποτε δύναται να τα αξιοποιήσει μέσω προγραμμάτων περιήγησης καθιστώντας αυτά τα εργαλεία άμεσα προσβάσιμα σε ερευνητές που δεν έχουν εμπειρία στον προγραμματισμό. Οι χρήστες μπορούν να εισάγουν δεδομένα, να εκτελούν αναλύσεις και να εξάγουν αποτελέσματα μέσω εύχρηστων γραφικών διεπαφών.
- Εργαλεία γραμμής εντολών: Αντίθετα, τα εργαλεία αυτά απαιτούν γνώσεις προγραμματισμού και προσφέρουν μεγαλύτερη ευελιξία και προσαρμοστικότητα.
 Οι χρήστες αλληλοεπιδρούν με αυτά μέσω γραμμής εντολών, όπου δύνανται να γράφουν κώδικα για πιο σύνθετες και εξειδικευμένες αναλύσεις. Τα εργαλεία γραμμής εντολών προσφέρουν περισσότερες δυνατότητες αναφορικά με την ανάλυση δεδομένων μεγάλης κλίμακας.

Κάθε προσέγγιση έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά της συναρτήσει των απαιτήσεων του έργου και των τεχνικών δεξιοτήτων των χρηστών.[116]

³³ https://science.fandom.com/el/wiki/



Εικόνα 37. Πηγές (προσεγγίσεις) Βιοπληροφορικής. [46]

6.2. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

Η επιστήμη της βιοπληροφορικής παίζει καθοριστικό ρόλο στην επεξεργασία, ανάλυση και ερμηνεία των δεδομένων διαφορικής γονιδιακής έκφρασης (Differential Gene Expression, DEG). Τα εργαλεία και οι υπολογιστικές μέθοδοι της βιοπληροφορικής επιτρέπουν τη διαχείριση μεγάλων συνόλων δεδομένων, τον εντοπισμό βιολογικά σημαντικών γονιδίων και τη λειτουργική τους συσχέτιση. Η ανάλυση διαφορικής γονιδιακής έκφρασης (DEG) αποτελεί μια θεμελιώδη μέθοδο στο πεδίο της γονιδιωματικής επιτρέποντας τη σύγκριση της γονιδιακής έκφρασης μεταξύ διαφορετικών συνθηκών ή ομάδων δειγμάτων. Η προσέγγιση αυτή είναι κρίσιμη για την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν βιολογικές διεργασίες, ασθένειες και την απόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα (π.χ. περιβαλλοντικοί παράγοντες, φαρμακευτική αγωγή κ.α.).

Η ανάλυση DEG βασίζεται στη σύγκριση των επιπέδων μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων μεταξύ δύο ή περισσότερων συνθηκών (π.χ. υγιής έναντι παθολογικός ιστός ή συνθήκη μικροβαρύτητας έναντι βαρύτητα 1g ως συνθήκη ελέγχου). Οι βασικές τεχνικές που αξιοποιούνται κατά κόρον για την ανάλυση DEG είναι οι μικροσυστοιχίες και οι RNA-Seq.[116]

Τα βασικά στάδια της βιοπληροφορικής ανάλυσης DEG περιλαμβάνουν τα παρακάτω:

 Προεπεξεργασία δεδομένων, η οποία εμπεριέχει το φιλτράρισμα χαμηλής ποιότητας αναγνώσεων (ποιοτικός έλεγχος, Quality Control, QC), την κανονικοποίηση και την απομάκρυνση τεχνικών παρεμβολών και θορύβων. Η ακρίβεια των δεδομένων είναι ζωτικής σημασίας, καθώς ο θόρυβος ή τα τεχνικά σφάλματα μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Στην περίπτωση των μικροσυστοιχιών, εφαρμόζονται τεχνικές κανονικοποίησης, όπως το RMA (Robust Multi-array Average) και η Quantile Normalization. Για δεδομένα RNA-Seq, ο ποιοτικός έλεγχος πραγματοποιείται με εργαλεία όπως το FastQC. Η πλειονότητα των διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου στηρίζεται σε οπτικές αναπαραστάσεις προκειμένου να διευκολύνει την ανίχνευση πιθανών σφαλμάτων ή αποκλίσεων στα δεδομένα (βλ. Εικόνα 38). Ένα διαδεδομένο εργαλείο QC ανεξαρτήτως κατασκευαστικής πλατφόρμας (Affymetrix, Agilent ή Illumina) αποτελεί το πακέτο arrayQualityMetrics στη γλώσσα προγραμματισμού R, το οποίο αξιολογεί τη συνέπεια και την αξιοπιστία των πειραματικών δεδομένων.





³⁴ Η Εικόνα δημιουργήθηκε μέσω του RStudio αξιοποιώντας το dataset OSD-51.

- Ανάλυση και εντοπισμός διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων γρησιμοποιώντας στατιστικές μεθόδους για την ταυτοποίηση γονιδίων τα οποία είτε υπερεκφράζονται ή υπόεκφραζονται σε διαφορετικές συνθήκες. Η στατιστική ανάλυση στη DEG χρησιμοποιεί μεθόδους όπως ο t-test, η ανάλυση διακύμανσης ANOVA και αλγόριθμοι όπως το DESeq2 και το edgeR οι οποίες λαμβάνουν υπόψη την κατανομή των δεδομένων. Αναφορικά με τις μικροσυστοιχίες, χρησιμοποιείται συχνά το limma (linear models for microarray data). Η μέθοδος αυτή δημιουργεί το λογαριθμισμένο (log2) λόγο των πολλαπλάσιων μεταβολών (fold change ratio) μεταξύ της συνθήκης δοκιμής και της συνθήκης ελέγχου και μια «προσαρμοσμένη» τιμή-p (adjusted p-value) που εκφράζει τη σημαντικότητα της διαφοράς. Παράλληλα, η διόρθωση πολλαπλών συγκρίσεων δύναται να πραγματοποιηθεί μέσω της μεθόδου Benjamini-Hochberg διασφαλίζοντας την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.
- Λειτουργικός εμπλουτισμός και ανάλυση μονοπατιών, όπου συσχετίζονται τα DEGs με βιολογικές διαδικασίες, μοριακές οδούς, κυτταρικούς χώρους, οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) και αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών μέσω βάσεων δεδομένων όπως το Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).
- Οπτικοποίηση, ήτοι παρουσίαση των αποτελεσμάτων μέσω διαγραμμάτων διασποράς (ηφαιστείου, volcano plots), χαρτών θερμότητας (heatmaps), συσταδοποιήσεων (clustering analysis), Principal Component Analysis (PCA) κ.α. (βλ. Εικόνα 39)



Εικόνα 39. Παράδειγμα Α) χάρτη θερμότητας (heatmap), B) διαγράμματος διασποράς (volcano plot).³⁵

³⁵ <u>http://dx.doi.org/10.36922/bh.v1i1.188</u>

Με την εκθετική αύξηση της παραγωγής δεδομένων, οι αλγόριθμοι βιοπληροφορικής και η αξιοποίηση των κατάλληλων υπολογιστικών πόρων ενισχύουν την ικανότητα των ερευνητών να αντλούν πληροφορίες, να τις επεξεργάζονται, να τις αναλύουν και να καταλήγουν σε αξιόπιστα ερευνητικά συμπεράσματα (π.χ. ανακάλυψη βιοδεικτών για τη διάγνωση, πρόγνωση και τη θεραπευτική στόχευση, ανάλυση φαρμακευτικών ή περιβαλλοντικών επιδράσεων, ανάδειξη μοριακών υπογραφών σε καρκίνους κ.α.).[117], [118], [119], [120], [121]

7. MHXANIKH MA Θ H Σ H

7.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ, ΔΙΑΣΤΗΜΙΚΕΣ ΒΙΟΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΑΘΗΣΗ

«We are drowning in information and starving for knowledge» - John Naisbitt [122] «Τι είναι η νόηση; Τι είναι η σκέψη;»

«Όσον αφορά στην Τεχνητή Νοημοσύνη, οι άνθρωποι συνήθως χωρίζονται στους χλευαστές και τους οπαδούς. Οι πρώτοι βρίσκουν την όλη ιδέα τελείως παράλογη - όχι απλώς λανθασμένη - παρόμοια με το να φανταζόμαστε ότι πως μια δολοφονική σφαίρα θα έπρεπε να φυλακιστεί. Οι δεύτεροι, αντίθετα, είναι εξίσου σίγουροι πως είναι μόνο θέμα χρόνου. Υπολογιστές που σκέπτονται, ισχυρίζονται, είναι το ίδιο αναπόφευκτοι όπως τα διαπλανητικά ταξίδια ή η τηλεόραση τσέπης. Αξιοσημείωτο είναι το πόσο ολοκληρωτικά πεπεισμένη είναι η κάθε πλευρά.» - John Haugeland [123]

Η γέννηση της Τεχνητής Νοημοσύνης (Artificial Intelligence, AI) χρονολογείται στο 1956, όπου και πραγματοποιήθηκε η συνάντηση των επιστημόνων McCarthy, Minsky, Rochester, More, Samuel, Solomonoff, Selfridge, Newell, Herbert και Shannon. Ωστόσο, έχει κληρονομήσει πολλές ιδέες και τεχνικές από πλήθος επιστημών όπως τα μαθηματικά, τη ψυχολογία, τη γλωσσολογία, τη βιολογία και φυσικά την επιστήμη υπολογιστών. Η αναντίρρητη διαδικασία συλλογισμού, όπου παρείχε πρότυπα εκφράσεων οδηγώντας πάντα σε σωστά συμπεράσματα από σωστές υποθέσεις, διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τον Αριστοτέλη (384-322 π.Χ.). Το 1854, ο Boole έθεσε τις βάσεις της προτασιακής λογικής, προτείνοντας έναν τρόπο αναπαράστασης όλων των λογικών συλλογισμών βάσει ενός δυαδικού συστήματος αποτελούμενου από 0 και 1. Το 1879, ο Frege διατυπώνει ένα σύστημα αυτοματοποιημένης συλλογιστικής και θέτει της βάσεις του κατηγορηματικού λογισμού. Το 1931, ο Gödel απέδειξε τα θεωρήματα της πληρότητας, ενώ το 1951 οι Minsky και Edmonds, υλοποίησαν το πρώτο νευρωνικό δίκτυο με 40 νευρώνες (SNARC). Ένας από τους πρώτους ορισμούς που διατυπώθηκαν από τους Barr και Feigenbaum αναφέρει ότι, η Τεχνητή Νοημοσύνη αποτελεί τον τομέα της επιστήμης των υπολογιστών που ασχολείται με τη σχεδίαση ευφυών (νοημόνων) υπολογιστικών συστημάτων, δηλαδή συστημάτων που επιδεικνύουν γαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη νοημοσύνη στην ανθρώπινη συμπεριφορά. Γενικότερα, περικλείει ένα πλήθος ερευνητικών πεδίων, από την αντίληψη και την συλλογιστική έως τα παίγνια στρατηγικής, την απόδειξη θεωρημάτων, την κατανόηση φυσικής γλώσσας, τη διάγνωση ασθενειών, την ανάλυση δεδομένων και την πρόβλεψη συναρτήσει συνθηκών και πολλά άλλα. Το πεδίο της Τεχνητής Νοημοσύνης πραγματεύεται όχι μόνο την κατανόηση αλλά και την κατασκευή ευφυών οντοτήτων (μηγανών) οι οποίες δύνανται να υπολογίζουν πώς να ενεργούν αποτελεσματικά σε ένα ευρύ φάσμα νέων καταστάσεων. Ο Kai-Fu θεωρεί πως η Τεχνητή Νοημοσύνη θα έχει τον μέγιστο αντίκτυπο από οτιδήποτε άλλο στην ιστορία της ανθρωπότητας. Πότε θεωρείται πως η συμπεριφορά μιας μηγανής είναι ευφυής; Ο Alan Turing (1912-1954) εμπνεύστηκε το 1950 μια δοκιμασία αναφορικά με τον χαρακτηρισμό των ως ευφυών ή μη. Αυτή βασίζεται σε μια σειρά από ερωτήσεις που υποβάλει κάποιος ταυτόχρονα σε έναν άνθρωπο και μία μηχανή χωρίς να γνωρίζει εκ των προτέρων ποιος είναι ο άνθρωπος. Αν μετά από ένα εύλογο χρονικό διάστημα ο εξεταστής δεν δύναται να αναγνωρίσει τον άνθρωπο από τη μηχανή, τότε η μηχανή έχει επιτύχει στην δοκιμασία και θεωρείται ευφυής. Ο McCarthy, ένας εκ των διοργανωτών του σεμιναρίου του Darmouth και αυτός που επινόησε τον όρο "Τεχνητή Νοημοσύνη", συνέχισε τη σταδιοδρομία του στο ΜΙΤ, όπου και ανέπτυξε την LISP, μία από τις πρώτες υψηλού επιπέδου γλώσσες προγραμματισμού και ίσως η μακροβιότερη. Συγκεκριμένα, το 1958 ο McCarthy δημοσίευσε την εργασία του με τίτλο "Programs with common sense" (Προγράμματα με κοινή λογική). στην οποία παρουσίαζε ένα πρόγραμμα ονόματι Advice Taker για την ανάπτυξη λύσεων σε προβλήματα γενικής φύσης, όπως ένα πλάνο κινήσεων για τη μεταφορά κάποιου από οποιαδήποτε τοποθεσία στο αεροδρόμιο, βασιζόμενο σε ορισμένα απλά αξιώματα. Τη δεκαετία του 1970 το πανεπιστήμιο του Stanford ανέπτυξε το λογισμικό DENDRAL με στόχο την ανάλυση χημικών ουσιών. Το έργο ανάπτυξης υποστηρίχθηκε από τη NASA, η οποία λόγω της επικείμενης αποστολής μηεπανδρωμένου διαστημικού σκάφους στον πλανήτη Άρη, χρειαζόταν ένα σύστημα το οποίο θα δύναται να αναλύσει τη μοριακή δομή του εδάφους βάσει φασματικών

δεδομένων.[124], [125], [126], [127], [128], [129]

Οι τεχνικές των αλγορίθμων μηχανικής μάθησης βρίσκουν εφαρμογές σε ένα ευρύ φάσμα ερευνητικών πεδίων, από την αναγνώριση εικόνων έως την διαστημική βιολογία. Στη βιοϊατρική και βιολογική έρευνα, οι προσεγγίσεις της τεχνητής νοημοσύνης έχουν συμβάλει σημαντικά σε τομείς όπως η ταξινόμηση ασθενειών, η μοντελοποίηση

98

αποτελεσμάτων ασθενών, η ανακάλυψη νέων φαρμάκων, η πρόβλεψη πρωτεϊνικών δομών κ.α. Πιο συγκεκριμένα, στη διαστημική βιολογία η έρευνα επικεντρώνεται στην κατανόηση των επιπτώσεων των διαστημικών πτήσεων στα βιολογικά συστήματα και οι τεχνικές μηχανικής μάθησης δύνανται να προσφέρουν πολλά υποσχόμενες εφαρμογές. Τα δεδομένα που προκύπτουν διαθέτουν χιλιάδες χαρακτηριστικά (π.χ. στο πεδίο γονιδιωματικής), ωστόσο τα δείγματα παραμένουν λιγοστά λόγω των χρονοβόρων και κοστοβόρων διαδικασιών αναπαραγωγής των επιθυμητών συνθηκών. Η ετερογένεια των δεδομένων αυξάνει την πολυπλοκότητα και τις διαστάσεις του συστήματος που θέλουμε να μοντελοποιήσουμε. Επιπρόσθετα, τα περισσότερα δεδομένα συλλέγονται από πρότυπους οργανισμούς (π.χ. Mus musculus) και αντιστοίχιση των ευρημάτων από αυτά τα μοντέλα στον ανθρώπινο οργανισμό απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή ώστε να είναι ακριβής.

Οι δυνατότητες ερμηνείας και γενίκευσης αποτελούν κρίσιμα κριτήρια επιλογής μιας μεθόδου μηχανικής μάθησης. Πολλοί από τους σύγχρονους αλγορίθμους, όπως τα νευρωνικά δίκτυα, συχνά χαρακτηρίζονται ως «μαύρα κουτιά», λόγω της περιορισμένης ικανότητας ερμηνείας των τιμών και των σχέσεων μεταξύ των ενδιάμεσων νευρώνων στα βαθιά επίπεδα του δικτύου, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η κατανόηση των μηχανισμών που οδηγούν στην τελική πρόβλεψη. Αν και σε πολλές περιπτώσεις επιτυγχάνεται υψηλή απόδοση, η αδυναμία ερμηνείας και επεξήγησης καταστάσεων καθιστά αλγορίθμους λιγότερο κατάλληλους, εφόσον στόχος της έρευνας δεν αποτελεί μόνο η ακρίβεια, αλλά και εις βάθος κατανόηση των σχέσεων μεταξύ των μεταξύ των μεταβλητών.

Η ομαλή ενσωμάτωση της τεχνητής νοημοσύνης στο ερευνητικό πεδίο της διαστημικής βιολογίας θα διευκολύνει την προγνωστική μοντελοποίηση, τη βέλτιστη διαχείριση δεδομένων και μεταδεδομένων, την αξιόπιστη ανάλυση αυτών, καθώς επίσης και την βαθύτερη κατανόηση των επιπτώσεων της διαστημικής πτήσης στην ανθρώπινη φυσιολογία (και σε όλα τα βιολογικά συστήματα).[130], [131]

7.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ

Οι περισσότερες εφαρμογές Τεχνητής Νοημοσύνης βασίζονταν σε μεγάλο βαθμό στην ανθρώπινη γνώση και διαίσθηση, αφού αναπτύχθηκαν κωδικοποιώντας τη γνώση του προβλήματος σε μια τυπική γλώσσα αναπαράστασης γνώσης και αξιοποιώντας μηχανισμούς συλλογιστικής που επιχειρούσε να αναπαραστήσει την ανθρώπινη συλλογιστική. Σε πολυπαραμετρικά προβλήματα με πολλά δεδομένα και πολύπλοκες ή άγνωστες συσχετίσεις μεταξύ αυτών, η προαναφερθείσα προσέγγιση δεν ευδοκιμεί. Για να επιλυθεί αυτή η δυσκολία αναπτύχθηκαν συστήματα Τεχνητής Νοημοσύνης τα οποία δύνανται να εκπαιδευτούν μέσω των δεδομένων που τους παρέχουμε και των κατευθύνσεων που τους χορηγούμε. Η συγκεκριμένη ικανότητα μάθησης από το σύστημα ονομάζεται Μηχανική Μάθηση (Machine Learning, ML). Ως Μάθηση (Learning) ορίζεται η διαδικασία βελτίωσης της επίδοσης ενός συστήματος σε μια συγκεκριμένη εργασία μετά από την παρατήρηση πολλαπλών παραδειγμάτων υπό τις παρακάτω συνθήκες. Πρώτον, η ύπαρξη περιβάλλοντος το οποίο δύναται να προσφέρει δεδομένα υπό μορφή παραδειγμάτων στο σύστημα, δεύτερον η δυνατότητα αξιολόγησης της επίδοσης του συστήματος μέσω κριτηρίων, και τρίτον η ύπαρξη μιας συγκεκριμένης εργασίας την οποία το σύστημα καλείται να εκτελέσει. Η Μάθηση κυμαίνεται από τα τετριμμένα, όπως η δημιουργία μιας απλής λίστας της καθημερινότητας, ως και τα πιο βαθυστόχαστα, όπως κάποιες από τις θεωρίες του Albert Einstein. Στη Μηχανική Μάθηση, ο υπολογιστής παρατηρεί κάποια δεδομένα, δημιουργεί ένα μοντέλο (model) με βάση αυτά τα δεδομένα, και αξιοποιεί το μοντέλο τόσο ως μια υπόθεση όσο και ως ένα πακέτο λογισμικού που μπορεί να επιλύει προβλήματα. Στόχος της Μηχανικής Μάθησης είναι η δυνατότητα παραγωγής ορθών εκτιμήσεων σχετικά με δεδομένα τα οποία αντιμετωπίζονται για πρώτη φορά από το σύστημα. Οι βασικές κατηγορίες Μάθησης είναι οι εξής τρεις:

- 1. Μάθηση με επίβλεψη (Supervised Learning)
- 2. Μάθηση χωρίς επίβλεψη (Unsupervised Learning)
- 3. Μάθηση με ενίσχυση (Reinforcement Learning)

Στη Μάθηση με επίβλεψη, το μοντέλο χρησιμοποιεί μια σειρά από πρότυπα εισόδου και τους αντίστοιχους στόχους (βλ. Εικόνα 40). Τα προβλήματα Μάθησης με επίβλεψη χωρίζονται σε προβλήματα ταξινόμησης (Classification) και προβλήματα παλινδρόμησης (Regression). Στα προβλήματα ταξινόμησης οι στόχοι είναι διακριτές τιμές και αντιστοιχούν σε κλάσεις αντικειμένων, ενώ στα προβλήματα παλινδρόμησης οι στόχοι είναι αντιστοιχούν σε τιμές ή απεριόριστο πλήθος διακριτών τιμών και αντιστοιχούν σε τιμές ή αξίες κάποιων ποσοτήτων.[132]

Στη Μάθηση χωρίς επίβλεψη, το μοντέλο χρησιμοποιεί τα πρότυπα εισόδου χωρίς όμως να διαθέτει πληροφορίες σχετικά με τους στόχους. Αντί να προβλέπει συγκεκριμένες τιμές, επιχειρεί να ανιχνεύσει μοτίβα, δομές ή σχέσεις μεταξύ των δεδομένων. (βλ. Εικόνα 41).

Στη Μάθηση με ενίσχυση, το μοντέλο χρησιμοποιεί μια ακολουθία πρότυπων εισόδου και οι στόχοι είναι συνήθως τιμές ανταμοιβής ή τιμωρίας. Επιδιώκει να μεγιστοποιεί μια συνάρτηση ανταμοιβής, λαμβάνοντας αποφάσεις βάσει των αλληλεπιδράσεών του με το περιβάλλον (βλ. Εικόνα 42).



Εικόνα 40. Διάγραμμα ροής μοντέλου μηχανικής μάθησης με επίβλεψη.³⁶



Εικόνα 41. Διάγραμμα ροής μοντέλου μηχανικής μάθησης χωρίς επίβλεψη.³⁷



Εικόνα 42. Διάγραμμα ροής μοντέλου μηχανικής μάθησης με ενίσχυση.³⁸

Οι κυριότερες τεχνικές μηχανικής μάθησης με επίβλεψη είναι οι εξής:

³⁶ <u>http://dx.doi.org/10.1109/CCWC.2017.7868415</u>

³⁷ <u>http://dx.doi.org/10.1007/s43926-022-00023-0</u>

³⁸ <u>http://dx.doi.org/10.1088/1742-6596/2033/1/012172</u>

- Μάθηση εννοιών (Concept Learning): Η μάθηση εννοιών αποτελεί τυπικό παράδειγμα επαγωγικής μάθησης κατά την οποία το σύστημα τροφοδοτείται με παραδείγματα που ανήκουν ή δεν ανήκουν σε κάποια έννοια. Ακολούθως καλείται να παράγει μια γενικευμένη περιγραφής της έννοιας δημιουργώντας ένα μοντέλο ώστε να δύναται να αποφασίσει αν μια άγνωστη περίπτωση ανήκει ή όχι σε αυτήν την έννοια.
- Δένδρα ταξινόμησης ή απόφασης (Classification or Decision Trees): Κάθε κόμβος στο δέντρο ορίζει μια συνθήκη ελέγχου της τιμής ενός χαρακτηριστικού (feature) των περιπτώσεων και κάθε κλαδί αντιστοιχεί σε μια διαφορετική διακριτή τιμή του χαρακτηριστικού αυτού. Μια περίπτωση ταξινομείται εκκινώντας από την ρίζα και ακολουθώντας τα κλαδιά του δέντρου προς το φύλλο που περιέχει μια διακριτή της τιμή μίας κατηγορίας (βλ. Εικόνα 43 και Εικόνα 44).
- Μάθηση κανόνων (Rule Learning): Μέθοδος που εξάγει σαφείς, λογικούς κανόνες (if then) από δεδομένα προκειμένου να περιγράψει πρότυπα και σχέσεις.
- Μάθηση κατά περίπτωση (Instance based Learning): Μέθοδος όπου το μοντέλο δεν δημιουργεί γενικευμένους κανόνες κατά την εκπαίδευση, αλλά αποθηκεύει παραδείγματα-περιπτώσεις κάνοντας προβλέψεις συγκρίνοντάς τα με νέα δεδομένα.
- Μάθηση κατά Bayes: Μέθοδος που βασίζεται στο θεώρημα του Bayes για την ενημέρωση της πιθανότητας ενός υποδείγματος καθώς αποκτάται νέα πληροφορία.
- Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression): Μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη μοντελοποίηση της σχέσης μεταξύ εξαρτημένης μεταβλητής (ήτοι στόχος) και μιας ή περισσότερων ανεξάρτητων μεταβλητών (ήτοι χαρακτηριστικά, features) μέσω μιας γραμμικής συνάρτησης (ευθείας γραμμής).
- Νευρωνικά Δίκτυα (Neural Networks): Αλγοριθμικές δομές εμπνευσμένες από τη δομή και λειτουργία του ανθρώπινου εγκεφάλου, τα οποία αποτελούνται από διασυνδεδεμένους τεχνητούς νευρώνες (βλ. Εικόνα 47). Αυτά τα δίκτυα επεξεργάζονται δεδομένα μέσω επιπέδων όπου κάθε νευρώνας λαμβάνει σήματα εισόδου, τα επεξεργάζεται με τη βοήθεια μαθηματικών συναρτήσεων ενεργοποίησης και μεταδίδει τα αποτελέσματα σε επόμενους νευρώνες, επιτρέποντας τη μάθηση από δεδομένα και την εκτέλεση σύνθετων εργασιών όπως ταξινόμηση, πρόβλεψη και αναγνώριση προτύπων.
- Μηχανές Διανυσμάτων Υποστήριξης (Support Vector Machines, SVMs): Αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται για προβλήματα ταξινόμησης και παλινδρόμησης, με στόχο τον εντοπισμό του βέλτιστου υπερεπίπεδου (hyperplane)

που διαχωρίζει τα δεδομένα σε διαφορετικές κατηγορίες μεγιστοποιώντας το περιθώριο (margin) μεταξύ των σημείων που ανήκουν στις κατηγορίες αυτές βελτιώνοντας την ακρίβεια και τη γενίκευση του μοντέλου (βλ. Εικόνα 46).



Εικόνα 43. Παράδειγμα αλγορίθμου Decision Tree.³⁹



Final classifier (the majority of correct classifications rule)

Εικόνα 44. Παράδειγμα αλγορίθμου Random Forest .40

³⁹ <u>http://dx.doi.org/10.1039/D0AY01389G</u>

⁴⁰ <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.epsr.2020.106254</u>



Εικόνα 45. Παράδειγμα αλγορίθμου K-Nearest neighbors. ⁴¹



Εικόνα 46. Παράδειγμα αλγορίθμου SVM .42

Στη μάθηση χωρίς επίβλεψη το σύστημα έχει στόχο να ανακαλύψει συσχετίσεις και να ομαδοποιήσει τα δεδομένα, βασιζόμενο μόνο στις ιδιότητές τους. Κατά αυτόν τον τρόπο προκύπτουν πρότυπα καθένα από τα οποία περιγράφει ένα μέρος από τα δεδομένα. Παραδείγματα προτύπων πληροφόρησης αποτελούν οι κανόνες συσχέτισης (association rules) και οι συστάδες (clusters) οι οποίες προκύπτουν από τη διαδικασία της ομαδοποίησης (clustering). Υπάρχουν τρεις γενικές κατηγορίες αλγορίθμων ομαδοποίησης:

Αλγόριθμοι βασισμένοι σε διαχωρισμούς (partition based) που επιχειρούν να εντοπίσουν τον βέλτιστο διαχωρισμό ενός συνόλου δεδομένων σε ένα συγκεκριμένο αριθμό συστάδων (π.χ. αλγόριθμος k-means). Στον αλγόριθμο των κ-μέσων, ο αριθμός κ των συστάδων καθορίζεται πριν την εκτέλεση του. Εκκινεί

⁴¹ <u>http://dx.doi.org/10.14569/IJACSA.2023.0140945</u>

⁴² <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.cesx.2019.100023</u>

διαλέγοντας κ τυχαία σημεία από τα δεδομένα ως τα κέντρα των συστάδων. Έπειτα αναθέτει κάθε σημείο στην συστάδα της οποίας το κέντρο είναι πιο κοντά σε αυτό το σημείο. Στη συνέχεια, υπολογίζει για κάθε συστάδα το μέσο όρο όλων των σημείων της (μέσο διάνυσμα) και το ορίζει ως νέο κέντρο της. Τα δύο τελευταία βήματα επαναλαμβάνονται για ένα προκαθορισμένο αριθμό βημάτων ή μέχρι να μην υπάρχει αλλαγή στο διαχωρισμό των σημείων σε συστάδες.

- Ιεραρχικό αλγόριθμοι (hierarchical) που επιχειρούν με ιεραρχικό τρόπο (συγχώνευση ή διαίρεση) να ανακαλύψουν τον αριθμό και τη δομή των συστάδων.
- Πιθανοκρατικοί αλγόριθμοι (probabilistic) που βασίζονται σε μοντέλα πιθανοτήτων.

Ο ανθρώπινος εγκέφαλος αποτελεί ένα εξαιρετικά πολύπλοκο, μη γραμμικό, παράλληλο υπολογιστή (σύστημα επεξεργασίας πληροφοριών). Δύναται να οργανώνει τα δομικά του στοιχεία, με τρόπο ώστε να εκτελούν συγκεκριμένους υπολογισμούς, όπως η αναγνώριση προτύπων, η αντίληψη και ο έλεγχος της κίνησης, με ταχύτητα πολλαπλάσια από αυτή του γρηγορότερου ψηφιακού υπολογιστή (βλ. Εικόνα 47). Η Βαθιά Μάθηση (Deep Learning, DP) αποτελεί μια οικογένεια τεγνικών Μηγανικής Μάθησης, όπου οι υποθέσεις παίρνουν τη μορφή πολύπλοκων αλγεβρικών κυκλωμάτων οργανωμένων σε επίπεδα (layers) με ρυθμίσιμες συνδετικές δυνάμεις. Τα δίκτυα τα οποία εκπαιδεύονται με μεθόδους Βαθιάς Μάθησης συχνά ονομάζονται Νευρωνικά Δίκτυα (Neural Networks), λόγω του γεγονότος ότι η Βαθιά Μάθηση έχει τις ρίζες της σε μια πρώιμη εργασία για τη μοντελοποίηση δικτύων νευρώνων (neurons) του εγκεφάλου από τους McCulloch και Pitts, το 1943, με υπολογιστικά κυκλώματα. Το μοντέλο αυτό αποτελείται από μεταβλητές αντιστάσεις και αθροιστικούς ενισχυτές οι οποίοι παριστάνουν τις συναπτικές διασυνδέσεις (ή συναπτικά βάρη) που συνδέουν τα νευρόνια μεταξύ τους. Νευρωνικό Δίκτυο ορίζεται ως ένας παράλληλος επεξεργαστής με κατανεμημένη αρχιτεκτονική, ο οποίος αποτελείται από απλές μονάδες επεξεργασίας και δύναται να αποθηκεύσει εμπειρική γνώση καθιστώντας τη διαθέσιμη για χρήση.[129], [133], [134], [135], [136], [137], [138], [139]



Εικόνα 47. Σχήματα για τον νευρώνα του ανθρώπινου εγκεφάλου και ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο (ANN).⁴³

Τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα (Artificial Neural Networks - ANNs) αποτελούν βασικά μοντέλα στη μηχανική μάθηση και την τεχνητή νοημοσύνη. Εμπνευσμένα από τη δομή και τη λειτουργία του ανθρώπινου εγκεφάλου, τα ANNs αποτελούνται από διασυνδεδεμένους υπολογιστικούς κόμβους (νευρώνες) που επεξεργάζονται δεδομένα μέσω προσαρμοζόμενων βαρών και μη γραμμικών συναρτήσεων ενεργοποίησης. Η εκπαίδευση των νευρωνικών δικτύων απαιτεί μεγάλα σύνολα δεδομένων και σημαντικούς υπολογιστικούς πόρους, γεγονός που οδήγησε στην ανάπτυξη στρατηγικών για τη βελτίωση της αποδοτικότητας, όπως η μεταφορά μάθησης (Transfer Learning). Η μεταφορά μάθησης αποτελεί μια ισχυρή τεχνική της μηχανικής μάθησης μέσω της οποίας ένα μοντέλο αξιοποιεί γνώσεις που απέκτησε από την επίλυση ενός προβλήματος για τη βελτίωση της απόδοσης του σε ένα διαφορετικό αλλά σχετικό πρόβλημα. Αντί να εκπαιδεύεται ένα μοντέλο από την αρχή, η υπάρχουσα γνώση που έχει αποκτήσει από ένα προηγούμενο σύνολο δεδομένων μεταφέρεται και προσαρμόζεται σε ένα νέο περιβάλλον. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις όπου η συλλογή μεγάλων ποσοτήτων δεδομένων και η εκπαίδευση από το μηδέν είναι χρονοβόρες και δαπανηρές διαδικασίες. Η μεταφορά γνώσης βασίζεται στην υπόθεση ότι η γνώση που αποκτήθηκε από μια πηγαία περιοχή (source domain) δύναται να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της μάθησης σε έναν σχετικό αλλά διαφορετικό στόχο (target domain). Η φύση της σχέσης μεταξύ των περιοχών αυτών κατηγοριοποιεί την μεταφορά σε τέσσερις περιπτώσεις: στη μεταφορά δεδομένων (Instance-based Transfer), στη μεταφορά χαρακτηριστικών (Feature-based Transfer), στη μεταφορά μοντέλου (Model-based Transfer) και στη μεταφορά γνώσης μέσω πολιτικής (Policybased Transfer). $\Sigma \tau \eta \nu \pi \epsilon \rho (\pi \tau \omega \sigma \eta \tau \sigma \upsilon Model-based Transfer Learning (<math>\beta \lambda$. Eukóva 48) σηματοδοτεί την αξιοποίηση ενός ήδη εκπαιδευμένου μοντέλου και την προσαρμογή αυτού σε ένα νέο πρόβλημα με λιγότερα σε πλήθος δεδομένα όπως το fine tuning

⁴³ <u>http://dx.doi.org/10.17077/etd.h5vp6epf</u>



(ακριβής προσαρμογή) σε ένα νευρωνικό δίκτυο.[140], [141], [142], [143], [144]

Εικόνα 48. Διάγραμμα αλγορίθμου model-based Transfer Learning⁴⁴

Η τεχνική αυτή έχει επηρεάσει πολλούς τομείς της Τεχνητής Νοημοσύνης επιτρέποντας την ανάπτυξη μοντέλων με υψηλή απόδοση ακόμα και όταν τα διαθέσιμα δεδομένα είναι περιορισμένα. Μερικές από τις εφαρμογές της μεταφοράς γνώσης αποτελούν η Υπολογιστική Όραση (Computer Vision), η Επεξεργασία Φυσικής Γλώσσας (NLP), η Ρομποτική, η Βιοπληροφορική, η Ιατρική και πολλές άλλες.[141]

Αξιολόγηση της επίδοσης των μοντέλων Μάθησης έγκειται στο πρόβλημα το οποίο επιχειρούν να επιλύσουν. Διαφορετικά κριτήρια θα χρησιμοποιηθούν σε προβλήματα ταξινόμησης, παλινδρόμησης, ανάλυσης, συμπίεσης δεδομένων, συσταδοποίησης ή Μάθησης με ενίσχυση.

Σε πολλές εφαρμογές αναγνώρισης προτύπων συναντάμε ένα πρόβλημα ταξινόμησης δύο (2) κλάσεων, όπου συνήθως η μία κλάση περιέχει πρότυπα για τα οποία ισχύει μια κατάσταση ή συνθήκη (κλάση 1), ενώ η άλλη κλάση περιέχει πρότυπα για τα οποία αυτή η κατάσταση ή συνθήκη δεν ισχύει (κλάση 0). Ιδανικά για κάθε πρότυπο, επιθυμούμε το τεστ να δίνει έξοδο, η οποία να ταυτίζεται με την ετικέτα (label) της κλάσης στην οποία ανήκει το πρότυπο. Αυτό δεν ισχύει στο σύνολο των περιπτώσεων, με αποτέλεσμα να συναντάμε τις ακόλουθες τέσσερεις περιπτώσεις:

- Το πρότυπο είναι αρνητικό και όντως ανήκει στην κλάση 0. Αυτά τα πρότυπα ονομάζονται πραγματικά αρνητικά (true negatives),
- 2. Το πρότυπο είναι αρνητικό, αλλά ανήκει στην κλάση 1. Αυτά τα πρότυπα

⁴⁴ <u>http://dx.doi.org/10.1007/s00449-022-02716-w</u>

ονομάζονται εσφαλμένα αρνητικά (false negatives),

- Το πρότυπο είναι θετικό, αλλά ανήκει στην κλάση 0. Αυτά τα πρότυπα ονομάζονται εσφαλμένα θετικά (false positives),
- Το πρότυπο είναι θετικό και όντως ανήκει στην κλάση 1. Αυτά τα πρότυπα ονομάζονται πραγματικά θετικά (true positives).[145]

Με αυτόν τον τρόπο αξιολογούμε έναν ταξινομητή χρησιμοποιώντας κάποια χαρακτηριστικά του Πίνακα Σύγχυσης, Confusion Matrix (βλ. Εικόνα 49). Ιδανικά επιθυμούμε ο πίνακας να έχει μηδενικά διαγώνια στοιχεία, ήτοι να μη υπάρχουν εσφαλμένα θετικά και αρνητικά πρότυπα. Επομένως, ως μια μετρική επίδοσης ορίζεται ο λόγος των ορθώς ταξινομημένων προτύπων προς το σύνολο των προτύπων, ήτοι Ακρίβεια (Accuracy). Η μετρική της Ακρίβειας παίρνει τιμές από μηδέν (0) έως ένα (1), με βέλτιστο το ένα (1), τιμή που ικανοποιείται στην περίπτωση που δεν υπάρχουν εσφαλμένα θετικά και εσφαλμένα αρνητικά πρότυπα. Παρόλα αυτά το συγκεκριμένο κριτήριο επίδοσης δεν προσφέρει πληροφορίες σχετικά με την επίδοση του ταξινομητή αναφορικά με την ταξινόμηση των προτύπων της κλάσης 1, λόγω της γενικότητάς του. Για τον παραπάνω λόγο, γρησιμοποιούνται τα κριτήρια επίδοσης της Ευστογίας (Precision) και της Ανάκλησης (Recall). Συγκεκριμένα, η Ευστοχία (Precision) φανερώνει το ποσοστό των προτύπων που κατηγοριοποιούνται ως θετικά και ανήκουν στην κλάση 1, ενώ η Ανάκληση (Recall) εκφράζει το ποσοστό των προτύπων που ανήκουν στην κλάση 1 και κατηγοριοποιούνται ως θετικά. Ένας ταξινομητής δύναται να έχει καλή επίδοση στο κριτήριο Precision αλλά όχι στο Recall, και αντίστροφα. Επιπρόσθετα, τα κριτήρια Precision και Recall συνδυάζονται στο κριτήριο F1- score, το οποίο ορίζεται ως το πηλίκο του γεωμετρικού μέσου προς τον αλγεβρικό μέσο όρο των δύο παραπάνω κριτηρίων. Παρατηρούμε ότι το πλήθος των πραγματικά αρνητικών προτύπων δεν εμπεριέγεται στον ορισμό των προαναφερθέντων κριτηρίων. Αν και το γεγονός αυτό μπορεί να μην επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό σε περίπτωση που η κλάση 1 έχει βαρύνουσα σημασία, όπως στην διάγνωση μιας ασθένειας, σε αρκετές περιπτώσεις η σωστή ταξινόμηση στην κλάση 0 είναι εξίσου σημαντική. Για τον λόγο αυτό, έχουν οριστεί δύο επιπρόσθετες μετρικές, οποίες αποδίδουν ίση βαρύτητα και στις δύο κλάσεις, ήτοι οι μετρικές της Ευαισθησίας (Sensitivity) και της Ειδικότητας (Specificity). Ένα συνδυαστικό κριτήριο επίδοσης αποτελεί την FPR (False-Positive Rate), ένω ένα δεύτερο βασίζεται στο γράφημα Sensitivity-Specificity, η χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας δέκτη ή καμπύλη ROC (Receiver Operating Characteristics). Η καμπύλη ROC απεικονίζει τη σχέση μεταξύ του ποσοστού αληθώς θετικών προβλέψεων και του ποσοστού ψευδώς θετικών προβλέψεων για διαφορετικά

108
κατώφλια απόφασης του μοντέλου. Όσο πιο κοντά βρίσκεται η καμπύλη στην πάνω αριστερή γωνία του γραφήματος, τόσο καλύτερη η απόδοση του μοντέλου. Η μετρική που συνοψίζει την απόδοση της ROC αυτής είναι η περιοχή κάτω από την καμπύλη, ήτοι AUC (Area Under the Curve), όπου η τιμή 1 αντιστοιχεί σε ένα τέλειο ταξινομητή, ενώ η τιμή 0,5 αντιστοιχεί σε τυχαία ταξινόμηση (βλ. Εικόνα 50).[132], [146]



Εικόνα 49. Πίνακας σύγχυσης για ένα πρόβλημα δυαδικής κλάσης και μετρικές επίδοσης.⁴⁵



Εικόνα 50. Καμπύλες ROC και περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC).⁴⁶

Η υπερμοντελοποίηση (overfitting), η υπομοντελοποίηση (underfitting) και η μεροληψία (bias) αποτελούν τρεις κρίσιμες προκλήσεις στον τομέα της μηχανικής μάθησης και της τεχνητής νοημοσύνης (βλ. Εικόνα 51). Αυτά τα φαινόμενα μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την απόδοση των αλγορίθμων, οδηγώντας σε λανθασμένες προβλέψεις και περιορισμένη γενίκευση σε πραγματικά δεδομένα. Η υπερμοντελοποίηση προκύπτει όταν ένα μοντέλο δεν μαθαίνει μόνο τα ουσιώδη

⁴⁵ <u>http://dx.doi.org/10.1007/s10439-024-03459-3</u>

⁴⁶ <u>http://dx.doi.org/10.3390/math9101081</u>

πρότυπα από τα δεδομένα εκπαίδευσης, αλλά και τον τυχαίο θόρυβο ή τις ασήμαντες διακυμάνσεις. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εξαιρετική του απόδοση στα δεδομένα εκπαίδευσης, αλλά ταυτόχρονα την ασθενή απόδοση του σε νέα σύνολα δεδομένων. Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται συνήθως λόγω της πολυπλοκότητας των μοντέλων, της έλλειψης επαρκών δεδομένων ή/και της απουσίας τεχνικών κανονικοποίησης (Regularization). Μέθοδοι μετριασμού του overfitting αποτελούν η επικύρωση διασταύρωσης (Cross-validation), η κανονικοποίηση κ.α. Από την άλλη πλευρά, η υπομοντελοποίηση προκύπτει όταν ένα μοντέλο είναι απλοϊκό ώστε να αποτυπώσει τα ουσιώδη μοτίβα στα δεδομένω. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην χαμηλή χωρητικότητα του μοντέλου, τον περιορισμένο αριθμό παραμέτρων και χαρακτηριστικών, τους υπερβολικούς περιορισμούς κανονικοποίησης κ.α. Το underfitting οδηγεί σε χαμηλή απόδοση τόσο στα δεδομένα εκπαίδευσης όσο και στα δεδομένα δοκιμής. Τεχνικές για την αντιμετώπισή της περιλαμβάνουν την αύξηση της πολυπλοκότητας του μοντέλου, τη χαλάρωση των περιορισμών κανονικοποίησης και τη βελτίωση της επιλογής χαρακτηριστικών (features) για την ενίσχυση της μάθησης.[147], [148]



Εικόνα 51. Καμπύλες υπερμοντελοποίησης και υπομοντελοποίησης στο διάγραμμα πολυπλοκότητας μοντέλου και σφάλματος.⁴⁷

⁴⁷ <u>http://dx.doi.org/10.1109/ISCAIE.2018.8405448</u>

MEPOS II-YAIKO KAI ME $\Theta O \Delta O \Sigma$

8. ΡΟΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η ροή εργασίας της παρούσας μελέτης αποτελείται από επτά διαδοχικά και αλληλένδετα βήματα, τα οποία συμβάλλουν ουσιαστικά στην κατανόηση και ανάλυση των δεδομένων μικροσυστοιχιών (microarrays), καθώς και στην εφαρμογή προηγμένων τεχνικών μηχανικής μάθησης για την εξαγωγή βιολογικά σημαντικών συμπερασμάτων.

Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την ανασκόπηση των διαθέσιμων μελετών και πειραμάτων μικροσυστοιχιών προκειμένου να συγκεντρωθούν δεδομένα και πληροφορίες σχετικές με το αντικείμενο της μελέτης. Η διαδικασία αυτή βοηθά στον εντοπισμό σημαντικών ερευνητικών έργων και στην κατανόηση του υπάρχοντος επιστημονικού τοπίου. Στη συνέχεια, ακολουθεί το στάδιο της εξόρυξης και επιλογής δεδομένων, όπου εντοπίζονται και επιλέγονται οι μελέτες που πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια ένταξης, διασφαλίζοντας έτσι την ποιότητα και την καταλληλότητα των δεδομένων για την ανάλυση.

Αφού επιλεγούν τα δεδομένα, πραγματοποιείται προεπεξεργασία των ατομικών συνόλων δεδομένων, η οποία περιλαμβάνει διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου (Quality Control - QC) και κανονικοποίησης (Normalization). Αυτό το στάδιο είναι απαραίτητο για την προετοιμασία των δεδομένων προκειμένου να ακολουθήσει η ανάλυση διαφορικής γονιδιακής έκφρασης (Differential Expression Genes, DEG Analysis). Στο πλαίσιο αυτής της ανάλυσης, εξετάζεται η διαφορά στην έκφραση γονιδίων μεταξύ ομάδων μικροβαρύτητας και ομάδων ελέγχου, ενώ παράλληλα διεξάγεται και ανάλυση εμπλουτισμού βιολογικών οδών (Pathway Enrichment Analysis), ώστε να εντοπιστούν οι βιολογικές διαδικασίες που επηρεάζονται σημαντικά.

Εν συνεχεία, πραγματοποιείται συγκριτική μετα-ανάλυση (Comparative Meta-Analysis), κατά την οποία συνδυάζονται τα αποτελέσματα από επιμέρους μελέτες. Αυτό επιτρέπει την αναγνώριση προτύπων και τάσεων στα δεδομένα, αυξάνοντας την αξιοπιστία και τη γενίκευση των ευρημάτων. Στη συνέχεια, δημιουργείται ένα ενοποιημένο μετα-σύνολο δεδομένων (meta-dataset) ανά είδος, το οποίο είναι κατάλληλο για την εφαρμογή αλγορίθμων τεχνητής νοημοσύνης (AI-ready dataset). Το εν λόγω σύνολο δεδομένων αποτελεί τη βάση για την περαιτέρω ανάλυση με τεχνικές μηχανικής μάθησης.

Το επόμενο βήμα περιλαμβάνει την ανάπτυξη και αξιολόγηση μοντέλων μηχανικής μάθησης (Machine Learning Models), με στόχο την παραγωγή αποδοτικών ταξινομητών για την πρόβλεψη επιπέδων γονιδιακής έκφρασης. Τέλος, διερευνάται η δυνατότητα εφαρμογής της μεταφοράς μάθησης (Transfer Learning), προκειμένου να αξιοποιηθεί η γνώση που αποκτήθηκε από πρότυπα οργανισμών για την κατανόηση και ανάλυση δεδομένων που αφορούν τον άνθρωπο. Αυτή η προσέγγιση στοχεύει στη βελτίωση της

ακρίβειας των μοντέλων και στην καλύτερη κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών που είναι κοινοί μεταξύ διαφορετικών ειδών.

Συνολικά, αυτή η ροή εργασίας (βλ. Εικόνα 52) συμβάλλει στη συστηματική ανάλυση και εξαγωγή πολύτιμων πληροφοριών, συνδυάζοντας την ισχύ της βιοπληροφορικής, της στατιστικής ανάλυσης και της μηχανικής μάθησης. Κάθε βήμα είναι απαραίτητο για την εξασφάλιση της εγκυρότητας των αποτελεσμάτων και την ενίσχυση της κατανόησης των επιπτώσεων της μικροβαρύτητας και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων στη γονιδιακή έκφραση.



Εικόνα 52. Ροή Εργασίας

ΕΞΟΡΥΞΗ, ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΣΧΕΤΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ

Συλλέχθηκαν δεδομένα από πλήθος πειραμάτων, τα οποία αξιολογήθηκαν βάσει καθορισμένων κριτηρίων ένταξης. Η διαδικασία περιλάμβανε την ανασκόπηση επιστημονικών δημοσιεύσεων, την εξαγωγή σχετικών μεταδεδομένων και την ανάλυση πρωτογενών δεδομένων μικροσυστοιχιών. Συγκεκριμένα, ταυτοποιήσαμε όλες τις διαθέσιμες μελέτες και σύνολα δεδομένων μικροσυστοιχιών που φιλοξενούνται στο αποθετήριο NASA Open Science Data Repository (OSDR) (https://osdr.nasa.gov/bio). Η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας τα εξής φίλτρα: "Assay Type: Microarray", "Tissue: All", "Factor: All" και "Organisms: Mus musculus OR Homo sapiens". Ο χρονικός περιορισμός τέθηκε έως τον Ιανουάριο του 2024, προκειμένου να διασφαλιστεί η ένταξη των πιο πρόσφατων ερευνητικών δεδομένων. Τα σύνολα δεδομένων που συλλέχθηκαν περιλαμβάνουν (βλ. Εικόνα 53):

- Για το *Mus musculus*: OSD-4, OSD-18, OSD-21, OSD-29, OSD-30, OSD-32, OSD-33, OSD-50, OSD-61, OSD-79, OSD-80, OSD-87, OSD-88, OSD-89, OSD-93, OSD-94, OSD-107, OSD-109, OSD-111, OSD-116, OSD-117, OSD-131, OSD-135, OSD-148, OSD-153, OSD-156, OSD-158, OSD-159, OSD-160, OSD-183, OSD-202, OSD-222, OSD-232, OSD-227, OSD-228, OSD-324, OSD-342, OSD-396, OSD-432, OSD-455.
- Για τον Homo sapiens: OSD-5, OSD-9, OSD-13, OSD-51, OSD-52, OSD-54, OSD-55, OSD-56, OSD-71, OSD-73, OSD-78, OSD-92, OSD-114, OSD-115, OSD-118, OSD-124, OSD-125, OSD-128, OSD-129, OSD-130, OSD-140, OSD-149, OSD-152, OSD-151, OSD-154, OSD-155, OSD-157, OSD-172, OSD-174, OSD-175, OSD-176, OSD-178, OSD-182, OSD-188, OSD-189, OSD-195, OSD-198, OSD-283, OSD-285, OSD-297, OSD-317, OSD-354, OSD-367, OSD-368, OSD-369, OSD-370, OSD-410, OSD-484, OSD-542, OSD-544, OSD-545, OSD-546.

Το αποθετήριο GeneLab συνεργάζεται με τη βάση δεδομένων Gene Expression Omnibus (GEO) του National Center for Biotechnology Information (NCBI), επιτρέποντας την ενιαία αναζήτηση δεδομένων. Το GeneLab περιλαμβάνει το σύνολο των σχετικών συνόλων δεδομένων που είναι διαθέσιμα στο GEO.

Ωστόσο, για μια πιο ολοκληρωμένη επισκόπηση, πραγματοποιήσαμε επιπλέον αναζητήσεις στη βάση GEO χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα ερωτήματα:

- (microgravity OR spaceflight OR gravity) AND "Homo sapiens"
- (microgravity OR spaceflight OR gravity) AND "Mus musculus"

Εφαρμόστηκαν επίσης τα φίλτρα: "Study type: Expression profiling by array". Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν επιστημονικές βάσεις δεδομένων όπως το PubMed και το ScienceDirect, με λέξεις-κλειδιά όπως: "microgravity and microarray", "spaceflight and microarray", "gravity and microarray" και "weightlessness and microarray".

Καθώς το OSDR ενσωματώνει ήδη δεδομένα από το GEO και επιτρέπει την αναζήτηση σε αυτό, δεν εντοπίστηκαν νέα σύνολα δεδομένων μέσω αυτών των επιπλέον αναζητήσεων. Ωστόσο, οι επιστημονικές δημοσιεύσεις που βρέθηκαν χρησιμοποιήθηκαν για την εμπλουτισμό της ενότητας της συζήτησης της παρούσας μελέτης.



Εικόνα 53. Σχεδιασμός και αποτελέσματα αναζήτησης στο αποθετήριο δεδομένων OSDR.

Εν συνεχεία, επικεντρωθήκαμε σε μελέτες και πειράματα που πληρούσαν τα ακόλουθα κριτήρια ένταξης προκειμένου να πραγματοποιήσουμε μια εκτεταμένη ανάλυση διαφορικής έκφρασης των δεδομένων OSDR από δείγματα Mus musculus και Homo sapiens που εκτέθηκαν σε στρεσογόνους παράγοντες διαστημικής πτήσης, με στόχο την ανίχνευση κοινώς δυσρυθμισμένων ορθόλογων γονιδίων και, στη συνέχεια, τον εντοπισμό εμπλουτισμένων όρων και μονοπατιών που σχετίζονται με τα σημαντικά δυσρυθμισμένα γονίδια εντός κάθε είδους και μεταξύ ορθόλογων γονιδίων :

 Προέρχονταν από μυοσκελετικό ιστό οργανισμών Homo sapiens ή Mus musculus, δεδομένης της αφθονίας συγκρίσιμων ιστών σε αυτά τα είδη,

- Εφάρμοζαν σχεδιασμό μελέτης test/case-control (προς εξέταση συνθήκη και έλεγχος),
- Χρησιμοποίησαν μη επεξεργασμένα δείγματα. Ο όρος αυτός αναφέρεται σε δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί σε πειραματικές παρεμβάσεις, όπως φαρμακευτικές θεραπείες,
- Πραγματοποιήθηκαν πραγματικές ή προσομοιωμένες συγκρίσεις μικροβαρύτητας έναντι ομάδων ελέγχου.

Τα σύνολα δεδομένων που επιλέξαμε είναι τα κάτωθι (βλ. Εικόνα 54):

- Για τον οργανισμό Mus musculus OSD-111 (<u>https://doi.org/10.26030/9580-9n52</u>, soleus και extensor digitorum longus), OSD-228 (<u>https://doi.org/10.26030/bfmx-2866</u>, soleus), OSD-227 (<u>https://doi.org/10.26030/vk0m-0558</u>, soleus και gastrocnemius), OSD-135 (<u>https://doi.org/10.26030/rjyq-x751</u>, longissimus dorsi και tongue) και OSD-21 (<u>https://doi.org/10.25966/c36b-3g68</u>, gastrocnemius, και όλα τα μέρη του calf)
- για τον οργανισμό Homo sapiens OSD-51 (<u>https://doi.org/10.26030/3w73-jn41</u>, soleus και vastus lateralis), OSD-195 (<u>https://doi.org/10.26030/r6bv-rk07</u>, vastus lateralis) και OSD-370 (<u>https://doi.org/10.26030/zyy0-6497</u>, vastus lateralis).



Εικόνα 54. Σύνολα δεδομένων OSDR που επιλέξαμε προκειμένου να πραγματοποιήσουμε μια εκτεταμένη ανάλυση διαφορικής έκφρασης από δείγματα Mus musculus και Homo sapiens που εκτέθηκαν σε στρεσογόνους παράγοντες διαστημικής πτήσης.

Τέλος, αναφορικά με τη μελέτη της συσχέτισης της παραμέτρου της βαρύτητας στην εξέλιξη της ζωής, η εξόρυξη των δεδομένων πραγματοποιήθηκε ως εξής: Οι μηχανές αναζήτησης PubMed, ScienceDirect και Google Scholar χρησιμοποιήθηκαν με τις λέξειςκλειδιά «Evolutionary biology, gravity» (104 αποτελέσματα στο PubMed ταξινομημένα κατά βέλτιστη αντιστοίχιση), «Gravity and evolution» (1089 αποτελέσματα στο PubMed), «Gravitational biology» (2625 αποτελέσματα στο PubMed ταξινομημένα κατά βέλτιστη αντιστοίχιση για όλα τα είδη, 808 αποτελέσματα σχετικά με τον *Homo sapiens* και 10.076 αποτελέσματα στο ScienceDirect), «Universal Darwinism» (8533 αποτελέσματα στο ScienceDirect) και «Astrobiology and evolution» (19.700 αποτελέσματα στο Google Scholar). Όλες οι αναφορές που προέκυψαν από τα εντοπισμένα άρθρα ερευνήθηκαν για σχετικές πληροφορίες. Η τελική ημερομηνία της αναζήτησης στη βιβλιογραφία ορίστηκε το 2020.

Επιπλέον, η βάση δεδομένων PubMed χρησιμοποιήθηκε με τις λέξεις-κλειδιά «musculoskeletal, gravity» (110 αποτελέσματα), «vestibular, gravity» (206 αποτελέσματα), «immune, gravity» (78 αποτελέσματα), «cardiovascular, gravity» (276 αποτελέσματα) και «microgravity, evolution» (φιλτραρισμένο για «άλλα είδη»· 28 αποτελέσματα). Η τελική ημερομηνία της αναζήτησης στη βιβλιογραφία ορίστηκε το 2021. Η εκτενής αναζήτηση επικεντρώθηκε στα πλέον σχετικά άρθρα, βάσει υποκειμενικής αξιολόγησης.

10. $\Delta IA\Theta E\Sigma IMOTHTA \Delta E\Delta OMEN\Omega N$

Τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν στην προετοιμασία της τρέχουσας έρευνας αντλήθηκαν από το αποθετήριο NASA GeneLab Open Science Data Repository (OSDR) (https://osdr.nasa.gov/bio).

(Κωδικοί πρόσβασης, DOIs):

(OSD-33, https://doi.org/10.26030/7btg-6q49),

(OSD-32, <u>https://doi.org/10.26030/jpyz-fn46</u>),

(OSD-536, https://doi.org/10.26030/bg5q-t229),

(OSD-232, https://doi.org/10.26030/9626-w275),

(OSD-135, <u>https://doi.org/10.26030/rjyq-x751</u>),

(OSD-396, https://doi.org/10.26030/ce4f-xx71),

(OSD-111, https://doi.org/10.26030/9580-9n52),

(OSD-228, https://doi.org/10.26030/bfmx-z866),

(OSD-227, https://doi.org/10.26030/vk0m-0558),

(OSD-21, <u>https://doi.org/10.25966/c36b-3g68</u>),

(OSD-30, https://doi.org/10.25966/90vx-bf79),

(OSD-107, https://doi.org/10.26030/2x2z-6w28),

(OSD-324, https://doi.org/10.26030/s7kj-h383),

(OSD-547, https://doi.org/10.26030/y2af-c498),

(OSD-18, <u>https://doi.org/10.25966/j6hy-d340</u>),

(OSD-29, <u>https://doi.org/10.25966/6rr8-r017</u>),

(OSD-50, https://doi.org/10.26030/69kd-nx87),

(OSD-61, <u>https://doi.org/10.26030/2zjp-sj35</u>),

(OSD-116, <u>https://doi.org/10.26030/ya5a-e896</u>),

(OSD-4, https://doi.org/10.25966/qq9p-pc28), (OSD-25, https://doi.org/10.25966/kzxa-s692), (OSD-48, https://doi.org/10.26030/jq04-0n51), (OSD-63, https://doi.org/10.26030/gsmt-8e70), (OSD-51, https://doi.org/10.26030/3w73-jn41), (OSD-198, https://doi.org/10.26030/kcrr-p336), (OSD-195, https://doi.org/10.26030/r6bv-rk07), (OSD-370, https://doi.org/10.26030/zyy0-6497), (OSD-124, https://doi.org/10.26030/6fwd-2p79), (OSD-546, https://doi.org/10.26030/mg6a-qv31), (OSD-174, https://doi.org/10.26030/6sg0-ng36), (OSD-118, https://doi.org/10.26030/rcyt-qp10), (OSD-114, https://doi.org/10.26030/yssj-bg68), (OSD-5, https://doi.org/10.25966/qq4z-4m04), (OSD-13, https://doi.org/10.26030/4an8-r968), (OSD-484, https://doi.org/10.26030/semj-9y19), (OSD-189, https://doi.org/10.26030/r0md-de60), (OSD-172, https://doi.org/10.26030/jx41-b816), (OSD-188, https://doi.org/10.26030/3jq1-s218), (OSD-283, https://doi.org/10.26030/ge2v-wr94), (OSD-297, https://doi.org/10.26030/bb5k-1h18), (OSD-545, https://doi.org/10.26030/7ta4-ga35), (OSD-54, https://doi.org/10.26030/8mfb-wa73), (OSD-52, https://doi.org/10.26030/nt3p-p547), (OSD-55, https://doi.org/10.26030/9thk-dv75), (OSD-56, https://doi.org/10.26030/nc96-xp67), (OSD-128, https://doi.org/10.26030/73sd-9a85), (OSD-129, https://doi.org/10.26030/sec3-y188), (OSD-125, https://doi.org/10.26030/6dnk-x507).

11. ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η προεπεξεργασία των δεδομένων και η ανάλυση της διαφορικής έκφρασης πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της γλώσσας προγραμματισμού R εντός του περιβάλλοντος R Bioconductor. Μετά την ανάκτηση των ακατέργαστων δεδομένων έκφρασης μικροσυστοιχιών για κάθε σύνολο δεδομένων από το NASA OSDR πραγματοποιήσαμε κανονικοποίηση χρησιμοποιώντας τα πακέτα affy, oligo (για πειράματα μικροσυστοιχιών Affymetrix) ή limma (για την πλατφόρμα της Agilent). Συγκεκριμένα, για τα σύνολα δεδομένων Affymetrix, χρησιμοποιήσαμε τον αλγόριθμο Robust Multiarray Analysis (RMA), όπως έχει εφαρμοστεί στα πακέτα affy και oligo του R/Bioconductor. Αυτός ο αλγόριθμος περιλαμβάνει τέσσερα βασικά στάδια: διόρθωση υποβάθρου, μετατροπή σε λογαριθμική κλίμακα (log2), ομαλοποίηση ποσοστιαίας τάξης (quantile normalization) και σύνοψη όλων των συνόλων ανιχνευτών (probe sets) σε μία ενιαία τιμή έκφρασης για κάθε γονίδιο. Αντίστοιχα, για τα σύνολα δεδομένων Agilent, η ομαλοποίηση πραγματοποιήθηκε με χρήση του πακέτου limma. Αυτή περιλάμβανε διόρθωση υποβάθρου με τη μέθοδο "normexp" με αντιστάθμιση (offset), ομαλοποίηση εντός της ίδιας μικροσυστοιχίας μέσω loess normalization, και ομαλοποίηση μεταξύ μικροσυστοιγιών μέσω Quantile Normalization.[149], [150], [151] Τα ακραία δείγματα (outliers) εντοπίστηκαν και απομακρύνθηκαν μέσω μεθόδων οπτικοποίησης ελέγχου ποιότητας, συμπεριλαμβανομένων διαγνωστικών διαγραμμάτων, όπως διαγράμματα PCA, boxplots κατανομών έντασης συστοιχιών, διαγράμματα πυκνότητας ακατέργαστων εντάσεων, διαγράμματα ΜΑ. Ως αποκλίνοντα δείγματα ορίστηκαν εκείνα που παρουσίαζαν συστηματικές αποκλίσεις από τα αναμενόμενα μοτίβα ομαδοποίησης (π.χ. εκτός της 95% εμπιστευτικής έλλειψης στα PCA plots) ή εμφάνιζαν μη φυσιολογικές κατανομές έντασης σήματος σε πολλαπλές απεικονίσεις ποιοτικού ελέγχου, π.χ. συστηματικές μετατοπίσεις ή υψηλή διακύμανση των τιμών M στα MA plots (βλ. Εικόνα 38, Απομάκρυνση outliers μέσω εφαρμογής μεθόδων οπτικοποίησης ποιοτικού ελέγχου στο σύνολο δεδομένων OSD-51). Τα επίσημα γονιδιακά σύμβολα, όπως ορίστηκαν από την Επιτροπή Ονοματολογίας Γονιδίων του Οργανισμού Ανθρώπινου Γονιδιώματος, χρησιμοποιήθηκαν ως αναγνωριστικά (annotation) σε όλα τα πειράματα και τις πλατφόρμες.

12. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ, ΕΥΡΕΣΗ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΟΝΟΠΑΤΙΩΝ

Πραγματοποιήσαμε μια συγκριτική μετα-ανάλυση των γονιδίων που εκφράζονται διαφορετικά από σύνολα δεδομένων μεταξύ των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens, με ιδιαίτερη έμφαση στο μυοσκελετικό σύστημα. Η επιλογή αυτή καθοδηγήθηκε από το γεγονός ότι το μυοσκελετικό σύστημα περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα τύπων ιστών που είναι σε μεγάλο βαθμό συγκρίσιμο μεταξύ των συνόλων δεδομένων ανθρώπου και

ποντικού. Με την εστίαση σε αυτό το φυσιολογικό σύστημα, επιδιώξαμε να αξιολογήσουμε τη συνέπεια των ευρημάτων και να εντοπίσουμε τα κοινώς ρυθμιζόμενα και υπορυθμιζόμενα γονίδια στον εκάστοτε οργανισμό, καθώς επίσης και μεταξύ των δύο ειδών.

Για να καταδείξουμε τη συμφωνία σε επίπεδο γονιδίων μεταξύ των πειραμάτων, υπολογίσαμε τον συντελεστή συσχέτισης Pearson μεταξύ του αριθμού των γονιδίων σε διαφορετικά σύνολα δεδομένων από τον ίδιο τύπο ιστού. Για την αποφυγή διπλών γονιδίων ανά πείραμα υπολογίσαμε τη μέση τιμή έκφρασης για κάθε κοινό γονίδιο και αφαιρέσαμε τις μηδενικές τιμές.

Για τον εντοπισμό γονιδίων που εκφράζονται διαφορετικά και είναι αναπαραγώγιμα μεταξύ πειραμάτων, επικεντρωθήκαμε σε πειράματα που πληρούν τα προαναφερθέντα κριτήρια ένταξης, ήτοι 1) μελέτη προς εξέταση περίπτωσης-ελέγχου (case-control), 2) προερχόμενα από μυοσκελετικό ιστό του ίδιου είδους, 3) μη επεξεργασμένα δείγματα, 4) σύγκριση ομάδας μικροβαρύτητας έναντι ομάδας ελέγχου.

Τα Διαφορικά Εκφραζόμενα Γονίδια (DEGs) μεταξύ της ομάδας μικροβαρύτητας και της ομάδας ελέγχου εντοπίστηκαν χρησιμοποιώντας το πακέτο limma του R.[150] Η μέθοδος Benjamini-Hochberg εφαρμόστηκε για τη διόρθωση της τιμής p.[152] Συγκεκριμένα, η ταυτοποίηση των DEGs πραγματοποιήθηκε βάσει των ακόλουθων κριτηρίων: 1) Διορθωμένη τιμή p κάτω από 0.05 και 2) Απόλυτη τιμή του λογαρίθμου στη βάση 2 της μεταβολής έκφρασης (|log2FC|) πάνω από 1. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις εμπλουτισμού όρων Gene Ontology (GO) και μονοπατιών της Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) χρησιμοποιώντας το βιοπληροφορικό σύστημα DAVID Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (βλ. **Εικόνα 55**).[153], [154]



Εικόνα 55. Βιοπληροφορική πλατφόρμα DAVID, σύνοψη λειτουργικών επισημειώσεων.48

13. ΣΥΓΧΩΝΕΥΜΕΝΑ ΣΥΝΟΛΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΥΜΒΑΤΑ ΜΕ ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ (AI-READY MERGED DATASETS)

Τα δεδομένα που προέκυψαν από τον έλεγχο των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων (DEGs) σε μεμονωμένα σύνολα δεδομένων και ιστούς ενσωματώθηκαν σε νέα πλαίσια δεδομένων, και έτσι δημιουργήθηκαν δύο συγχωνευμένα μετα-σύνολα δεδομένων, καθένα από τα οποία αντιστοιχεί σε ένα είδος. Αυτά τα μετα-δεδομένα περιελάμβαναν ως κύρια γαρακτηριστικά (features) τα ακόλουθα: adjusted p-value, Gene Symbol και τιμή log2FC. Στη συνέχεια, προστέθηκαν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά για να διερευνηθούν ως προγνωστικοί παράγοντες στα μοντέλα μηγανικής μάθησης: Gene Ontology ID, μέθοδος βαρύτητας (πραγματική ή προσομοιωμένη), ακριβής μέθοδος βαρύτητας (π.χ. διαστημική πτήση, ανάλογο κρεβάτι, ανάρτηση οπίσθιων άκρων κ.λπ.), τύπος ιστού (π.χ. soleus, vastus lateralis, gastrocnemius κ.λπ.), πλατφόρμα μικροσυστοιχιών (GPL6480 Agilent, GPL17692 Affymetrix κ.λπ.), αριθμός χρωμοσώματος και χρόνος έκθεσης (σε ώρες) στη μικροβαρύτητα (βλ. Εικόνα 56). Για την αντιμετώπιση ανισοβαρών συνόλων δεδομένων εφαρμόστηκαν τεχνικές επαναδειγματοληψίας, όπως η υπερδειγματοληψία των κλάσεων μειοψηφίας και ο αλγόριθμος Synthetic Minority Over-sampling Technique (SMOTE).[155] Τα κατηγορικά χαρακτηριστικά κωδικοποιήθηκαν σε αριθμητικές αναπαραστάσεις χρησιμοποιώντας τη μέθοδο OneHotEncoder από τη βιβλιοθήκη scikitlearn.[156] Αυτά τα δομημένα, προεπεξεργασμένα και εμπλουτισμένα με χαρακτηριστικά μετα-δεδομένα καθορίζουν συλλογικά αυτό που ονομάζεται "AI-ready dataset"

⁴⁸ <u>https://davidbioinformatics.nih.gov/helps/functional_annotation.html</u>

βελτιστοποιημένο για την εκπαίδευση ισχυρών και ερμηνεύσιμων μοντέλων μηχανικής μάθησης.

| | | | | | | | | | / | ча | aec | L I | ea |
|--------|--|--|------------------------|---------------------------|---------------------|-----------|-------------------|---|---|----|--------|------|-----|
| symb | ol Chromosome_annolatio | n G0_Function_ID | Gravitational_method G | ravitational_exact_method | Tissue | Exposure_ | ime(h) | | | | | | |
| ACOT | 11 Chromosome | 1 GO 0047617/I/GO 0052689//GO 0008289 | Simulated | Bed Rest | Vastus Lateralis | | 216 | 4 | | ~ | | | ~ |
| ACOT | 11 Chromosome | 1 GO.0047617///GO.0052685///GO.0008269 | Simulated | Bed Rest | Vastus Lateralis | | 216 | 1 | | 9 | ene | 20 | In |
| ACOT | 11 Chromosome | 1 GO.0047617/I/GO.0052689/I/GO.0008289 | Simulated | Ded Rest | Vastus Lateralis | | 504 | | | | | | |
| ACSS | 11 Chromosome 2 | 0 G0.0016208//G0.0005524//GO.0003067///GO.0003 | Simulated | Ded Rest | Vastus Lateralis | | 216 | | | | | | |
| ACSS | 1 Chromosome 2 | 0 GO.0016208///GO.0005524///GO.0003967///GO.0003 | Simulated | Ded Rest | Vastus Lateralis | | 216 | 2 | | C | hrc | m | 05 |
| | | | | | | | | ~ | | 0 | , ., . | | |
| | U Chromosome 1 | 0 G0 0003725//G0 0001948//GO 0042802//GO 1990 | Simulated | Bed Rest | Soleus Vastus | | 1440 | | | | | | |
| Vine | 4 Chromosome | 1 GC 0005 109//GC 00480 18//GC 0003714 | Serviced | Bed Rest | Lateralis | | 216 | Z | | 0 | 1001 | it. | at |
| VIN | 4 Chromosome | 1 GO 0005109///GO 0048018///GO 0003714 | Simulated | Bed First | Lateralis | | 216 | 5 | * | 9 | rav | 111 | uı |
| XPC | H Chromosome 1 | 3 GC 0008536///GC 0005049///GC 0005515 | Simulated | Ded Rest | Lateralis | | 216 | | | N | nicr | 00 | ivi |
| ZFPS | 6 Chromosome 1 | 4 GO 00715856//GO 0003677///GO 0035925///GO 0003 | Simulated | Bed Rest | Lateralis | | 504 | | | | 101 | 05 | |
| shot C | hromosome_annotation | G0_Function_ID Ge | evitational_method Gra | vitational_exact_method E | xposure_1 | ime(h) | Tissue | | | | | | |
| 986 | Chromosome 5. NC_000071.6 (100845710_100099102) | Q0.00038411/G0.0004366//G0.0004366//G0.0016 | Simulated | Hindlimb Suspension | | 24 | Soleus | 4 | | G | rav | rit. | at |
| HCr1 | Chromosome 4, NC_000070.6 (15917240.15945507, | G0.0005570//G0.0070402///GO.0015491 | Actual | Spaceflight | | 720 | Soleus | | | b | ed | re | st |
| si24 | Chromosome 4, NC_000070.8 (106561038.106589113) | 00.00030240/00.00002460/00.00002460/00.0050 | Simulated | Hindlinb Suspension | | 24 | Soleus | | | | | | |
| jos2 | Chromosome 3. NC_000059.6 G (96280431.56316738) | 0 000352411GO 000442111GO 000442111GO 0016740 | Actual | Spaceflight | | 720 | Soleus | C | | T | | 2 0 | £ |
| 1001 | Chromosome 16, NC_000032.6 G (31422297.31458901) | 0 0003058//GC 0003024//GC 0016491//GC 0005543 | Simulated | Hindlinb Suspension | | 288 | Calf | 5 | | 1 | gpe | 0 | 1 |
| - | (Burney 1 | | | | | | | | | | | | |
| 292 | NC_000073.6 (120126772.12014541 | GO:0032190///GO:0095515 | Adval | Spacefight | | 720 | Soleus | 6 | | T | ina | 2 0 | f |
| wiet | Chromosome 10. NC 000076.6 (72654546.72674964) | G0.1047485irG0.0005515 | Actual | Spacefight | | 720 | Soleus | 0 | - | I | 10016 | 20 | 1 |
| witt | Chromosome 10, NC 000076.6 (72654846.72674964) | GO:0047485ii/GO:0005515 | Actual | Spacefight | | 720 La | gissimus Dorsi | | | | | | |
| witt | Chromosome 10, NC_000076.6 (72654846.72674964) | Q0:0047485//GO:0005515 | Actual | Spacefight | | 720 | Soleus | | | | | | |
| wint | Chromosome 10, NC_000076.6 | GO:0047485/I/GO:0005515 | Actual | Spacefight | | 720 | Soleus | | | | | | |

- = Added features:
- logy ID
- ne annotation
- nal method (actual or simulated tu)
- nal exact method (e.g. spaceflight, nalogue, hindlimb suspension etc.
- sue (e.g. soleus, gastrocnemius etc)
- posure in µg (h)

Εικόνα 56. Επιπρόσθετα χαρακτηριστικά (features) που ενσωματώθηκαν στο AI-ready σύνολο δεδομένων.

14. TAEINOMHTE Σ ΕΠΙΒΛΕΠΟΜΕΝΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ KAI ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΜΑΘΗΣΗΣ (TRANSFER LEARNING)

Μετά την προετοιμασία των δεδομένων και τις διαδικασίες προεπεξεργασίας, προγωρήσαμε στην εκπαίδευση πολλαπλών εποπτευόμενων μοντέλων Μηγανικής Μάθησης με στόγο την ανάπτυξη αποτελεσματικών ταξινομητών για τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης. Χρησιμοποιήθηκαν οι ταξινομητές Logistic Regression, Decision Tree, Support Vector Machine (SVM), Random Forest, Naïve Bayes και Artificial Neural Network για την ταξινόμηση του κατά πόσον ένα γονίδιο υπερεκφράζεται ή υποεκφράζεται. Επιπλέον, πραγματοποιήσαμε μια ταξινόμηση πολλαπλών κατηγοριών με τη χρήση K-Nearest Neighbors για να προβλέψουμε εάν ένα γονίδιο υπερεκφράζεται, υποεκφράζεται ή εκφράζεται διαφορικά μεν αλλά μη σημαντικά δε στη μικροβαρύτητα. Στο πλαίσιο της προσέγγισής μας για τη Μεταφορική Μάθηση, αρχικά προ-εκπαιδεύσαμε το μοντέλο μας σε σύνολα δεδομένων ποντικών και στη συνέχεια το τελειοποιήσαμε χρησιμοποιώντας ένα συγκριτικά μικρότερο ανθρώπινο σύνολο δεδομένων-στόχων. Για τη μείωση της διαστατικότητας και τη διευκόλυνση της ανάλυσης, εφαρμόστηκε ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) τόσο στα σύνολα δεδομένων του οργανισμού Mus musculus όσο και στα σύνολα δεδομένων Homo sapiens για να μειωθεί η διαστατικότητα των χαρακτηριστικών κάθε συνόλου δεδομένων στις 100 κορυφαίες κύριες συνιστώσες, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν ως είσοδος στους ταξινομητές. Η απόδοση αυτών των

ταξινομητών αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε με βάση μετρικές όπως η ακρίβεια και η ανάκληση (accuracy, precision και recall). Μετά τη ρύθμιση των υπερπαραμέτρων για την αρχιτεκτονική του νευρωνικού δικτύου, ενσωματώσαμε τρία επίπεδα με συνάρτηση ενεργοποίησης ReLU, SELU και Sigmoid αντίστοιχα. Κατά τη σύνταξη χρησιμοποιήθηκε ο βελτιστοποιητής Nadam και η δυαδική συνάρτηση απώλειας cross entropy. Εφαρμόστηκε διασταυρούμενη επικύρωση με k=5 φορές για ισχυρή αξιολόγηση. Το σύνολο δεδομένων μας χωρίστηκε σε σύνολα εκπαίδευσης και δοκιμής χρησιμοποιώντας αναλογία διαγωρισμού 80-20%. Χρησιμοποιήσαμε έναν γραμμικό πυρήνα για το μοντέλο SVM, διαμορφώσαμε τον ταξινομητή Random Forest με εβδομήντα εκτιμητές και εφαρμόσαμε το μοντέλο Gaussian Naïve Bayes για το σύνολο δεδομένων ποντικών, ενώ χρησιμοποιήσαμε το μοντέλο Bernoulli Naïve Bayes για το ανθρώπινο σύνολο δεδομένων. Τα μοντέλα μηγανικής μάθησης υλοποιήθηκαν με τη χρήση της γλώσσας προγραμματισμού Python, με το Jupyter Notebook να χρησιμεύει ως διαδικτυακή διαδραστική υπολογιστική πλατφόρμα.[157] Η βιβλιοθήκη TensorFlow και η Keras γρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση των νευρωνικών δικτύων.[158] Επιπλέον, αξιοποιήθηκαν οι βιβλιοθήκες scikit-learn και seaborn για τη δημιουργία αναφορών ταξινόμησης, πινάκων σύγχυσης και heatmaps. Οι Pandas, NumPy και Matplotlib χρησιμοποιήθηκαν επίσης για την επεξεργασία δεδομένων, τους αριθμητικούς υπολογισμούς και τις εργασίες οπτικοποίησης δεδομένων αντίστοιχα.[159], [160], [161]

Στο Μέρος ΙΙΙ-Αποτελέσματα παρατίθενται οι επιδράσεις της μεταβαλλόμενης βαρύτητας στα φυσιολογικά συστήματα του ανθρώπου και πρότυπων οργανισμών, ενώ παράλληλα μελετάται πώς η βαρύτητα φαίνεται να έχει επηρεάσει την εξέλιξη των ειδών στη Γη.

ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

15. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΜΕΝΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΣΤΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ

15.1.ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΙΚΡΟΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΣΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ MUS MUSCULUS KAI HOMO SAPIENS

Στο παρόν κεφάλαιο παραθέτουμε τις επιδράσεις της μεταβαλλόμενης βαρύτητας στον ανθρώπινο οργανισμό και σε άλλα σπονδυλωτά είδη. Σε γενικές γραμμές, οι άνθρωποι προσαρμόζονται κατάλληλα στο διαστημικό περιβάλλον και οι συνθήκες δεν απειλούν τη ζωή τους για τουλάχιστον ένα έτος παραμονής στο διάστημα. Το καρδιαγγειακό, το ανοσοποιητικό, το αιθουσαίο και το μυοσκελετικό σύστημα του ανθρώπου παρουσιάζουν σοβαρές ανωμαλίες σε συνθήκες μεταβολής της βαρύτητας. [162], [163] Υπάρχουν πολλαπλοί και περίπλοκοι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία κατά τη διαστημική πτήση που προκαλούνται από ένα συνδυασμό περιβαλλοντικών στρεσογόνων παραγόντων, όπως οι βαρυτικές μεταβολές, η ιονίζουσα ακτινοβολία, το υψηλό επίπεδο διοξειδίου του άνθρακα, οι αλλαγές στη διατροφή, το φυσιολογικό στρες κ.α. Πρέπει να αναπτυχθούν κατάλληλα αντίμετρα για την αποτελεσματική ελαγιστοποίηση των προαναφερθέντων επιπτώσεων.[164], [165], [166], [167], [168] Τα περισσότερα δεδομένα διαστημικών πτήσεων προέρχονται από πρότυπους οργανισμούς (model organisms) και όχι από τον ανθρώπινο οργανισμό. Ένα παράδειγμα οργανισμού-μοντέλου είναι ο Mus musculus, που αποτελεί ένα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη των επιπτώσεων των μεταβαλλόμενων βαρυτικών συνθηκών. Οι τρέχουσες γνώσεις σχετικά με τις επιπτώσεις της διαστημικής πτήσης προέρχονται από πειραματικά μοντέλα in vivo, ex vivo (π.χ. ιστός) και in vitro (π.γ. κυτταροκαλλιέργεια).[169]

Ενδεικτικά, αναφέρουμε μερικές από τις επιπτώσεις της μεταβαλλόμενης βαρύτητας στα προαναφερθέντα φυσιολογικά συστήματα πριν υπεισέλθουμε στους οργανισμούς Homo sapiens και Mus musculus. Οι Albi et al. (2017) υποστήριξαν ότι οι συνθήκες μικροβαρύτητας προκαλεί μορφολογικές και λειτουργικές μεταβολές εντός του θυρεοειδούς αδένα. Η ομαλή λειτουργία του είναι απαραίτητη για τη σωματική και ψυχική υγεία, καθώς το καρδιαγγειακό, το μυοσκελετικό, το νευρικό και το ανοσοποιητικό σύστημα ελέγχονται από αυτόν.[170] Συγκεκριμένα, οι συγγραφείς επεξεργάστηκαν τα κύτταρα FRTL-5 με την ορμόνη διέγερσης του θυρεοειδούς (TSH) κατά την έναρξη της μικροβαρύτητας και τα σταθεροποίησαν αμέσως μετά το τέλος της περιόδου μικροβαρύτητας. Παρατήρησαν επίσης αλλαγές στο κυτταροσκελετό των ανθρώπινων κυττάρων FTC-133 λίγο μετά την είσοδο σε συνθήκες μικροβαρύτητας. Τα θυλακιώδη

κύτταρα είναι υπεύθυνα για την παραγωγή και την έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών θυροξίνης (T4) και τριιωδοθυρονίνης (T3) και αποτελούν τον κύριο κυτταρικό τύπο του θυρεοειδούς αδένα. Από την άλλη πλευρά, πειράματα με φυσιολογικά ανθρώπινα πρωτογενή θυλακιώδη επιθηλιακά κύτταρα του θυρεοειδούς (Nthy-3-1-ori) υπό συνθήκες υπερβαρύτητας (1,8g) έδειξαν ότι η έκφραση της υπομονάδας Integrin Alpha 10 (ITGA10) δεν εξαρτάται από το βαρυτικό περιβάλλον.[171], [172]

Η ορθοστατική δυσανεξία μετά την πτήση, η καρδιακή ατροφία και οι διαταραχές του καρδιακού ρυθμού είναι μερικές από τις ενδείξεις που αποδεικνύουν ότι η μικροβαρύτητα επηρεάζει το ανθρώπινο καρδιαγγειακό σύστημα.[173] Ερευνητές στη NASA απέδειξαν ότι η μέση αρτηριακή πίεση μειώνεται σε περίπτωση μακροχρόνιας έκθεσης σε μικροβαρύτητα.[174] Επηρεάζεται η εξέλιξη της αρτηριακής πίεσης των θηλαστικών από τη βαρύτητα; Γενικά, το συνολικό ύψος της στήλης αίματος πάνω από την καρδιά αυξάνεται σε σγέση με το μέγεθος του σώματος και η κεντρική συστηματική αρτηριακή πίεση σχετίζεται θετικά με αυτό. Έτσι, οι καρδιές των μεγαλύτερων ζώων θα πρέπει να αντλούν περισσότερο ενάντια στη βαρύτητα και την υψηλότερη περιφερική αντίσταση του σώματος. Η υδροστατική πίεση στον πυθμένα μιας στήλης υγρού υπολογίζεται ως το γινόμενο της πυκνότητας του υγρού, της επιτάχυνσης της βαρύτητας και του κατακόρυφου ύψους της στήλης. Αναλύοντας τη διαστολική, τη συστολική και τη μέση αρτηριακή πίεση σε 47 είδη θηλαστικών και χρησιμοποιώντας μη γραμμικές αναλύσεις, οι White et al. (2014) έδειξαν ότι η μέση αρτηριακή πίεση διαφέρει σημαντικά μεταξύ ενός ποντικού των 10 γραμμαρίων και ενός ελέφαντα των 4 τόνων.[175] Επιπλέον, η αρτηριακή πίεση δεν διέφερε σημαντικά, από την προβλεπόμενη, με βάση την κατακόρυφη απόσταση μεταξύ κεφαλιού και καρδιάς, υποδεικνύοντας ότι η πίεση που απαιτείται για την αιμάτωση των τριχοειδών αγγείων στην κορυφή του σώματος μπορεί να είναι μικρότερη μεταξύ των μεγαλύτερων ειδών.[175]

Οι Fuentes et al. (2015) διερεύνησαν την αντίδραση των προγονιδίων, που απομονώθηκαν από τη νεογνική και την ενήλικη ανθρώπινη καρδιά, σε περιβάλλον μικροβαρύτητας, ποσοτικοποιώντας τις μεταβολές στις λειτουργικές παραμέτρους, την έκφραση γονιδίων και τα επίπεδα πρωτεϊνών μετά από 6 ημέρες σε συνθήκες προσομοίωσης μικροβαρύτητας. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η ηλικία ενδέχεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σχετικά με τις επιδράσεις της έκθεσης καρδιαγγειακών προγονιδίων. Τα νεογνικά προγονικά κύτταρα φάνηκε να αποκτούν χαρακτηριστικά αποδιαφοροποιούμενων κυττάρων- ενώ η έκφραση δεικτών ενδοθηλιακής και μυοκαρδιογενούς διαφοροποίησης ήταν υψηλότερη στα ενήλικα καρδιακά προγονικά κύτταρα.[173] Ο Jha et al. (2016) δημιούργησαν μικροκλίμακες προγονικών καρδιακών σφαιριδίων από ανθρώπινα

πολυδύναμα βλαστοκύτταρα και τα εξέθεσαν σε προσομοιωμένη μικροβαρύτητα χρησιμοποιώντας μια μηχανή τυχαίας τοποθέτησης για 3 ημέρες, κατά τη διάρκεια της φάσης διαφοροποίησής τους σε καρδιομυοκύτταρα. Από τη συγκεκριμένη διαδικασία προέκυψαν ιδιαίτερα εμπλουτισμένα καρδιομυοκύτταρα με υψηλή βιωσιμότητα (90%). Στην τρισδιάστατη καλλιέργεια υπό συνθήκες μικροβαρύτητας παρατηρήθηκε αυξημένος πολλαπλασιασμός και βιωσιμότητα των καρδιακών προγονικών κυττάρων, καθώς και αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την επιβίωση στο πρώιμο στάδιο της διαφοροποίησης.[176] O Wnorowski et al. (2019) χρησιμοποίησαν καρδιομυοκύτταρα που προέρχονται από επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα ανθρώπου (hiPSC-CMs) για να μελετήσουν τις επιδράσεις της μικροβαρύτητας στη λειτουργικότητα των καρδιακών κυττάρων και στην έκφραση γονιδίων. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (ISS) για 5,5 εβδομάδες, όπου παρατηρήθηκαν μεταβολές στη 2700 ασβεστίου. Συνολικά, περίπου γονίδια διαχείριση του παρουσίασαν διαφοροποιημένη έκφραση μεταξύ των δειγμάτων που προέρχονταν από το διάστημα, τη φάση μετά την πτήση και τον επίγειο έλεγχο.[177]

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος φαίνεται να είναι επίσης ευαίσθητα στις μεταβαλλόμενες συνθήκες βαρύτητας. Ο Bucheim et al. (2019) ανέφεραν ότι μια συγκεκριμένη ομάδα στρεσογόνων παραγόντων στον άνθρωπο, ικανών να προκαλέσουν φυσιολογική ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, προκάλεσε μη παρατεταμένη απελευθέρωση ενδοκανναβινοειδών κατά τη διάρκεια μακροχρόνιας διαστημικής πτήσης. Ο Bonyaratanakornkit et al. (2005) αξιολόγησαν τη διαφορική μεταγραφική απόκριση των γονιδίων των πρωτογενών ανθρώπινων Τ-κυττάρων σε προσομοιωμένη ελεύθερη πτώση, χρησιμοποιώντας μια μηχανή τυχαίας τοποθέτησης. Η μελέτη τους έδειξε ότι η βαρύτητα επηρεάζει τα σηματοδοτικά μονοπάτια, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη ευαισθησία σε λοιμώξεις.[178], [179] Από την άλλη πλευρά, ο Thiel et al. (2017) προσομοίωσαν το βαρυτικό περιβάλλον μέσω ενός συνδυασμού παραβολικών πτήσεων με υποτροχιακούς βαλλιστικούς πυραύλους, πειραμάτων με δισδιάστατο κλινοστάτη και φυγοκεντρητή. Μελέτησαν τη σταθερότητα της γονιδιακής έκφρασης μη ενεργοποιημένων ανθρώπινων Τ-λεμφοκυττάρων Jurkat. Τα πειράματά τους έδειξαν ότι πάνω από το 90% όλων των μεταγράφων δεν παρουσίασαν σημαντικές αλλαγές στο περιβάλλον μικροβαρύτητας, όπου χρησιμοποιήθηκαν αυστηροί έλεγχοι για την εξάλειψη πιθανών παραγόντων επιρροής. Περίπου το ένα τρίτο των μεταγράφων (20–40%) παρέμεινε αμετάβλητο μεταξύ 10^{-4} και 10^{-2} g, ενώ το 10-20%παρέμεινε εντελώς αμετάβλητο σε οποιεσδήποτε βαρυτικές συνθήκες, δηλαδή μεταξύ 10-4 και 9 g. [180] Όσον αφορά στις επιδράσεις της μικροβαρύτητας στα ανοσοκύτταρα, όλες

οι μελέτες συμφωνούν ότι υπάρχουν δύο κύριες επιδράσεις: πρώτον, η μικροβαρύτητα μειώνει το μέγεθος του πληθυσμού των ανοσοκυττάρων καθώς και την ανοσοαποκρισιμότητά τους, και δεύτερον, ενισχύει τις κυτταροσκελετικές αλλαγές, οι οποίες συνδέονται άμεσα με την επίδραση της μικροβαρύτητας. [181]

Το σύστημα καθοδήγησής μας -το αιθουσαίο- είναι σε θέση να ελέγχει τη στάση του σώματος, τη σταθερότητα του σώματος, τη δραστηριότητα του συμπαθητικού νεύρου, την αρτηριακή πίεση, τη συμπεριφορά σίτισης, το μεταβολισμό των μυών και των οστών, τις κινήσεις των ματιών και τον κάθετο προσανατολισμό σε σχέση με τη βαρύτητα. Το αιθουσαίο σύστημα περιέχει ωτολιθικά όργανα και ημικυκλικούς σωλήνες που αντιλαμβάνονται τη γραμμική και τη γωνιακή επιτάχυνση, αντίστοιχα. Το αιθουσαίο σύστημα είναι ιδιαίτερα πλαστικό και φαίνεται να επηρεάζεται κατά την έκθεση σε μεταβαλλόμενες συνθήκες βαρύτητας.[182] Ο Jamon et al. (2014) έδειξαν ότι το περιφερικό αισθητηριακό όργανο προσαρμόζει τη μάζα των ωτοκονίων και την εννεύρωση του αισθητηριακού επιθηλίου ώστε να προσαρμοστεί στα εκάστοτε επίπεδα βαρύτητας.[183] O Hallgren et al. (2016) μελέτησαν και συνέκριναν την ανταπόκριση της οφθαλμοκινητικής αντιστάθμισης (OCR) πριν και μετά την πτήση, έναν αντανακλαστικό μηχανισμό που ενεργοποιείται από τους βαρυτικούς αισθητήρες του έσω ωτός και συμβάλλει στη σταθεροποίηση του βλέμματος και της στάσης του σώματος κατά την κλίση της κεφαλής, σε μια ομάδα 25 αστροναυτών. Διαπίστωσαν σημαντική μείωση της OCR κατά την επιστροφή τους, ενώ η ανταπόκριση που μεσολαβείται από τα ωτόλιθια επανήλθε στα προ της πτήσης επίπεδα εντός 9 ημερών από την επιστροφή.[184] Επιπλέον, o Reschke et al. (2018) συνέκρινε την OCR έξι αστροναυτών πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από διαστημικές πτήσεις διάρκειας 4-6 ημερών με μετρήσεις OCR που πραγματοποιήθηκαν πριν και μετά από διαστημικές αποστολές διάρκειας 4-9 μηνών. Όσον αφορά στις βραχυχρόνιες διαστημικές πτήσεις, η ανταπόκριση επανήλθε στο φυσιολογικό εντός 2 ωρών και δεν παρατηρήθηκε OCR κατά την κλίση της κεφαλής σε συνθήκες μικροβαρύτητας. Αντίθετα, μετά από μακροχρόνιες αποστολές, το εύρος της OCR μειώθηκε για αρκετές ημέρες μετά την επιστροφή στη Γη, χωρίς όμως να επηρεαστεί η ασυμμετρία μεταξύ της δεξιάς και της αριστερής κλίσης της κεφαλής. Τα δεδομένα τους υποδηλώνουν ότι τα αντανακλαστικά που μεσολαβούνται από τα ωτόλιθια προσαρμόζονται στη μικροβαρύτητα μέσω μιας μακροχρόνιας διαδικασίας. [185]

Οι επιδράσεις της μικροβαρύτητας στο μυοσκελετικό σύστημα είναι αισθητές σε ποικίλα πειράματα. Ενδεικτικά αναφέρουμε πως έρευνες αναδεικνύουν ότι κατά τη διάρκεια αποστολών στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (ISS), οι αστροναύτες παρουσίασαν μείωση στην οστική πυκνότητα (BMD) της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης κατά 2,5-

10,6%, μείωση της BMD του μηριαίου οστού κατά 3–10% και, σε ορισμένες περιπτώσεις, μείωση 1,7–10,5% στην οστική πυκνότητα του αυχένα του μηριαίου οστού. Από τις πρώτες διαστημικές πτήσεις έγινε εμφανές ότι οι αστροναύτες παρουσίαζαν μείωση της οστικής πυκνότητας κατά 1–6% ανά μήνα στη σπονδυλική στήλη, τον αυχένα του μηριαίου, τον τροχαντήρα και τη λεκάνη, με διακυμάνσεις μεταξύ των ατόμων. [186]

Η παρούσα ανασκόπηση μελετά τις επιδράσεις των τροποποιημένων βαρυτικών συνθηκών στον οργανισμό Mus musculus. Έχει αποδειχθεί ότι το κεντρικό νευρικό σύστημα (KNΣ) του Mus musculus παρουσιάζει σοβαρές ανωμαλίες μετά την έκθεση σε συνθήκες διαστημικής πτήσης. Για παράδειγμα, έχει εντοπιστεί νευροφλεγμονή μετά από ιονίζουσα ακτινοβολία μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με έκθεση σε μικροβαρύτητα.[187], [188] Οι Santucci et al. (OSD- 33, https://doi.org/10.26030/7btg-6q49) μελέτησαν τις επιπτώσεις στο επίπεδο έκφρασης γονιδίων και πρωτεϊνών στον εγκεφαλικό ιστό ποντικού μετά από τρίμηνη παραμονή του στον Διεθνή Διαστημικό Σταθμό (ISS). Διαπίστωσαν ότι η έκφραση του νευρικού αυξητικού παράγοντα (Ngf) μειώθηκε στον ιππόκαμπο, το φλοιό και τα επινεφρίδια κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης, ενώ ο εγκεφαλικός νεοτροτροφικός παράγοντας (Bdnf) δεν παρουσίασε σταθερές αλλαγές στις περιοχές του εγκεφάλου και στα επινεφρίδια. Και οι δύο πρωτεΐνες εμπλέκονται στη μάθηση και τη μνήμη μέσω της ρύθμισης της νευρωνικής πλαστικότητας. Τα γονίδια που σχετίζονται με διάφορες μεταβολικές και καταβολικές διεργασίες παρουσίασαν μείωση της έκφρασής τουε, ενώ οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με το μιτοχονδριακό μεταβολισμό και το μεταβολισμό του ασβεστίου, τη σύνθεση και υδρόλυση του ΑΤΡ, καθώς και τη μεταφορά αμινοξέων εμφάνισαν αύξηση της έκφρασης.[189] Οι Frigeri et al. (OSD-32, https://doi.org/10.26030/jpyz-fn46) πραγματοποίησαν ανάλυση της έκφρασης mRNA σε εγκεφαλικό ιστό ποντικών που είχαν αποφορτιστεί από τα οπίσθια άκρα για 2 εβδομάδες. Η αποφόρτιση των οπίσθιων άκρων (HU) είναι ένα ανάλογο της μικροβαρύτητας στο οποίο τα οπίσθια άκρα ενός τρωκτικού αιωρούνται. Γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά μικρών μορίων και ιόντων στα κύτταρα υπερκεράστηκαν στην ομάδα δειγμάτων που εφαρμόστηκε συνθήκη προσομοίωσης μικροβαρύτητας (HU). Παρατηρήθηκε επίσης αυξημένος κίνδυνος φλεβικής θρόμβωσης, καθώς και αλλαγές σε λειτουργικά μονοπάτια όπως η ανοσολογική απόκριση, η απόδοση μάθησης και μνήμης και η κυτταρική σύνδεση.[190] Οι Holley et al. (OSD-536, https://doi.org/10.26030/bg5qt229) ανέδειξαν σημαντικές μεταβολές στα προφίλ γονιδιακής έκφρασης που σχετίζονται με τη νευρωνική λειτουργία, τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, την ανάπτυξη και τη μεταβολική λειτουργία στον εγκεφαλικό ιστό ποντικών που φιλοξενούνταν στον ISS για τριάντα πέντε ημέρες. Ειδικότερα, τα γονίδια που υποστηρίζουν τη συναπτική σηματοδότηση και τη μετανάστευση των νευρώνων παρουσίασαν σημαντική καταστολή της έκφρασής τους.[191]

Οι επιβλαβείς συνέπειες της έκθεσης σε μικροβαρύτητα στο μυοσκελετικό σύστημα έχουν επίσης τεκμηριωθεί εκτενώς. Οι Fitzgerald et al. (OSD-232, https://doi.org/10.26030/9626-<u>w275</u>) μελέτησαν τον αρθρικό και στερνικό χόνδρο από ποντίκια που εκτέθηκαν σε συνθήκες διαστημικής πτήσης για 30 ημέρες. Τα γονίδια που κωδικοποιούν δομικά συστατικά της εξωκυττάριας μήτρας, όπως τα Fmod, Ogn, Omd, Dcn, Dpt, Prelp, Coll0a1, Tsp4 και Comp, υποεκφράστηκαν στον αρθρικό χόνδρο. Τα επίπεδα των πρωτεογλυκανών ήταν μειωμένα στον αρθρικό χόνδρο της διαστημικής πτήσης, ενώ δεν παρατηρήθηκε απώλεια πρωτεογλυκανών στον στερνικό χόνδρο. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στη μικροβαρύτητα, ο αρθρικός χόνδρος υφίσταται σχεδόν πλήρη αποφόρτιση, αλλά ο στερνικός χόνδρος εξακολουθεί να υπόκειται σε μηγανικό φορτίο.[192] Οι Gambara et al. (OSD-135, https://doi.org/10.26030/rjyq-x751) μελέτησαν τον μακρύ ραχιαίο μυ (longissimus dorsi) από ποντίκια που βιώσαν συνθήκες μικροβαρύτητας για 30 ημέρες στον βιοδορυφόρο BION-M1 και διαπίστωσαν σημαντικές διαταραχές στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τον μεταβολισμό των σκελετικών μυών, ενώ η διατομή των μυϊκών ινών και οι υποτύποι της βαριάς αλυσίδας μυοσίνης δεν είχαν μεταβληθεί.[193] Oι Chakraborty et al. (OSD-396, https://doi.org/10.26030/ce4fxx71) εξέτασαν τη διαδικασία επούλωσης οστικών καταγμάτων (χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο τμηματικού οστικού ελλείμματος) σε ποντίκια που στεγάζονταν στον ISS για 4 εβδομάδες. Η ανάλυση με μικροϋπολογιστική τομογραφία (μCT) του οστικού κάλου μετά τη διαστημική πτήση έδειξε αυξημένη απόσταση μεταξύ των δοκίδων και μειωμένη συνδεσιμότητα, ενώ παρατηρήθηκε ενεργοποίηση ενός γονιδιακού δικτύου που σχετίζεται με την απόπτωση και τη μορφική εκφυλιστική βλάβη των κυττάρων.[194] OI Gambara et al. (OSD-111, https://doi.org/10.26030/9580-9n52) αξιολόγησαν τις μεταβολές της γονιδιακής έκφρασης στον υποκνημίδιο μυ (soleus) και τον μακρύ εκτείνων των δακτύλων μυ (extensor digitorum longus) του ποντικού μετά από 30 ημέρες στον BION-M1, εντοπίζοντας διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια που σχετίζονται με βασικές βιολογικές διεργασίες, όπως ο συσταλτική μηχανική λειτουργία, η ομοιόσταση του ασβεστίου, η ανάπτυξη των μυών, ο κυτταρικός μεταβολισμός και οι αποκρίσεις στη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες.[195] Με βάση δεδομένα από τα ίδια ποντίκια, οι Blottner et al. μελέτησαν το γονίδιο Homer, το οποίο θεωρείται ότι καταστέλλεται κατά τη διάρκεια της μυϊκής ατροφίας. Διαπίστωσαν ότι το βραχύ ισομορφικό μεταγραφικό προϊόν Homerla υπεκφράστηκε, ενώ το μακρύ ισόμορφο Homer2 υπόεκφραστηκε στον υποκνημίδιο μυ

soleus μετά από έκθεση σε προσομοίωση μικροβαρύτητας (HLS). Αυτή η ευαισθησία των ισομορφών φαίνεται να ρυθμίζεται από τη μυϊκή δραστηριότητα ή την αδράνεια στη νευρομυϊκή σύναψη.[196] Οι Däpp et al. (OSD-228, https://doi.org/10.26030/bfmx-z866) εξέτασαν τις μεταβολές του μεταγραφώματος στον ιστό του soleus σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε ανάρτηση των οπίσθιων άκρων (HLS). Εντόπισαν υπερέκφραση σε μυογενετικούς παράγοντες, συσταλτικά γονίδια και μεταβολικά γονίδια κατά την επαναφόρτωση, καθώς και ενδείξεις ότι η ρύθμιση των σαρκομερίων είναι ευαίσθητη στη μηχανική φόρτιση. Οι Flück et al. συνέστησαν ότι ειδικά στις μελέτες πλαστικότητας των ιστών, θα πρέπει να ομαλοποιούμε τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων χρησιμοποιώντας αναφορές σχετικές με τον ιστό (π.χ. βάρος, όγκος, περιεκτικότητα σε πυρήνες των μυών).[197], [198] Oι Mazzati et al. (OSD-227, <u>https://doi.org/10.26030/vk0m-0558</u>) χρησιμοποίησαν επίσης την τεχνική HLS για να ανιχνεύσουν τη διαφορική έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με το μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης στον ιστό του υποκνημιδίου (soleus) και του γαστροκνημίου (gastrocnemius). [199]Οι Allen et al. (OSD-21, <u>https://doi.org/10.25966/c36b-3g68</u>) υποστήριξαν ότι η διαστημική πτήση μεταβάλλει σημαντικά την έκφραση γονιδίων του γαστροκνημιαίου ιστού που σχετίζονται με τη μυϊκή ανάπτυξη (π.χ. phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit p85a, MAFbx/atrogin1, insulin response substrate-1, kai forkhead box O1 transcription factor).[200]

Επιπρόσθετα, η έλλειψη βαρύτητας προκαλεί μείωση του οστικού σχηματισμού από τους οστεοβλάστες και αύξηση των οστεολυτικών λειτουργιών των οστεοκλαστών. Οι Pardo et al. εξέτασαν τα προφίλ γονιδιακής έκφρασης των προοστεοβλαστικών κυττάρων 2T3 για να εντοπίσουν γονίδια ιδιαίτερα ευαίσθητα στις αλλαγές της βαρύτητας και διαπίστωσαν ότι η προσομοίωση της μικροβαρύτητας μείωσε την έκφραση της αλκαλικής φωσφατάσης, του μεταγραφικού παράγοντα Runx2, της οστεομοντουλίνης και του υποδοχέα 1 της παραθυρεοειδούς ορμόνης, ενώ αντίθετα η καθεψίνη Κ υπέρκφραστηκε.[201] Οι Patel et (OSD-30, <u>https://doi.org/10.25966/90vx-bf79</u>) συνέκριναν την έκθεση των al. προοστεοβλαστών σε δύο διαφορετικούς προσομοιωτές μεταβαλλόμενης βαρύτητας: περιστρεφόμενου τοιχώματος (RWV) και μηχανή τυχαίας τοποθέτησης (RPM). Διαπίστωσαν παρόμοια αποτελέσματα από κάθε μέθοδο, συμπεριλαμβανομένης της τροποποιημένης έκφρασης των ίδιων 14 γονιδίων σκελετικής αναδιαμόρφωσης. Συγκεκριμένα, διαπίστωσαν ότι η δραστηριότητα του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση αναστέλλεται και στις δύο μεθόδους, αποδεικνύοντας ότι και οι δύο μέθοδοι αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των προοστεοβλαστών, γεγονός που συνάδει με τη μείωση της οστικής μάζας που προκαλείται από τη μικροβαρύτητα. Η πρωτεΐνη που σχετίζεται με την παραθορμόνη (PthR1) και εμπλέκεται στην κινητοποίηση του ασβεστίου και η οστική

μορφογενετική πρωτεΐνη 4 (BMP4) που σχετίζεται με την ανάπτυξη του σκελετού (π.χ. σχηματισμός χόνδρου) υποεκφράστηκαν στις συνθήκες περιστρεφόμενων τοιχωμάτων.[202] Οι Camirand et al. (OSD-107, https://doi.org/10.26030/2x2z-6w28) μελέτησαν επίσης τον ρόλο του σχετιζόμενου με την παραθυρεοειδή ορμόνη πρωτεϊνικού συμπλόκου χρησιμοποιώντας trabecular (δοκιδώδη) και calvarial (καλυβιακά) κύτταρα. Επιβεβαίωσαν ότι η πρωτεΐνη PthR έχει αντι-αποπτωτική λειτουργία σε συνθήκες μικροβαρύτητας και ως εκ τούτου θα μπορούσε να οριστεί ως αναβολικός παράγοντας για την πρόληψη του κυτταρικού θανάτου στους δοκιδώδεις οστεοβλάστες.[203] Οι Uda et al. (OSD-324, <u>https://doi.org/10.26030/s7kj-h383</u>) μελέτησαν τις τροποποιημένες επιδράσεις της βαρύτητας στην οστεοκυτταρική κυτταρική σειρά Ocy454 για 2, 4 και 6 ημέρες στον ISS, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι ο μεταβολισμός της γλυκόζης και η κατανάλωση οξυγόνου αυξήθηκαν κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης.[204] Οι Wang et al. (OSD-547, <u>https://doi.org/10.26030/y2af-c498</u>) εξέτασαν τα προφίλ γονιδιακής έκφρασης της κυτταρικής σειράς MLO-Y4 υπό προσομοίωση μεταβαλλόμενων συνθηκών βαρύτητας μέσω πεδίου υψηλής μαγνητικής διαβάθμισης, δείχνοντας ότι το περιβάλλον αυτό επηρέασε την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με ένζυμα, πεπτίδια, υποδοχείς συνδεδεμένους με G-πρωτεΐνες υποδοχείς και τη μεταβολική διαδικασία της γλυκόζης.[205] Οι Sambandam et al. (OSD-18, <u>https://doi.org/10.25966/j6hy-d340</u>) διερεύνησαν τη διαδικασία διαφοροποίησης των οστεοκλαστών χρησιμοποιώντας ένα περιστροφικό σύστημα κυτταροκαλλιέργειας για την προσομοίωση της μικροβαρύτητας. Συγκεκριμένα, ανέδειξαν την αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ενισχυμένη διαφοροποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών, όπως κυτταροκίνες/ αυξητικοί παράγοντες, πρωτεάσες και πρωτεΐνες σηματοδότησης.[206]

Οι πρόδρομοι οστεοβλάστες, όπως τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών (BMSC), είναι ευαίσθητοι στη μηχανική φόρτιση. Οι Monticone et al. (OSD-29, https://doi.org/ 10.25966/6rr8-r017) μελέτησαν καλλιέργειες BMSC ποντικών που βρίσκονταν στον ISS για 8 ημέρες, ενώ τα μισά από αυτά διεγείρονταν με οστεοεπαγωγικό μέσο. Διαπίστωσαν ότι ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων αναστέλλεται σε συνθήκες διαστημικής πτήσης και ότι τα γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά σχετίζονται με τη ανάπτυξη του νευρικού συστήματος, τη μορφογένεση των νευρώνων, τη μετάδοση της νευρικής ώσης και τη σύναψη.[207] Oι Ortega et al. (OSD-50, https://doi.org/10.26030/69kd-nx87) διαφοροποίησαν κύτταρα μυελού των οστών ποντικού (mBMC) παρουσία αναγνωρισμένου παράγοντα διέγερσης αποικιών μακροφάγων (rM-CSF) για 14 ημέρες κατά τη διάρκεια διαστημικών πτήσεων, ανιχνεύοντας σημαντική αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και διαφορική

έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την οδό πήξης. Διαπίστωσαν ότι τα μακροφάγα που διαφοροποιούνται κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης εκφράζουν ελαφρώς διαφορετικούς δείκτες και ότι ο πληθυσμός μετά τη διαστημική πτήση μπορεί να είναι ελαφρώς πιο διαφοροποιημένος. [208] Επιπλέον, οι Chapes και Ortega (OSD-50, https://doi.org/ 10.26030/69kd-nx87) τόνισαν τη σημασία των επίγειων πειραμάτων πριν από τη διαστημική πτήση για την αξιολόγηση της διαφοροποίησης των μακροφάγων.[209] Οι αστροναύτες υποφέρουν από ξηρότητα του δέρματος, κνησμό, τραχύτητα της επιδερμίδας και μειωμένη ελαστικότητα του δέρματος. Οι Neutelings et al. (OSD-61, https://doi.org/10. 26030/2zjp-sj35) ανέφεραν μια μείωση κατά δεκαπέντε τοις εκατό του πάχους του δέρματος του δερματικού ιστού που συλλέχθηκε από ποντίκια που εκτέθηκαν σε συνθήκες διαστημικής πτήσης για 90 ημέρες. Ανέφεραν επίσης απορρυθμισμένο κύκλο τριγοθυλακίων και αυξημένη μυογένεση. [210], [211] Οι Mao et al. (OSD-116, https://doi.org/10.26030/ya5a-e896) επιβεβαίωσαν τον αυξημένο κίνδυνο για παθοφυσιολογικές βλάβες και καρκινογένεση στον δερματικό ιστό κατά τη διάρκεια μιας διαστημικής πτήσης 13 ημερών, καθώς παρατήρησαν αυξημένη ρύθμιση των κυτταρικών αντιοξειδωτικών, της παραγωγής αντιδραστικών ειδών οξυγόνου ROS και της αναδιαμόρφωσης των ιστών.[212]

Η έλλειψη βαρύτητας προκαλεί σοβαρές επιπτώσεις και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Οι Lebsack et al. (OSD-4, <u>https://doi.org/10.25966/qq9p-pc28</u>) ανέφεραν μεταβολές στην έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν το στρες, τη σηματοδοτική δραστηριότητα των Τλεμφοκυττάρων και τους υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών μετά την έκθεση ποντικών σε συνθήκες διαστημικής πτήσης για 13 ημέρες. Συγκεκριμένα, τα γονίδια *Rbm3*, *Ctla-4*, *IFN-a2a* υπερεκφράστηκαν, ενώ τα γονίδια *Hsph110*, *Hsp90aa1*, *Cxcl10*, *Strip1*, *Fkbp4m* και *CD44* εμφάνισαν μειωμένη έκφραση στον θύμο αδένα των ποντικών που εκτέθηκαν στο διάστημα.[213]

Οι Beheshti et al. χρησιμοποίησαν τη βάση δεδομένων NASA GeneLab για να αναλύσουν μεταγραφικά δεδομένα από διάφορα σύνολα δεδομένων τρωκτικών (π.χ. OSD-4, <u>https://doi.org/10.25966/qq9p-pc28</u>, OSD-21, <u>https://doi.org/10.25966/c36b-3g68</u>, OSD-25, <u>https://doi.org/10.25966/kzxa-s692</u>, OSD-48, <u>https://doi.org/10.26030/jq04-0n51</u>, OSD-61, <u>https://doi.org/10.26030/2zjp-sj35</u>, OSD-63, <u>https://doi.org/10.26030/gsmt-8e70</u>, OSD-111, <u>https://doi.org/10.26030/ 9580-9n52</u>), αποκαλύπτοντας κρίσιμα γονίδια, σηματοδοτικές οδούς και κυκλοφορούντος μικρο-RNA ως βασικούς βιοδείκτες για την υγεία των αστροναυτών. Ειδικότερα, εντόπισαν *το TP53* και τον μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα βήτα ένα (*TGF- β1*) ως τους πιο διαδεδομένους ρυθμιστές σε όλους τους ιστούς και *ο TGF-* β1 ήταν το πιο συνδεδεμένο γονίδιο σε όλους τους ιστούς, υποδεικνύοντας ότι αποτελεί βασικό ρυθμιστικό γονίδιο-οδηγό για την απόκριση στις διαστημικές πτήσεις. [214]

Παρακάτω μελετάμε τις επιδράσεις των τροποποιημένων βαρυτικών συνθηκών στον οργανισμό Homo sapiens. Πειράματα ανθρώπινου μυϊκού ιστού που εκτέθηκαν στη μικροβαρύτητα επικύρωσαν τα προαναφερθέντα ευρήματα σχετικά με την ευπάθεια του μυοσκελετικού συστήματος στη μεταβαλλόμενη βαρύτητα. Οι Chopard et al. (OSD-51, https://doi.org/10.26030/ 3w73-jn41) εξέτασαν τα προφίλ γονιδιακής έκφρασης των μυών soleus (υποκνημίδιος) και vastus lateralis (πλατύς έξω μυς) κατά τη διάρκεια μακρογρόνιων (60 ημέρες) συνθηκών κατάκλισης, καθώς και την αξιολόγηση πιθανών αντιμέτρων, όπως η συμπληρωματική χορήγηση πρωτεϊνών και η συνδυαστική άσκηση αντίστασης και αερόβιας άσκησης. Ανέφεραν επαγωγή των μεταλλοθειονινών, γονιδίων που εμπλέκονται στην αντιοξειδωτική απόκριση στο στρες, στις ομάδες δειγμάτων που δεν έλαβαν μέτρα αντιμετώπισης. Διαπίστωσαν, επίσης, περιορισμένες αντισταθμιστικές επιδράσεις του διατροφικού αντίμετρου, ενώ η αερόβια προπόνηση ανέτρεψε σημαντικά τις αρνητικές επιπτώσεις στον μυϊκό μεταβολισμό.[215] Οι Rullman et al. (OSD-198, https://doi.org/10.26030/kcrr-p336) προσέθεσαν στην εξίσωση τη μεταβλητή της υποξίας, μελετώντας την έκφραση των miRNA υπό τις ακόλουθες συνθήκες: ανάπαυση στο κρεβάτι με φυσιολογικό επίπεδο οξυγόνου, ανάπαυση στο κρεβάτι σε συνθήκες υποξίας και βάδιση σε συνθήκες υποξίας. Διαπιστώθηκαν ήπιες διαφοροποιήσεις στην έκφραση μερικών miRNAs, όπως τα let-7, miR-15, miR-25, miR-199 και miR-133, γεγονός που υποδηλώνει μικρές μόνο μεταβολές. Η μελέτη Planetary Habitat Simulation αποσκοπούσε στη διευκρίνιση των βιολογικών επιδράσεων της παρατεταμένης (21 ημερών) μυοσκελετικής αποφόρτισης σε συνδυασμό με υποξία. Οι Rullman et al. (OSD-195, https://doi.org/10.26030/r6bv-rk07) εντόπισαν την υπερέκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την απονεύρωση (π.χ, υπομονάδα δέλτα του υποδοχέα ακετυλοχολίνης και της περιγεννητικής μυοσίνης) και μια ισχυρή αναστολή της οικογένειας του μεταγραφικού παράγοντα *MEF2*.[216], [217] Οı Alibegovic al. (OSD-370, et https://doi.org/10.26030/zyy0-6497) διερεύνησαν βιοψίες μυών (ιστός vastus lateralis) που ελήφθησαν από υγιείς νεαρούς άνδρες πριν και μετά από την ανάπαυση στο κρεβάτι, τόσο σε διεγερμένες με ινσουλίνη καταστάσεις όσο και σε κανονικές συνθήκες. Επιβεβαίωσαν την υποέκφραση των μονοπατιών μιτοχονδριακής λειτουργίας και την αυξημένη αντίσταση των μυών στην ινσουλίνη που προκαλείται από τις συνθήκες ανάπαυσης στο κρεβάτι, οι οποίες αποκαταστάθηκαν μόνο εν μέρει μετά την επανέναρξη της μυϊκής εκγύμνασης.[218]

Αρκετές μελέτες έγουν ως στόγο να προσδιορίσουν πώς αντιδρούν και διαφοροποιούνται τα ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα σε μεταβαλλόμενες βαρυτικές συνθήκες. Oι Mayer-Wagner et al. (OSD-124, https://doi.org/10.26030/6fwd-2p79) εξέτασαν την επίδραση της μικροβαρύτητας και των χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στη χονδρογένεση καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι συνθήκες μικροβαρύτητας μείωσαν σημαντικά την έκφραση των γονιδίων COLXA1, COL2A1 και αγρεκάνης, γεγονός που υποδηλώνει μειωμένο χονδρογενετικό δυναμικό.[219] Οι Bradamante et al. (OSD-546, https://doi.org/10.26030/mg6a-qv31) εξέτασαν τις επιπτώσεις όσον αφορά στην ανάπτυξη και στη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων του ανθρώπινου μυελού των οστών (hBMSCs) που φιλοξενήθηκαν στον ISS για 2 εβδομάδες. Εντόπισαν αυξημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την οστεογένεση (BGLAP, CHRDL1 και SPP1) και τον μεταβολισμό των στεροειδών ορμονών και του μονοπατιού των βιταμινών Α και D (CYP19A1, CYP24A1, AKR1B1, HSD11B1). Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η κινητικότητα και η επικοινωνία κυττάρων-κυττάρων φάνηκε επίσης να επηρεάζονται, όπως αποδεικνύεται από την υποέκφραση των CSNK2A2, ITGAV, NRCAM και NRP2, ενώ το γονίδιο RAB27b που σχετίζεται με το σχηματισμό μικροκυψελίδων υπερεκφράστηκε σημαντικά. Ανέφεραν επίσης την απώλεια βλαστών, την απουσία ένδειξης απόπτωσης ή γήρανσης, την αξιοσημείωτη υπερέκφραση γονιδίων κολλαγόνου και αξιοσημείωτη υποέκφραση μεταλλοπρωτεϊνασών της μήτρας.[220]

Οι Terada et al. (OSD-174, https://doi.org/10.26030/6sg0-ng36) ανέλυσαν δεδομένα από ένα πείραμα της JAXA που διεξήχθη σε μια εξάμηνη αποστολή στον ISS, όπου συλλέχθηκαν τόσο θύλακες όσο και στελέχη τριχών από δέκα αστροναύτες. Ανέφεραν τροποποιημένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη διαταραχή του κυτταρικού κύκλου στα θυλάκια των τριχών (π.χ. COMP και CDK1) και την ανάπτυξη των τριχών Oι ANGPTL7 *FGF18*).[221] Zhang al. (OSD-118, (π.χ. και et https://doi.org/10.26030/rcyt-qp10) διερεύνησαν την έκφραση miRNA σε μη πολλαπλασιαζόμενα ανθρώπινα ινοβλαστικά κύτταρα σε συνθήκες διαστημικής πτήσης (ISS). Μικρές επιδράσεις παρατηρήθηκαν στην έκφραση γονιδίων ή miRNA τη 14η ημέρα, ενώ η πλειοψηφία των διαφοροποιημένων εκφραζόμενων γονιδίων σχετίζονταν με κυτταρική ανάπτυξη την τρίτη ημέρα.[222] Ο Lu et al. (OSD-114, την https://doi.org/10.26030/yssj-bg68) μελέτησε ανθρώπινα ινοβλαστικά κύτταρα στον ISS, με και χωρίς θεραπεία με μπλεομυκίνη (μια ένωση που προκαλεί βλάβη στο DNA), για να κατανοήσει καλύτερα τις επιδράσεις της μικροβαρύτητας στην απόκριση βλάβης του κυτταρικού DNA. Παρόλο που αρκετά γονίδια ήταν διαφοροποιημένα μεταξύ της ομάδας θεραπείας και της ομάδας ελέγχου, τόσο στη Γη όσο και στο διάστημα, δεν υπήρξε

σημαντική διαφορά μεταξύ της θεραπείας στο διάστημα και της θεραπείας στη Γη. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο τύπος των κυττάρων και οι συνθήκες ανάπτυξής τους επηρεάζουν το κατά πόσο η μικροβαρύτητα επηρεάζει την απόκριση βλάβης του DNA.[223] Η διαστημική πτήση προκαλεί σημαντικές επιπτώσεις στις λειτουργίες των λεμφοκυττάρων, οι οποίες έχουν τεκμηριωθεί καλά. Ο Ward et al. (OSD-5, <u>https://doi.org/10.25966/qq4z-4m04</u>) ανίχνευσε δέκα γονίδια (π.χ. GNLY, PSME2, PrX4, HLA-DRA, LY75, IL18 και DOCK2) με μειωμένη έκφραση, που σχετίζονται με την ανοσολογική απόκριση, σε ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα που εκτέθηκαν σε προσομοιωμένη μικροβαρύτητα (Rotating Wall Vessel) για 24 ώρες.[224] O Chang et al. (OSD-13, <u>https://doi.org/10.26030/4an8-r968</u>) μελέτησε Τ-κύτταρα στον ISS που διεγέρθηκαν με τον μιτογόνο ConA και το αντίσωμα anti-CD28. Διαπίστωσε μειωμένη ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων καθώς και σημαντική μείωση της έκφρασης των Rel/NFκB, CREB, SRF και γονιδίων άμεσης πρώιμης απόκρισης, υποδεικνύοντας τις πολύ πρώιμες επιδράσεις της μικροβαρύτητας στη γονιδιακή έκφραση των Τ-κυττάρων.[225] Ο Boonyaratanakornkit et al. (OSD-484, https://doi.org/10.26030/semj-9y19) αποκάλυψε ότι η πρωτεϊνική κινάση Α (PKA) είναι βασικός ρυθμιστικός παράγοντας όσον αφορά την ενεργοποίηση των NF-κB, AP-1, CREB και Τ-κυττάρων σε προσομοιωμένη μικροβαρύτητα. Οι Thiel et al. (OSD-189, https://doi.org/10.26030/ r0md-de60, OSD-172, https://doi.org/10.26030/jx41-b816, https://doi.org/10.26030/3jq1-s218) OSD-188, εντόπισαν τα ATP6V1A/D, IGHD3-3/ IGHDE-10 και LINC00837 ως γονίδια που επηρεάζονται σημαντικά από τη βαρύτητα, καθώς διερεύνησαν μη ενεργοποιημένα ανθρώπινα κύτταρα Jurkat T σε συνθήκες τόσο μικροβαρύτητας όσο και υπερβαρύτητας. Διαπίστωσαν επίσης ότι η χρωμοσωμική περιοχή 11p15.4 φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ανθεκτική στις μεταβολές της βαρύτητας.[226], [227] Οι Vogel et al. και Tauber et al. επικεντρώθηκαν στις επιπτώσεις της μεταβαλλόμενης βαρύτητας στην ανοσολογική σηματοδότηση, αποτυπώνεται σύνολα **OSD-283** όπως στα δεδομένων (https://doi.org/10.26030/ge2v-wr94) kat OSD-297 (https://doi.org/10.26030/bb5k-1h18). Συγκεκριμένα, οι Vogel et al. ταυτοποίησαν τον επαγώγιμο από την υποξία παράγοντα 1 (HIF1) ως πιθανό φαρμακολογικό στόχο για την αντιμετώπιση της ανοσολογικής εξασθένησης και την PDK1 ως ευαίσθητη σε Τ-κύτταρα Jurkat και μυελομονοκυτταρικά κύτταρα U937 που εκτέθηκαν σε συνθήκες μεταβαλλόμενης βαρύτητας. Οι Tauber et al. υπογράμμισαν τη μεταγραφική σταθερότητα των μονοπατιών που σχετίζονται με το στρες. Ωστόσο, όλα τα αρχικά διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια οξειδωτικό προσαρμόστηκαν γρήγορα στη συνέχεια, επαληθεύοντας την ύπαρξη μηχανισμών άμεσης προσαρμογής.[228], [229], [230] Τα μακρά μη κωδικοποιημένα RNAs (lncRNAs) και τα

miRNAs φαίνεται να ρυθμίζουν επιδράσεις, που σχετίζονται με την απόπτωση και την ανοσολογική απόκριση, σε ανθρώπινα λεμφοβλαστοειδή κύτταρα ΤΚ6 υπό συνθήκες προσομοίωσης μικροβαρύτητας και ιονίζουσας ακτινοβολίας σύμφωνα με τους Fu et al. (OSD-545, <u>https://doi.org/10.26030/7ta4-ga35</u>).[231]

Οι Chakraborty et al. (OSD-54, https://doi.org/10.26030/8mfb-wa73) μελέτησαν μια μονάδα κυτταροκαλλιέργειας για την ανάπτυξη ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων δερματικών μικροαγγείων, προκειμένου να εξετάσουν τις επιπτώσεις του περιβάλλοντος διαστημικών ενδοθηλιακά πτήσεων στα κύτταρα που τους χορηγήθηκε λιποπολυσακχαρίτης. Διαπίστωσαν ότι η μακροχρόνια έκθεση σε λιποπολυσακχαρίτη είχε ως αποτέλεσμα μια καθυστερημένη απάντηση του ξενιστή, αναποτελεσματική στην πιθανή εισβολή των παθογόνων.[232] Η έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων της ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας σε μικροβαρύτητα έδειξε σημαντική μεταβολή των μεταγράφων που σχετίζονται με την οξειδωτική φωσφορυλίωση, την απόκριση στο στρες, τον κυτταρικό κύκλο και την απόπτωση. Τα ευρήματα των Versari et al. (OSD-52, <u>https://doi.org/10. 26030/nt3p-p547</u>) έδειξαν ότι η μικροβαρύτητα επηρεάζει τη φλεγμονώδη απόκριση και τη συμπεριφορά του ενδοθηλίου, ενώ προάγει τη γήρανση των κυττάρων.[233]

Οı Girardi et al. (OSD-55. https://doi.org/10.26030/9thk-dv75, OSD-56. https://doi.org/10.26030/nc96-xp67, OSD-128, https://doi.org/10.26030/ 73sd-9a85, OSD-129, https://doi.org/10.26030/sec3-y188) εξέτασαν τα προφίλ έκφρασης mRNA και miRNA σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος (PBL) που εκτέθηκαν σε προσομοίωση μικροβαρύτητας μέσω μιας ανάλυσης συσχέτισης miRNA-mRNA, εντοπίζοντας επιδράσεις στη φλεγμονώδη απόκριση, την απόπτωση και τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.[234] Τα let-7i, miR-7, miR-7-1, miR-27a, miR-144, miR-200a, miR-598 και miR-650 βρέθηκαν να απορρυθμίζονται σε ανθρώπινα PBL που εκτέθηκαν σε ακτινοβολία και προσομοίωση μικροβαρύτητας (RWV).[235] Οι Wei et al. διερεύνησαν επίσης τις επιδράσεις της προσομοίωσης έλλειψης βαρύτητας στα ανθρώπινα PBLs. Η μικροβαρύτητα φάνηκε να αναστέλλει την αντιγραφή του DNA και υποεκφράζει το γονίδιο επιδιόρθωσης του DNA, ενισχύοντας τη δομική αστάθεια των χρωμοσωμάτων. Επιπλέον, οι Fuentes et al. διαπίστωσαν ότι η επίδραση της μικροβαρύτητας στους καρδιαγγειακούς προγονικούς παράγοντες εξαρτάται από την ηλικία, καθώς οι δείκτες διαφοροποίησης των ενδοθηλιακών και καρδιομυογενών κυττάρων εκφράζονταν σε μεγάλο βαθμό στους ενήλικες, ενώ οι νεογνικοί πρόγονοι απέκτησαν αποδιοργανωμένα κυτταρικά χαρακτηριστικά. [236] Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Bisserier et al. διερεύνησαν την επίδραση της διαστημικής πτήσης στα μικρά εξωκυτταρικά κυστίδια (sEVs) που

απομονώθηκαν από το πλάσμα αίματος τριών αστροναυτών. Παρατηρήθηκε σημαντική υποέκφραση των miR-214, miR-128, προώθηση της ενεργοποίησης του συμπλόκου PRC2 και αυξημένα επίπεδα H3K27me3 σε ανθρώπινα καρδιομυοκύτταρα κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης, οδηγώντας σε επιγενετική καταστολή της έκφρασης του υποδοχέα της βιταμίνης D.[237]

Οι επιδράσεις των μεταβαλλόμενων βαρυτικών συνθηκών στα λευχαιμικά κύτταρα λεμφοβλαστών και στα κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου μελετήθηκαν από τους Vidyasekar et al. (OSD-125, <u>https://doi.org/10.26030/6dnk-x507</u>). Ανέφεραν πολλαπλές επαγόμενες από τη μικροβαρύτητα συνέπειες που παρατηρήθηκαν και στις δύο κυτταρικές σειρές, όπως μειωμένη βιωσιμότητα των κυττάρων, τροποποιημένη κυτταρική μορφολογία και αποκλίνον κύκλος κυττάρων. Εντοπίστηκε επίσης απορρύθμιση των ογκογονιδίων και των δεικτών εξέλιξης του καρκίνου (JUNB, CD44, MYC και CD117).[238]



Εικόνα 57. Επισκόπηση των επιπτώσεων των συνθηκών μικροβαρύτητας στα φυσιολογικές συστήματα των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens συμπεριλαμβάνοντας μεταβολές στο μυοσκελετικό, ανοσοποιητικό, καρδιαγγειακό, αιθουσαίο, δερματικό και νευρικό σύστημα.⁴⁹

⁴⁹ <u>https://www.nature.com/articles/s41526-024-00392-6</u>

15.2.Η ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΚΑΙ Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ

Στο παρόν κεφάλαιο της διατριβής εξετάζουμε την επίδραση της τροποποιημένης βαρύτητας (altered gravitational conditions) σε διάφορα φυσιολογικά συστήματα, με έμφαση στο καρδιαγγειακό, ανοσοποιητικό, αιθουσαίο, νευρικό και μυοσκελετικό σύστημα. Επικεντρωνόμαστε σε πειράματα που διεξήχθησαν υπό πραγματικές ή προσομοιωμένες συνθήκες τροποποιημένης βαρύτητας, με σκοπό την κατανόηση των αλλαγών σε επίπεδο γονιδίων, κυττάρων και οργάνων. Αν και είναι δύσκολο να μελετηθούν μεταβολές από τις εξαρτώμενες από τη βαρύτητα μέσα σε μία μόνο γενιά, οι παρατηρήσιμες αλλαγές μπορούν να αναλυθούν σε βάθος χρόνου. Συνολικά, η βαρύτητα φαίνεται να έχει επηρεάσει την εξέλιξη των ειδών που ζουν σε διαφορετικά περιβάλλοντα βαρύτητας στη Γη. Το ερώτημα για το πώς η βαρύτητα επηρέασε την εξέλιξη των ειδών αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας τα τελευταία χρόνια, ιδίως μετά την αυξημένη εστίαση στη διαστημική και πλανητική αποίκηση. Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα είδη εξελίχθηκαν υπό την επίδραση της βαρύτητας είναι εξαιρετικά σημαντική για να κατανοηθεί πώς θα μπορούσε να εμφανιστεί ζωή σε άλλα πλανητικά συστήματα. Το RNA θεωρείται το πρώτο μόριο της ζωής, το οποίο πιθανώς λειτούργησε ως ενδιάμεσος πρόδρομος μεταξύ του DNA και των πρωτεϊνών. Αυτή η θεωρία υποστηρίζεται από τη σημερινή γνώση για τον καταλυτικό ρόλο του RNA, πέρα από τη μεταφορά της γενετικής πληροφορίας. Για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι η αντίδραση της φορμόζης (ή αντίδραση Butlerov) αποτελεί πιθανή προβιοτική διεργασία για τη σύνθεση σακχάρων, όπως η ριβόζη, που είναι απαραίτητη για τον σχηματισμό του RNA.[239] Ωστόσο, η αντίδραση αυτή πιθανότατα θα παρήγαγε ένα μεγάλο εύρος μορίων, με τα περισσότερα να είναι άχρηστα για την αρχέγονη βιολογική διαδικασία. Ένα άλλο ενδιαφέρον πρόβλημα στην προέλευση της ζωής ήταν η παρουσία της ακτίνης, η οποία δεν ήταν γνωστό ότι υπήρχε στα πρώιμα στάδια, αλλά φαίνεται ότι η πολυμερισμός της γλυκίνης με μικρότερα μόρια οδήγησε στη δημιουργία ακτίνης και συνεπώς του κυτταροσκελετού.[240], [241] Ένα από τα κεντρικά ερωτήματα για την προέλευση της ζωής ήταν η παρουσία N2 και CH4 στην πρώιμη ατμόσφαιρα, με τις υποθέσεις να υποστηρίζουν ότι κυριαρχούσαν το N2 και το CO₂, ενώ το CH₄ εμφανίστηκε με την ανάπτυξη μεθανογενών βακτηρίων.[240] Κατά τη διαδικασία δημιουργίας της ζωής, όλες οι παράμετροι ήταν δυνατόν να αλλάξουν, εκτός από μία φυσική ποσότητα: τη βαρύτητα. Η βαρύτητα θεωρείται ότι παρέμεινε αμετάβλητη κατά τη διάρκεια των τελευταίων τεσσάρων δισεκατομμυρίων ετών. Στη Γη, η ζωή κατάφερε να αναδυθεί και να εξελιχθεί, με τη βαρύτητα να αποτελεί τον σταθερό παράγοντα παρά τις γεωλογικές αλλαγές.[163], [242]

Θα επιχειρήσουμε μια συσχέτιση μεταξύ των εννοιών της βαρύτητας και εξέλιξης. Οι τέσσερις κύριες δυνάμεις είναι οι πυρηνικές ισχυρές δυνάμεις, οι πυρηνικές ασθενείς δυνάμεις, οι ηλεκτρομαγνητικές δυνάμεις και η βαρυτική δύναμη. Η βαρυτική δύναμη είναι σταθερή και μπορούμε να υποθέσουμε ότι επηρεάζει τη ζωή τα τελευταία τέσσερα δισεκατομμύρια χρόνια. Πρόσφατα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι η πολυπλοκότητα των οργανισμών σχετίζεται άμεσα με το απαραίτητο περιβάλλον για τη διατήρηση της ζωής, ήτοι με την ύπαρξή τους. Με άλλα λόγια, οι μικροβιόκοσμοι μπορούν να επιβιώσουν έξω από ένα διαστημόπλοιο με ελάχιστη προστασία, ενώ τα θηλαστικά χρειάζονται πολύπλοκα περιβάλλοντα συντήρησης (δηλαδή διαστημόπλοια) για τη διατήρηση της ζωής.[163]

Καθώς η ζωή πρωτοεμφανίστηκε στο νερό, η αρχική επίδραση της βαρύτητας εξουδετερώθηκε από την άνωση, αλλά οι οργανισμοί χρειάστηκαν έναν εξειδικευμένο μηγανισμό για να αντέχουν την πίεση του νερού. Καθώς τα είδη μετακινήθηκαν προς τη στεριά, η βαρυτική δύναμη τα έθεσε υπό αμφισβήτηση και έπρεπε να δημιουργήσουν νέους μηχανισμούς, δηλαδή το μυϊκό σύστημα, για την κίνηση. Ο κοινός παρονομαστής σε όλα τα είδη ήταν ότι έπρεπε να αναπτύξουν διαφορετικούς μηχανισμούς από το ένα στάδιο της εξέλιξης στο επόμενο. Η βαρύτητα φαίνεται να παίζει εξελικτικό ρόλο στα φίδια. Αυτό είναι εμφανές από τη διαφορά στη θέση και τη δομή των εσωτερικών τους οργάνων, η οποία αποδίδεται στην εξέλιξη και την προσαρμογή τους σε διαφορετικά βαρυτικά περιβάλλοντα. Ειδικότερα, τα φίδια που σέρνονται πάνω και κάτω από δέντρα αντιμετωπίζουν συνεχώς τη βαρύτητα. Από την άλλη πλευρά, τα θαλάσσια φίδια περνούν τη ζωή τους κολυμπώντας και αιωρούνται ουδέτερα, ενώ τα φίδια της ξηράς κινούνται σε οριζόντιο επίπεδο. Ο προσανατολισμός κάθε είδους φιδιού προς την κατεύθυνση της βαρυτικής δύναμης είναι διαφορετικός, ανάλογα με το περιβάλλον του. Οι Lillywhite et al. (1988) παρατήρησαν για πρώτη φορά ότι η καρδιά ενός δενδροειδούς φιδιού βρισκόταν πιο κοντά στον εγκέφαλο και υποστήριξε ότι το αίμα δεν πρέπει να μεταφέρεται μακριά από την καρδιά στον εγκέφαλο. Έτσι, πρότεινε ότι τα θαλάσσια φίδια επηρεάζονται κυρίως από τη βαρύτητα, θεωρώντας ότι λιποθυμούν με την αύξηση της βαρύτητας, ενώ τα φίδια των δέντρων είναι ανθεκτικά στη βαρύτητα.[243] Οι Perez et al. (2019) εξέτασαν τη θέση συγκεκριμένων εσωτερικών οργάνων σε 72 φίδια από 13 είδη. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την επίδραση της βαρύτητας στη μορφολογία του καρδιοπνευμονικού συστήματος και έδειξαν ο ευαίσθητος στη βαρύτητα αγγειακός πνεύμονας διαφοροποιείται περισσότερο μεταξύ όλων των οργάνων. [244] Οι Wright και Turko (2016) προσπάθησαν να προσδιορίσουν αν η πλαστικότητα των ενδημικών αμφίβιων ψαριών θα μπορούσε να υποδείξει τις στρατηγικές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εξέλιξη της εδαφικότητας στα

τετράποδα. Οι ερευνητές παρατήρησαν μια αναστρέψιμη πλαστικότητα στην κινητική λειτουργία στο μαγκρόβιο ριβούλιο *Kryptolebias marmoratus*.[245] Οι Brunt et al. (2016) υποστήριξαν ότι η χερσαία κινητική απόδοση του *Kryptolebias* marmoratus βελτιώθηκε, ακόμη και ελλείψει προπόνησης, λόγω αντιστρεπτών μεταβολών στους οξειδωτικούς σκελετικούς μύες του.[246] Τα πειράματά τους έδειξαν ότι τα ψάρια που εκτέθηκαν στον αέρα επέδειξαν βελτιωμένη κινητική απόδοση (δηλ. πηδούσαν μακρύτερα και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα) σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ψάρια που κρατούνταν στο νερό. Οι φυσικές αλλαγές, όπως η υπερτροφία και η αγγειογένεση στον οξειδωτικό μυ, αντιστράφηκαν μέσα σε δύο εβδομάδες από την επιστροφή τους στο νερό. Το ακριβές ερέθισμα για τις προαναφερθείσες μεταβολές παραμένει άγνωστο, ωστόσο είναι πιθανό να σχετίζεται εν μέρει με την αύξηση του επιπέδου βαρύτητας.[246]

Οι δομές στήριξης επηρεάζονται επίσης από τις συνθήκες βαρύτητας. Ορισμένες δομές στήριξης γίνονται λιγότερο λειτουργικές στη μικροβαρύτητα. Έτσι, η φυσιολογία των ανθρώπινων ποδιών κατά τη διάρκεια του χρόνου χωρίς βαρύτητα αποτελεί ένα πρόβλημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί για μακροχρόνιες διαστημικές πτήσεις. Από την άλλη πλευρά, τα μικρόβια προσπαθούν να αποφύγουν την έκθεσή τους στην ηλιακή ακτινοβολία, χρησιμοποιώντας τη βαρυτική δύναμη ως περιβαλλοντικό σήμα όταν μεταναστεύουν. Τα μικρόβια θα μπορούσαν να υποφέρουν περισσότερο από την ακτινοβολία σε περίπτωση απουσίας βαρύτητας, γεγονός που θα πρέπει να οδηγήσει σε εξελικτική επιλογή των ειδών που φέρουν αντογή στην ακτινοβολία.[163] Επιπρόσθετα, ο ρόλος του νερού γίνεται εμφανής στην περίπτωση των φυτών, τα οποία είναι σε θέση να αντέχουν τις βαρυτικές δυνάμεις χωρίς μηχανισμό στήριξης. Η ανάπτυξη των φυτών και η μεταφορά νερού (για παράδειγμα σε δέντρα που ξεπερνούν τα 10 μέτρα) πραγματοποιείται μέσω τριχοειδών φαινομένων, αψηφώντας βαρύτητα. Ο ίδιος μηχανισμός λαμβάνει χώρα και στο διάστημα, καθώς τα φυτά δύνανται να αναπτυχθούν και να αναπαραχθούν στο διάστημα. [163], [247] Ο ακριβής μηχανισμός ανίχνευσης της βαρύτητας είναι ακόμη άγνωστος. Είναι πιθανό ότι ακόμη και στις αργέγονες συνθήκες της ζωής στη Γη, οι πρώτοι μικροοργανισμοί σχηματίστηκαν υπό την επίδραση της βαρύτητας. Σε μία από τις πρώτες ερευνητικές εργασίες επί του θέματος παρουσιάστηκε μια πιθανή εξήγηση για τις δυνάμεις που διαμόρφωσαν τη ζωή.

16. ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΙΣΤΩΝ

Παρουσιάζουμε μια συγκριτική ανάλυση διαφορικής γονιδιακής έκφρασης των επιδράσεων της μικροβαρύτητας (σε σχέση με τις συνθήκες ελέγχου) αναφορικά με διάφορους ιστούς του μυοσκελετικού συστήματος. Για να οπτικοποιήσουμε τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν αυτές τις συνθήκες, δημιουργήσαμε διαγράμματα ηφαιστείου (volcano plots) για κάθε ιστό, τα οποία απεικονίζουν τόσο τη στατιστική σημαντικότητα όσο και το επίπεδο των διαφορετικά εκφραζόμενων γονιδίων (DEGs). Επιπρόσθετα, αξιολογήσαμε τις λειτουργίες της γονιδιακής οντολογίας (Gene Ontology) των κορυφαίων υπερεκφραζόμενων και υποεκφραζόμενων γονιδίων.

Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται τα διαγράμματα ηφαιστείου όλων των συνόλων δεδομένων μικροσυστοιχιών μυοσκελετικών ιστών του οργανισμού Mus musculus από το αποθετήριο OSDR. Αυτά τα διαγράμματα δείχνουν τη διακύμανση και την ποικιλομορφία των αποτελεσμάτων της διαφορικής γονιδιακής έκφρασης ακόμη και μεταξύ των ίδιων τύπων ιστών. Για παράδειγμα, τα volcano plots που παρουσιάζονται στην **Εικόνα 59** και στην **Εικόνα 64** προέρχονται και τα δύο από σύνολα δεδομένων γαστροκνημίου, αλλά τα διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια και η κατανομή τους είναι πολύ διαφορετικά.



OSD-21 DEGs (Calf)

Εικόνα 58. OSD-21 calf. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο

από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 59. OSD-21 gastrocnemius. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 60. OSD-125 tongue. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο

από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 61. OSD-111 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 62. OSD-135 longissimus dorsi. Τα γονίδια με log2-fold change (log_2FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.


Εικόνα 63. OSD-111 extensor digitorum longus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 64. OSD-227 gastrocnemius. Τα γονίδια με log2-fold change $(\log_2 FC)$ πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με $\log_2 FC$ κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 65. OSD-227 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο γρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log2FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε γρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται διαγράμματα ηφαιστείου για όλα τα σύνολα δεδομένων μικροσυστοιχιών ανθρώπινου μυοσκελετικού συστήματος από το αποθετήριο OSDR. Ομοίως με τα σύνολα δεδομένων του οργανισμού Mus musculus, υπάρχει διακύμανση τόσο στην κατανομή όσο και στα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια μεταξύ των συνόλων δεδομένων του ίδιου ιστού.



OSD-51 DEGs (Soleus)

Εικόνα 66. OSD-51 soleus. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω

από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 67. OSD-51 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 68. OSD-370 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change (log₂FC) πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με log₂FC κάτω από την τιμή –1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια

διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.



Εικόνα 69. OSD-195 vastus lateralis. Τα γονίδια με log2-fold change $(\log_2 FC)$ πάνω από την τιμή 1 απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, υποδηλώνοντας υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια με $\log_2 FC$ κάτω από την τιμή -1 απεικονίζονται με μπλε χρώμα, υποδηλώνοντας υποέκφραση. Η οριζόντια διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο προσαρμοσμένο όριο τιμής P (adjusted P-value) μικρότερο από την τιμή 0,05, επισημαίνοντας τα γονίδια με στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην διαφορική έκφραση τους.

Στη συνέχεια αξιολογήσαμε τις λειτουργίες της γονιδιακής οντολογίας των γονιδίων που ήταν σημαντικά διαφορικά εκφραζόμενα σε τέσσερις ή περισσότερους μυοσκελετικούς ιστούς ποντικών σε όλα τα πειράματα, ήτοι: *Fbxo32, Cdkn1a, Lcn2, Pnmt, Fkbp5* και *Cebpd* (Εικόνα 70). Αξιολογήσαμε επίσης τις λειτουργίες γονιδιακής οντολογίας των γονιδίων που ήταν σημαντικά υποεκφραζόμενα σε τέσσερις μυοσκελετικούς ιστούς ποντικών σε όλα τα πειράματα: *Col1a1* και *Dbp* (Εικόνα 71). Πραγματοποιήσαμε παρόμοια ανάλυση χρησιμοποιώντας όλα τα σύνολα δεδομένων από τους μυοσκελετικούς ιστούς στον ανθρώπινο οργανισμό (Εικόνα 72 και Εικόνα 73). Συγκεκριμένα, τα γονίδια CHRND, CHAD και RRAD παρουσιάζουν υπερέκφραση, ενώ τα γονίδια MYOZ2, COLQ, KLHL40, CA14, CASQ2, KLHL34, ACOT11, COQ10A και PPP1R1C παρουσιάζουν υποέκφραση στους ιστούς του πλατύ έζω μυ (vastus lateralis).

| GLDS-111 (edl) GLDS-232 (sc) GLDS-135 (ld) GLDS-227 (sol) GLDS-227 (g) | Fbxo32 | protein binding, ubiquitin-protein transferase activity |
|--|--------|--|
| GLDS-135 (ld) GLDS-111 (edl) GLDS-111 (sol) GLDS-227 (g) GLDS-21 (g) | Cdkn1a | cyclin binding, cyclin-dependent protein kinase activating kinase activity, cyclin-dependent protein serine, threonine kinase inhibitor activity, metal ion binding, protein binding, protein complex binding, protein kinase inhibitor activity, ubiquitin protein ligase binding |
| GLDS-111 (edl) GLDS-111 (sol) GLDS-135 (ld) GLDS-135 (t) GLDS-21 (g) | Lcn2 | iron ion binding, protease binding, protein binding, protein homodimerization activity, small molecule binding, transporter activity |
| GLDS-21 (g) GLDS-135 (ld) GLDS-111 (edl) GLDS-227 (g) | Pnmt | methyltransferase activity, phenylethanolamine N-methyltransferase activity, transferase activity |
| GLDS-135 (Id) GLDS-135 (t) GLDS-227 (sol) GLDS-227 (g) | Fkbp5 | FK506 binding, heat shock protein binding, isomerase activity, peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity, protein binding |
| GLDS-21 (g) GLDS-135 (ld) GLDS-111 (edl) GLDS-227 (g) | Cebpd | DNA binding, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific DNA binding, protein binding, protein heterodimerization activity, transcription factor activity, transcription regulatory region DNA binding, transcriptional activator activity |

Εικόνα 70. Οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) όλων των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων που παρουσιάζουν υπερέκφραση σε τέσσερις ή περισσότερους τύπους ιστών σε σύνολα δεδομένων του μυοσκελετικού συστήματος του οργανισμού Mus musculus. Τα γονίδια με σκούρα πράσινη σκίαση υπερεκφράζονται διαφορικά σε πέντε τύπους ιστών, ενώ τα γονίδια με ανοιχτή πράσινη σκίαση υπερεκφράζονται διαφορικά σε τέσσερις τύπους ιστών. sc sternal cartilage, ld longissimus dorsi, sol soleus, edl extensor digitorum longus, g gastrocnemius.

| GLDS-232 (sc) GLDS-135 (t) GLDS-111 (sol) GLDS-21 (g) | Col1a1 | extracellular matrix structural constituent, identical protein binding, metal ion binding, platelet-derived growth factor binding, protein binding |
|---|--------|---|
| GLDS-135 (Id) GLDS-135 (t) GLDS-111 (sol) GLDS-111 (edl) | Dbp | DNA binding, RNA polymerase II regulatory region sequence-specific DNA binding, sequence-specific DNA binding, transcription factor activity, transcriptional activator activity, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding |

Εικόνα 71. Οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) όλων των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων που παρουσιάζουν υποέκφραση σε τέσσερις τύπους ιστών σε σύνολα δεδομένων του μυοσκελετικού συστήματος του οργανισμού Mus musculus. sc sternal cartilage, ld longissimus dorsi, sol soleus, edl extensor digitorum longus, g gastrocnemiussc, t tongue.

| GLDS-195 GLDS-370 | CHRND | acetylcholine binding, acetylcholine receptor activity, acetylcholine-activated cation-selective channel activity, ligand-gated ion channel activity | | |
|----------------------|-------|---|--|--|
| | CHAD | protein kinase inhibitor activity | | |
| | RRAD | GTP binding, GTPase activity, calmodulin binding, protein binding | | |

Εικόνα 72. Οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) όλων των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων που παρουσιάζουν υπερέκφραση σε δύο τύπους ιστών σε σύνολα δεδομένων του μυοσκελετικού συστήματος του οργανισμού Homo sapiens. Τα γονίδια CHRND, CHAD και RRAD παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση στους ιστούς του vastus lateralis στον οργανισμό Homo sapiens.

| | MYOZ2 | actin binding, protein binding, protein phosphatase 2B binding, telethonin binding |
|----------------------|---------|--|
| | COLQ | protein binding |
| | KLHL40 | Rab GTPase binding, Rab guanyl-nucleotide exchange factor activity, protein binding |
| | CA14 | carbonate dehydratase activity, metal ion binding |
| GLDS-195 GLDS-370 | CASQ2 | calcium ion binding, calcium-dependent protein binding, protein binding, protein homodimerization activity |
| | KLHL34 | ubiquitin-protein transferase activity |
| | ACOT11 | acyl-CoA hydrolase activity, carboxylic ester hydrolase activity, lipid binding |
| | COQ10A | ubiquinone binding activity, cellular respiration and ubiquinone biosynthetic process |
| | PPP1R1C | protein phosphatase inhibitor activity, protein serine/threonine phosphatase inhibitor activity |

Εικόνα 73. Οντολογίες γονιδίων (Gene Ontology) όλων των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων που παρουσιάζουν υποέκφραση σε δύο τύπους ιστών σε σύνολα δεδομένων του μυοσκελετικού συστήματος του οργανισμού Homo sapiens. Τα γονίδια MYOZ2, COLQ, KLHL40, CA14, CASQ2, KLHL34, ACOT11, COQ10A και PPP1R1C παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση στους ιστούς του vastus lateralis στον οργανισμό Homo sapiens.

Επεκτείναμε περαιτέρω την ανάλυση ενσωματώνοντας όλα τα διαθέσιμα δεδομένα από τη βιβλιογραφία που προέρχονται από τον ίδιο ιστό και οργανισμό, χρησιμοποιώντας παρόμοιες πειραματικές συνθήκες, χωρίς να επιβάλλουμε συγκεκριμένα κριτήρια συμπερίληψης (π.χ. τιμή P, log2-fold change). Κατά συνέπεια, προχωρήσαμε στον υπολογισμό των συντελεστών συσχέτισης Pearson για όλα αυτά τα γονίδια σε πειράματα που αξιολόγησαν συγκρίσιμους παράγοντες. Αρχικά, διερευνήσαμε τη συμφωνία των επιπέδων έκφρασης των γονιδίων μεταξύ δύο πειραμάτων bedrest στο ανθρώπινο είδος (ανδρικού φύλου) που μελετούν τον ιστό του vastus lateralis (OSD-195 και OSD-370). Η πιο αξιοσημείωτη διαφορά μεταξύ αυτών των δύο συνόλων δεδομένων είναι ότι το OSD-195 μελέτησε 21 ημέρες κατάκλισης, ενώ το OSD-370 μελέτησε 9 ημέρες κατάκλισης. Ο συντελεστής συσχέτισης υπολογίστηκε για να αξιολογηθεί η σχέση γονιδίου προς γονίδιο μεταξύ των δύο συνόλων δεδομένων. Η ανάλυσή μας αποκάλυψε μια μέτρια θετική συσχέτιση με συντελεστή 0,47. Αυτό δείχνει ότι υπάρχει μια τάση για τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων να αυξάνονται μαζί στα δύο πειραματα.

Επεκτείναμε την έρευνά μας για να συμπεριλάβουμε το πείραμα OSD-51, μια μελέτη για την κατάκλιση γυναικών, η οποία μοιράστηκε 1225 κοινά μοναδικά γονίδια με τα πειράματα OSD-195 και OSD-370 από τον ευρύτερο συγχωνευμένο κατάλογο των 17.402 γονιδίων. Για το OSD-51 σε σύγκριση με το OSD-195, παρατηρήθηκε συντελεστής συσχέτισης 0,26, υποδεικνύοντας μια ασθενή θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων γονιδιακής έκφρασης των δύο πειραμάτων. Ομοίως, μεταξύ του OSD-51 και του OSD-370, βρέθηκε συντελεστής συσχέτισης 0,23, που επίσης υποδηλώνει ασθενή θετική συσχέτιση. Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο ότι η συσχέτιση μεταξύ των πειραμάτων OSD-195 και OSD-370 ήταν σημαντικά υψηλότερη, με συντελεστή 0,64, ακόμη και με τη χρήση του μειωμένου αριθμού γονιδίων, υποδεικνύοντας μέτρια θετική συσχέτιση. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτά τα δύο πειράματα παρουσιάζουν παρόμοια μοτίβα γονιδιακής έκφρασης σε σύγκριση με το OSD-51. Η αύξηση της συσχέτισης μεταξύ των OSD-195 και OSD-370 σε σύγκριση με το μεγαλύτερο συγχωνευμένο σύνολο δεδομένων (**Εικόνα 74**).



Εικόνα 74. Διάγραμμα τύπου Forest plot που απεικονίζει τους συντελεστές συσχέτισης για τέσσερις συγκρίσεις, συμπεριλαμβανομένων των OSD-195 vs OSD-370, OSD-51 vs OSD-195, OSD-51 vs OSD-370 και OSD-195 vs OSD-370, από ένα ευρύτερο συγχωνευμένο σύνολο δεδομένων (17.402 γονίδια) στον οργανισμό Homo sapiens. Ο συντελεστής συσχέτισης για κάθε σύγκριση αναπαρίσταται από μια μαύρη κουκκίδα πάνω στη γραμμή. Η διακεκομμένη κάθετη γραμμή στο κέντρο δηλώνει το σημείο μη συσχέτισης (συντελεστής συσχέτισης = 0). Το επίπεδο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των διαστημάτων εμπιστοσύνης (CIs) έχει οριστεί στο 95%, που αντιστοιχεί σε επίπεδο αξιοπιστίας (alpha) 0,05.

Στη συνέχεια εξετάσαμε τον συντελεστή συσχέτισης μεταξύ δύο συνόλων δεδομένων γαστροκνημίου (gastrocnemius) του οργανισμού Mus musculus (OSD-21 και OSD-227), εστιάζοντας σε 12.385 μοναδικά κοινά γονίδια. Η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ αυτών των δύο πειραμάτων είναι ότι το OSD-21 μελέτησε θηλυκά ποντίκια που πέταξαν σε μια 11ήμερη πτήση με διαστημικό λεωφορείο, ενώ το OSD-227 μελέτησε αρσενικά ποντίκια

που υποβλήθηκαν σε αναστολή των οπίσθιων άκρων για 24 ώρες. Ο υπολογισμένος συντελεστής συσχέτισης ήταν κοντά στο 0,2, εμπίπτοντας στο εύρος μιας ασθενούς θετικής συσχέτισης.

Υπολογίσαμε επίσης τον συντελεστή συσχέτισης μεταξύ του πέλματος OSD-227 και του υποκνημίδιου μυ (soleus) OSD-111, όπου το OSD-111 μελέτησε αρσενικά ποντίκια που πετούσαν στον βιοδορυφόρο BION-M1 για 30 ημέρες. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson που υπολογίστηκε για τα κοινά γονίδια μεταξύ των OSD-111 και OSD-227 είναι 0,02 (Εικόνα 75). Αυτός ο συντελεστής συσχέτισης υποδηλώνει ελάχιστη γραμμική σχέση μεταξύ των προτύπων έκφρασης των γονιδίων στα δύο πειράματα.



Εικόνα 75. Διάγραμμα τύπου Forest plot που απεικονίζει τους συντελεστές συσχέτισης για δύο συγκρίσεις, συμπεριλαμβανομένων των OSD-21 vs OSD-227 (gastrocnemius) και OSD-111 vs OSD-227 (soleus) στον οργανισμό Mus musculus. Ο συντελεστής συσχέτισης για κάθε σύγκριση αναπαρίσταται από μια μαύρη κουκκίδα πάνω στη γραμμή. Η διακεκομμένη κάθετη γραμμή στο κέντρο δηλώνει το σημείο μη συσχέτισης (συντελεστής συσχέτισης = 0). Το επίπεδο εμπιστοσύνης που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των διαστημάτων εμπιστοσύνης (CIs) έχει οριστεί στο 95%, που αντιστοιχεί σε επίπεδο αξιοπιστίας (alpha) 0,05.

Συνολικά, παρατηρούμε υψηλότερο συντελεστή συσχέτισης μεταξύ των συνόλων δεδομένων που μελέτησαν άτομα του ίδιου φύλου υπό παρόμοιες πειραματικές. Διάφοροι παράγοντες δύνανται να συμβάλουν στον συντελεστή συσχέτισης, όπως τη βιολογική μεταβλητότητα, τους τεχνικούς παράγοντες και την πολυπλοκότητα της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Ακόμη και με τον ίδιο ιστό και παρόμοιες πειραματικές συνθήκες, η γονιδιακή έκφραση μπορεί να παρουσιάζει σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ δειγμάτων και πειραμάτων.

17. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΡΘΟΛΟΓΩΝΓΟΝΙΔΙΩΝ, ΕΜΠΛΟΤΙΣΜΕΝΟΙ ΟΡΟΙ ΚΑΙ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ

Παρουσιάζουμε παρακάτω (Εικόνα 76 και Εικόνα 78) θερμικά διαγράμματα (Heatmaps) που απεικονίζουν τα διαφορετικά προφίλ έκφρασης των γονιδίων που εντοπίστηκαν μέσω της ανάλυσης DEG των συνόλων δεδομένων των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens, συγκρίνοντας τις συνθήκες μικροβαρύτητας με τις συνθήκες ελέγχου.

Τα γονίδια που παρουσιάζουν υπερέκφραση σε πολλαπλούς ιστούς του Mus musculus περιλαμβάνουν τα Acot1, Acot2, Cdkn1a, Cebpb, Cebpd, Ddit4, Ddit4l, Fbxo32, Fkbp5, Gadd45a, Gadd45b, Gadd45g, Hspb7, Hspb8, Klf10, Lcn2, Mt1, Mt2, Myh1, Pdlim5, Pik3r1, Pnmt, Slc10a6, Slc43a1, Tmem140, Trp53inp1 και Tsc22d3. Η ανάλυση εμπλουτισμένων όρων και μονοπατιών αποκάλυψε ότι οι Gadd45g, Gadd45a, Gadd45b, Cdkn1a και Pik3r1 συσχετίστηκαν με διάφορα KEGG μονοπάτια (pathways), συμπεριλαμβανομένου του μονοπατιού σηματοδότησης FoxO, του καρκίνου του ενδομητρίου, του μελανώματος, του (μη) μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, του γλοιώματος, του καρκίνου του παγκρέατος, της χρόνιας μυελοειδούς λευχαιμίας, του καρκίνου του παχέος εντέρου, του καρκίνου του μαστού, του γαστρικού καρκίνου, του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, της κυτταρικής γήρανσης και της λοίμωξης από τον ιό Epstein-Barr. Επιπρόσθετα, οι βιολογικές διεργασίες που εμπλουτίστηκαν περιλάμβαναν τη θετική ρύθμιση του p38MAPK και JNK, την αρνητική ρύθμιση της δραστηριότητας πρωτεϊνικής κινάσης και τη θετική ρύθμιση της αποπτωτικής διεργασίας που αφορούσε τα γονίδια Gadd45g, Gadd45a, Gadd45b, Lcn2 και Trp53inp1.

Τα γονίδια με καθοδική ρύθμιση που παρατηρήθηκαν σε πολλούς ιστούς του Mus musculus, συμπεριλαμβανομένων των Bdh1, Col1a1, Ppara, Col1a2, Spsb4, Aplnr, Col6a1, Col3a1, Homer2, Abhd18, Nfib, Col6a2, Dclk1, Ccnd1, Myh10, Nrep, Pdlim1, Tuba1a, Tubb2a, Zfp185 και Zfp770, συσχετίστηκαν με διάφορους εμπλουτισμένους όρους και μονοπάτια. Αυτά τα μονοπάτια περιλαμβάνουν την πέψη και απορρόφηση πρωτεϊνών (με τη συμμετοχή των Col1a1, Col1a2, Col6a1 και Col6a2), την εστιακή προσκόλληση (με τη συμμετοχή των Col1a1, Col1a2, Col6a1, Col6a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col3a1, Ccnd1), μονοπάτια στις διαβητικές επιπλοκές και τη διαβητική μυοκαρδιοπάθεια (με συμμετοχή των Col1a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col1a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col1a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col6a1, Col1a2, Col1a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col3a1, Col1a2, Col3a1, Co



Εικόνα 76. Χάρτης θερμότητας των σημαντικά απορρυθμισμένων γονιδίων στο Mus musculus. Τα γονίδια που είναι σκιασμένα με σκούρο πράσινο χρώμα, υποδεικνύουν υψηλή ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1,5, ενώ τα γονίδια που είναι σκιασμένα με ανοιχτό πράσινο χρώμα υποδεικνύουν ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1. Γονίδια με τιμή logFC μεταξύ -1 και 1

θεωρούνται μη σημαντικά απορρυθμισμένα. Αντίθετα, τα γονίδια που σκιάζονται με σκούρο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν γονίδια με έντονη καθοδική ρύθμιση με τιμή logFC κάτω από - 1,5. Οι αναλύσεις και τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο Heatmap, πραγματοποιήθηκαν λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα 50 κορυφαία γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά ανά μελέτη ή σύνολο δεδομένων.

Οι εμπλουτισμένες βιολογικές διεργασίες (βλ. Εικόνα 77) περιλαμβάνουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων (με τη συμμετοχή των Collal, Colla2, Col3al και Aplnr) και τη μετανάστευση των νευρώνων (με τη συμμετοχή των Col3al, Dclk1, Myh10, Tubala και Tubb2a). Εμπλουτίστηκαν επίσης μοριακές λειτουργίες όπως δομικό συστατικό της εξωκυττάριας μήτρας που προσδίδει αντοχή στον εφελκυσμό, δέσμευση αυξητικού παράγοντα προερχόμενου από αιμοπετάλια, δέσμευση νουκλεοτιδίων (με τη συμμετοχή των Dclk1, Myh10, Tubala, Tubb2a) και δέσμευση ιόντων μετάλλων (με τη συμμετοχή των Pdlim1, Colla1, Colla2, Col3a1, Ppara, Tubala, Tubb2a, Zfp185 και Zfp770).



mmu04068: FoxO signaling pathway mmu05213: Endometrial cancer mmu05218: Melanoma mmu05223: Non-small cell lung cancer mmu05214: Glioma mmu05212: Pancreatic cancer mmu05220: Chronic myeloid leukemia mmu05210: Colorectal cancer mmu05222: Small cell lung cancer mmu05224: Breast cancer mmu05226: Gastric cancer mmu05225: Hepatocellular carcinoma mmu04218: Cellular senescence mmu05169: Epstein-Barr virus infection mmu05200: Pathways in cancer mmu05202: Transcriptional misregulation in cancer mmu05216: Thyroid cancer GO:0043065: Positive regulation of apoptotic process GO:1900745: Positive regulation of p38MAPK cascade GO:0006469: Negative regulation of protein kinase activity GO:0046330: Positive regulation of JNK cascade



Εικόνα 77. Εμπλουτισμένοι όροι και μονοπάτια διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων στον οργανισμό Mus musclulus. Ο πίνακας α παρουσιάζει τους εμπλουτισμένους όρους των υπερεκφραζόμενων γονιδίων, ενώ οι πίνακες b και c παρουσιάζουν τους εμπλουτισμένους όρους των υποεκφραζόμενων γονιδίων. Οι αντίστοιχοι εμπλουτισμένοι όροι της γονιδιακής οντολογίας και τα μονοπάτια KEGG απεικονίζονται στη δεξιά πλευρά κάθε πίνακα, ενώ τα σχετικά γονίδια εμφανίζονται στο κάτω μέρος. Το σκούρο πράσινο χρώμα υποδεικνύει τις συσχετίσεις μεταξύ γονιδίων και εμπλουτισμένων όρων ή μονοπατιών.

Παράλληλα, δεκαεννέα γονίδια παρουσίασαν δυναμική συμπεριφορά, εμφανίζοντας ανοδική ρύθμιση σε ορισμένους ιστούς, ενώ ήταν καθοδικά ρυθμισμένα σε άλλους, με αποτέλεσμα να μην έχουν συνεπή πρότυπα έκφρασης. Μεταξύ αυτών των γονιδίων, τα *Mafb, Tef, Atf3* και *Ankrd1* εντοπίστηκαν να σχετίζονται με θετική ρύθμιση της μεταγραφής από τον υποκινητή της RNA πολυμεράσης ΙΙ, την ταυτόσημη δέσμευση πρωτεϊνών και τους εμπλουτισμένους όρους δέσμευσης DNA.

Εν συνεχεία, θα παραθέσουμε τους εμπλουτισμένους όρους και μονοπάτια των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων στον οργανισμό του Homo sapiens (βλ. Εικόνα 79). Η ανάλυση DEG στον άνθρωπο αποκάλυψε κοινό μοτίβο διαφορικής έκφρασης των γονιδίων CALM1,

CALM2, CXCL14, MATN2 και EEF1A1 σε όλους τους ιστούς OSD-51 soleus και vastus lateralis. Τα προαναφερθέντα γονίδια συσχετίστηκαν με την ενίσχυση της μοριακής λειτουργίας της δέσμευσης πρωτεϊνικής κινάσης. Στη συνέχεια, οι εμπλουτισμένοι όροι που σχετίζονται με κυτταρικά συστατικά περιλάμβαναν το κυτταρόλυμα, το κυτταρόπλασμα, τον πυρήνα και την εξωκυτταρική περιοχή. Στους ιστούς OSD-195 και OSD-370 vastus lateralis παρατηρήθηκε η ρύθμιση των CHAD, TSPYL2, CHRND και RRAD, ενώ οι NME9, CCDC39 και KCNJ16 παρουσίασαν σημαντική ρύθμιση ειδικά στον OSD-370. OI CALM1, CALM2, EEF1A1, RRAD, CHRND και KCNJ16 εντοπίστηκαν στον εμπλουτισμένο όρο της πλασματικής μεμβράνης. Οι CALM1, CALM2 και KCNJ16 συσχετίστηκαν επίσης με την έκκριση γαστρικού οξέος και το σύμπλεγμα διαύλων καλίου με πύλη τάσης. Επιπρόσθετα, τα γονίδια CALM1 και CALM2 εμπλέκονται σε διάφορα μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένης της μελανογένεσης, της κυτταρικής γήρανσης και του συνδρόμου μακρού QT (long QT syndrome), σύμφωνα με τις λέξεις-κλειδιά DAVID UniprotKB. Τα γονίδια CXCL14 και MATN2 συνδέθηκαν με τη γήρανση των νεφρών, ενώ τα CALM1, CALM2 και MATN2 συσχετίστηκαν με τον διαβήτη τύπου 2 και το οίδημα σύμφωνα με τη βάση δεδομένων γενετικών συσχετίσεων (GAD).

Τέλος, η διαφορική έκφραση των γονιδίων CALM1, CALM2 και CASQ2 συσχετίστηκε με την κοιλιακή ταχυκαρδία, σύμφωνα με την DisGeNET. Από την άλλη πλευρά, παρατηρήθηκε σημαντική καθοδική ρύθμιση σε είκοσι ένα γονίδια, συγκεκριμένα στα ABP3, COLO, MYOZ2, CASO2, ACOT11, CNNM4, PPP1R1C, MYL12A, EFR3B, PLIN5, TMEM108, DNAJA4, TP53INP2, NMRK2, HMGCS2, SLC26A9, KCNC1, KLHL34, KLHL40, COQ10A και CA14. Αυτή η υποέκφραση συνοδεύτηκε από εμπλουτισμό σε όρους κυτταρικών συστατικών όπως ο δίσκος Ζ, το κυτταροδιάλυμα και το κυτταρόπλασμα. Οι βιολογικές διεργασίες που εμπλουτίστηκαν στην ανάλυση περιλάμβαναν την απόκριση στη θερμοκρασία, το αβιοτικό ερέθισμα και την απόκριση στο στρες, ενώ ο εμπλουτισμός μοριακών λειτουργιών αποκάλυψε μια υπεροχή της σύνδεσης πρωτεϊνών, με δεκαπέντε από τα είκοσι ένα γονίδια που υπορυθμίστηκαν να σχετίζονται με αυτή τη λειτουργία. Τα HMGCS2, FABP3 και PLIN5 εμπλέκονται στο εμπλουτισμένο μονοπάτι σηματοδότησης PPAR. Τα DNAJA4, EFR3B, COLQ και PPP1R1C συσχετίστηκαν με το σωματικό ύψος σύμφωνα με το GAD, ενώ τα CASQ2 και MYOZ2 συσχετίστηκαν με την υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια σύμφωνα με το DisGeNET.[248], [249]



Εικόνα 78. Χάρτης θερμότητας των σημαντικά δυσρυθμισμένων γονιδίων στον Homo sapiens. Τα γονίδια που είναι σκιασμένα με σκούρο πράσινο χρώμα, υποδεικνύουν υψηλή ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1,5, ενώ τα γονίδια που είναι σκιασμένα με ανοιχτό πράσινο χρώμα

υποδεικνύουν ανοδική ρύθμιση με τιμή logFC πάνω από 1. Γονίδια με τιμή logFC μεταξύ -1 και 1 θεωρούνται μη σημαντικά δυσρυθμισμένα. Αντίθετα, τα γονίδια που σκιάζονται με σκούρο κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν γονίδια με έντονη καθοδική ρύθμιση με τιμή logFC κάτω από - 1,5. Οι αναλύσεις και τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο Heatmap, πραγματοποιήθηκαν λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα 50 κορυφαία γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά ανά μελέτη ή σύνολο δεδομένων.



Εικόνα 79. Εμπλουτισμένοι όροι και μονοπάτια διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων στον οργανισμό Homo sapiens. Στον πίνακα α παρουσιάζονται οι εμπλουτισμένοι όροι των υπερεκφραζόμενων γονιδίων, ενώ στον πίνακα b οι εμπλουτισμένοι όροι των υποεκφραζόμενων γονιδίων, ενώ στον πίνακα b οι εμπλουτισμένοι όροι των υποεκφραζόμουν γονιδίων. Οι αντίστοιχοι εμπλουτισμένοι όροι της γονιδιακής οντολογίας και τα μονοπάτια KEGG απεικονίζονται στη δεξιά πλευρά κάθε πάνελ, ενώ τα σχετικά γονίδια εμφανίζονται στο κάτω μέρος. Το σκούρο πράσινο χρώμα υποδεικνύει τις συσχετίσεις μεταξύ γονιδίων και εμπλουτισμένων όρων ή μονοπατιών.

Εν συνεχεία, παρουσιάζουμε μια συγκριτική μετα-ανάλυση ορθόλογων γονιδίων μεταξύ των οργανισμών Homo sapiens και Mus musculus, με στόχο τον εντοπισμό κοινών δυσρυθμίσεων μεταξύ των ειδών και δυνητικά διατηρημένων βιολογικών μονοπατιών (βλ. Εικόνα 80). Συνολικά οκτώ ορθόλογα γονίδια βρέθηκαν να είναι ρυθμιζόμενα, συγκεκριμένα τα ARRDC4, ART3, CHRNA1, DDIT4, RPL12, TXNIP, WNT4 και ZFP36. Μεταξύ αυτών, το κυτταρόπλασμα ταυτοποιήθηκε ως το κυτταρικό συστατικό που σχετίζεται με έξι από τα οκτώ ορθόλογα γονίδια που ρυθμίζονται προς τα πάνω (DDIT4, WNT4, ZFP36, ARRDC4, RPL12 και TXNIP). Επιπλέον, τα DDIT4, ZFP36, ARRDC4, RPL12 και TXNIP). Επιπλέον, τα DDIT4, ZFP36, ARRDC4, RPL12 και TXNIP). Επιπλέον, τα DDIT4 και ZFP36 σχετίζονται με τη μοριακή λειτουργία της δέσμευσης πρωτεϊνών 14-3-3. Οι DDIT4 και WNT4 εμπλέκονται στη σηματοδοτική οδό mTOR και στη βιολογική διαδικασία διαφοροποίησης των νευρώνων. Επιπλέον, οι DDIT4 και TXNIP συνδέθηκαν με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα σύμφωνα με το DisGeNET.

Αντίθετα, συνολικά δεκαεννέα ορθόλογα γονίδια βρέθηκαν να ρυθμίζονται προς τα κάτω, συγκεκριμένα τα ACSS1, BDH1, CASQ2, CNNM4, CSRP3, DNAJA4, EFR3B, FABP3,

KCNC1, MLXIPL, MTFP1, MYL12A, NMRK2, P4HA2, PAQR9, SLC16A1, TBRG4, TGFBI και VGLL2.



Εικόνα 80. Αναγνώριση των κοινώς διαφορικά εκφραζόμενων ορθόλογων γονιδίων μεταξύ συνόλων δεδομένων ποντικού και ανθρώπου. Τα γονίδια που παρουσιάζουν κοινή αυξημένη έκφραση σε πολλούς ιστούς επισημαίνονται με πράσινο στη λίστα αριστερά, ενώ τα κοινώς μειωμένα γονίδια σημειώνονται με κόκκινο. Στη δεξιά πλευρά, εμφανίζονται οι εμπλουτισμένοι όροι και οι οδοί/μονοπάτια (pathways) που σχετίζονται με αυτά τα απορρυθμισμένα γονίδια. Οι συντομογραφίες που χρησιμοποιούνται είναι εξής: CC (cellular component) για το κυτταρικό συστατικό, MF (molecular function) για τη μοριακή λειτουργία, BP (biological process) για τη βιολογική διεργασία και ΚΕGG για εμπλουτισμένα μονοπάτια σύμφωνα με το Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.

Τα γονίδια που υποεκφράζονται, όπως τα BDH1, CNNM4, NMRK2, P4HA2, SLC16A1, συσχετίστηκαν με τον όρο εμπλουτισμένο κυτταρικό συστατικό του ενδοκυτταρικού οργανιδίου που περιορίζεται στη μεμβράνη. Οι BDH1, ACSS1 και TBRG4 συσχετίστηκαν με τη μιτοχονδριακή μήτρα, ενώ οι CASQ2, CSRP3 και MYL12A συσχετίστηκαν με τον δίσκο Ζ. Οι MLXIPL, CSRP3 και SLC16A1 συσχετίστηκαν με εμπλουτισμένο όρο της ομοιόστασης της γλυκόζης, ενώ οι CSRP3 και NMRK2 συσχετίστηκαν με αρνητική ρύθμιση της διαφοροποίησης των μυοβλαστών. Στη συνέχεια, οι CASQ2 και CSRP3 συσχετίστηκαν με εμπλουτισμένο όρο της συσχετίστηκαν με εμπλουτισμένο όρο της συστολής του καρδιακού μυός, ενώ οι VGLL2 και CSRP3 συσχετίστηκαν με την ανάπτυξη του σκελετικού μυϊκού ιστού. Σύμφωνα με τη βάση δεδομένων GAD, αρκετά γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των ART3, EFR3B,

CHRNA1, CSRP3, FABP3, KCNC1, SLC16A1, TXNIP και TGFBI συσχετίστηκαν με τον διαβήτη τύπου 2, ενώ τα BDH1, ACSS1, SLC16A1 και TBRG4 συσχετίστηκαν με την εξέλιξη του συνδρόμου επίκτητης ανοσοανεπάρκειας. Τέλος, οι TXNIP και TGFBI συσχετίστηκαν με την οζώδη σπειραματοσκλήρυνση και τη διαβητική νεφροπάθεια σύμφωνα με το DisGeNET.

18. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΜΑΘΗΣΗΣ

Μετά την αναγνώριση των απορρυθμισμένων γονιδίων, δημιουργήθηκαν δύο συγχωνευμένα σύνολα δεδομένων συμβατά για χρήση αλγορίθμων Τεχνητής Νοημοσύνης (AI-ready merged dataset), ένα για κάθε είδος (Mus musculus και Homo sapiens), ενσωματώνοντας βασικά χαρακτηριστικά (features) όπως την προσαρμοσμένη τιμή p (adjusted p-value) του Benjamini-Hochberg και τον δυαδικό λογάριθμο της τιμής Fold Change για τη διαφορική γονιδιακή έκφραση μεταξύ συνθηκών μικροβαρύτητας και ελέγχου, το επίσημο σύμβολο γονιδίου, το Gene Ontology ID, τη μέθοδο βαρύτητας (δηλαδή πραγματική ή προσομοιωμένη βαρύτητα), την ακριβή μεθοδολογία βαρύτητας (π.χ. διαστημική πτήση, bedrest, ανάρτηση οπίσθιων άκρων HS κ.λπ.), τον συγκεκριμένο τύπο μυοσκελετικού ιστού (π.χ. longissimus dorsi, extensor digitorum longus, soleus, vastus lateralis, gastrocnemius κ.λπ.), τον αριθμό χρωμοσώματος (Chromosome annotation) και τις ώρες έκθεσης σε μικροβαρύτητα (exposure time in microgravity).

| | Gene_symbol | Chromosome_annotation | GO_Function_ID | Gravitational_method | Gravitational_exact_method | Exposure_time(h) |
|----|-------------|-----------------------|--|----------------------|----------------------------|-----------------------------|
| ~~ | Bdh1 | Chromosome 16 | O:0003858///GO:0003824///GO:0016491///GO:0005543 | Simulated | Hindlimb Suspension | 288 |
| | Bdh1 | Chromosome 16 | O:0003858///GO:0003824///GO:0016491///GO:0005543 | Actual | Spaceflight | 283 |
| | Bdh1 | Chromosome 16 G | O:0003858///GO:0003824///GO:0016491///GO:0005543 | Simulated | Hindlimb Suspension | 288 |
| | Bdh1 | Chromosome 16 | O:0003858///GO:0003824///GO:0016491///GO:0005543 | Actual | Spaceflight | 283 |
| | Bdh1 | Chromosome 16 G | O:0003858///GO:0003824///GO:0016491///GO:0005543 | Actual | Spaceflight | 720 |
| | | | | | | |
| | Zmynd8 | Chromosome 2 | GO:0000977///GO:0003682///GO:0042393///GO:0047 | Actual | Spaceflight | 720 |
| | Zwint | Chromosome 10 | GO:0047485///GO:0005515 | Actual | Spaceflight | 720 |
| | Zwint | Chromosome 10 | GO:0047485///GO:0005515 | Actual | Spaceflight | 720 |
| | Zwint | Chromosome 10 | GO:0047485///GO:0005515 | Actual | Spaceflight | 720 |
| | Zwint | Chromosome 10 | GO:0047485///GO:0005515 | Actual | Spaceflight | 720 |
| R | Gene_symbol | Chromosome_annotation | GO_Function | _ID Gravitational_m | ethod Gravitational_exact_ | method Tissue |
| | ACOT11 | Chromosome 1 | GO:0047617///GO:0052689///GO:0008 | 289 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | ACOT11 | Chromosome 1 | GO:0047617///GO:0052689///GO:0008 | 289 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | ACOT11 | Chromosome 1 | GO:0047617///GO:0052689///GO:0008 | 289 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | ACSS1 | Chromosome 20 | GO:0016208///GO:0005524///GO:0003987///GO:00 | 03 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | ACSS1 | Chromosome 20 | GO:0016208///GO:0005524///GO:0003987///GO:00 | 03 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | | | | | | |
| | VIM | Chromosome 10 | GO:0003725///GO:0001948///GO:0042802///GO:19 | 90 Sim | ulated B | ed Rest Soleus |
| | WNT4 | Chromosome 1 | GO:0005109///GO:0048018///GO:0003 | 714 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | WNT4 | Chromosome 1 | GO:0005109///GO:0048018///GO:0003 | 714 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | XPO4 | Chromosome 13 | GO:0008536///GO:0005049///GO:0005 | 515 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |
| | ZFP36 | Chromosome 14 | GO:0071889///GO:0003677///GO:0035925///GO:00 | 03 Sim | ulated B | ed Rest Vastus Lateralis |

Εικόνα 81. Στιγμιότυπο οθόνης των συγχωνευμένων συνόλων δεδομένων του Mus musculus (πάνω) και του Homo sapiens (κάτω), που απεικονίζει διάφορα από τα ενσωματωμένα χαρακτηριστικά. Το στιγμιότυπο ελήφθη από την πλατφόρμα Jupyter Notebook πριν από το βήμα της κωδικοποίησης, παρουσιάζοντας ορισμένα από τα ενσωματωμένα χαρακτηριστικά.



Εικόνα 82. Οι κατανομές των ιστών (πάνω) και των χρωμοσωμάτων (κάτω) για τον Mus musculus (αριστερά) και τον Homo sapiens (δεξιά). Και οι δύο γραφικές απεικονίσεις δημιουργήθηκαν μέσω της πλατφόρμας Jupyter Notebook, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με την κατανομή των μυοσκελετικών ιστών και τον χρωμοσωμικό σχολιασμό στα σύνολα δεδομένων OSD.

Μετά την προετοιμασία των δεδομένων, χρησιμοποιήθηκαν διάφορα μοντέλα επιβλεπόμενης μηχανικής μάθησης (Supervised Learning) ανάπτυξη για την αποτελεσματικών ταξινομητών (Classifiers) για τα επίπεδα έκφρασης γονιδίων. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν ταξινομητές όπως η Λογιστική Παλινδρόμηση (Logistic Regression), το Δέντρο Απόφασης (Decision Tree), η Μηγανή Υποστήριξης Διανυσμάτων (Support Vector Machine, SVM), το Τυχαίο Δάσος (Random Forest), το Naïve Bayes και το Νευρωνικό Δίκτυο (Neural Network) για την ταξινόμηση των ομάδων γονιδίων που είναι υπερεκφρασμένα και υποεκφρασμένα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ταξινόμηση πολλαπλών κατηγοριών χρησιμοποιώντας την προσέγγιση των Κ-Πλησιέστερων Γειτόνων (K-Nearest Neighbors, KNN) για να προβλεφθεί εάν ένα γονίδιο είναι υπερεκφρασμένο, υποεκφρασμένο ή μη σημαντικά διαφορικά εκφρασμένο. Τέλος, αξιοποιήσαμε τη μεθοδολογία Μεταφοράς Mάθησης (Transfer Learning) για να εξεταστεί η αποτελεσματικότητα της μεταφοράς γνώσης από τον οργανισμό Mus musculus στον Homo sapiens. Για να επιτευχθεί αυτό, το μοντέλο προεκπαιδεύτηκε στο σύνολο δεδομένων του οργανισμού Mus musculus και στη συνέχεια βελτιώθηκε (fine-tuning) στο στόχο του συνόλου δεδομένων του ανθρώπινου οργανισμού. Η απόδοση αυτών των ταξινομητών αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε βάσει των μετρικών ακρίβειας, ανάκλησης και ευκρίνειας. Παρέχονται οι σχετικές αναφορές ταξινόμησης και πίνακες σύγχυσης (βλ. Εικόνα 83, Εικόνα 84, Εικόνα 86 και Εικόνα 87). Συνοπτικά, όσον αφορά τον οργανισμό Mus musculus, οι ταξινομητές του Τυχαίου Δάσους (Random Forest) και το Νευρωνικό Δίκτυο (Neural Network) εμφανίζουν καλή απόδοση, επιτυγχάνοντας ποσοστά ακρίβειας 77% και 79%, αντίστοιχα. Οι ταξινομητές Μηχανής Υποστήριξης Διανυσμάτων (SVM) και Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic Regression) δείχνουν επίσης ικανοποιητική απόδοση, με ποσοστά ακρίβειας 76,1% και 76,9%, αντίστοιχα. Εν τω μεταξύ, οι ταξινομητές Δέντρου Απόφασης (Decision Tree) και Γκαουσιανής Ναϊνε Bayes εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά ακρίβειας, περί το 73%. Η συνολική ακρίβεια του μοντέλου KNN πολλαπλών κατηγοριών είναι 74%. Φαίνεται ότι ο ταξινομητής αποδίδει καλύτερα για την κατηγορία 1 (μη σημαντικά απορρυθμισμένη κατηγορία), επιτυγχάνοντας ένα F1-score 78%. Ο ταξινομητής KNN επιδεικνύει επίσης καλύτερη απόδοση για την κατηγορία 0 (υποεκφρασμένα γονίδια) με 76%, σε σύγκριση με την κατηγορία 2 (υπερεκφρασμένα γονίδια) με 69% (βλ. Εικόνα 83).

| | | | | | | Differential Expression |
|--|---------------------------|----------|-----------|--------|----------|-------------------------|
| | ML model | F1-score | Precision | Recall | Accuracy | [Class] |
| | Desision Trees | 0.71 | 0.70 | 0.72 | 0.72 | Under (expressed) |
| | Decision free | 0.74 | 0.76 | 0.73 | 0.75 | Over (expressed) |
| | C) (0.4 | 0.74 | 0.73 | 0.76 | 0.76 | Under |
| | 30101 | 0.78 | 0.79 | 0.76 | 0.76 | Over |
| | Pandom Forost | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.77 | Under |
| | Random Forest | 0.79 | 0.79 | 0.79 | 0.77 | Over |
| | Naïve Bayes (Gaussian) | 0.75 | 0.67 | 0.85 | 0.72 | Under |
| | | 0.72 | 0.83 | 0.64 | 0.75 | Over |
| | Logistic | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.77 | Under |
| | Regression | 0.79 | 0.79 | 0.79 | 0.77 | Over |
| | NN | 0.77 | 0.82 | 0.77 | 0.70 | Under |
| | | 0.80 | 0.76 | 0.80 | 0.79 | Over |
| | | 0.73 | 0.70 | 0.76 | | Under |
| | Multiclass KNN | 0.83 | 0.89 | 0.78 | 0.74 | No dysregulation |
| | | 0.67 | 0.65 | 0.69 | | Over |

Εικόνα 83. Αναφορά ταξινόμησης (Classification report) των ταξινομητών του Mus musculus. Η απόδοση αυτών των ταξινομητών αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε με βάση τις μετρικές F1-score, Precision και Recall.



Εικόνα 84a. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 84b. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 84c. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 84d. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 84e. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 84f. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Mus musculus. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.

Η κατάταξη της σημασίας του εκάστοτε χαρακτηριστικού (Feature Importance Ranking) δύναται να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν προβλέψεις ενός ταξινομητή, συνεισφέροντας τις στην επιλογή χαρακτηριστικών και την ερμηνεία τους. Στην παρούσα έρευνα, παρουσιάζουμε τα γραφήματα σημαντικότητας χαρακτηριστικών για τα μοντέλα του Τυχαίου Δάσους (Random Forest) και του Δέντρου Απόφασης (Decision Tree) που εφαρμόστηκαν στο σύνολο δεδομένων του Mus musculus (βλ. Εικόνα 85). Παρατηρούμε ότι και οι δύο ταξινομητές μοιράζονται ορισμένα σημαντικά χαρακτηριστικά, όπως ο χρόνος έκθεσης στη μικροβαρύτητα, ο soleus ως συγκεκριμένος τύπος μυοσκελετικού ιστού και ένα μέρος των όρων Gene Ontology. Μεταξύ αυτών, ο GO:0008201 αναφέρεται στη βιολογική διαδικασία της αντίδρασης στα επίπεδα οξυγόνου, ο GO:0044822 αναφέρεται στη μοριακή λειτουργία του πεδίου της πρωτεΐνης ειδικής σύνδεσης, ο GO:0004842 αντιπροσωπεύει τη μοριακή λειτουργία της δραστηριότητας της ουβικουιτίνης-πρωτεΐνης μεταφεράσης (ubiquitin-protein transferase activity) και ο GO:0005515 υποδεικνύει τη μοριακή λειτουργία της σύνδεσης πρωτεϊνών.



Εικόνα 85. Γράφημα Σημαντικότητας Χαρακτηριστικών (Feature Importance Plot). Κατάταξη των βαθμών σημαντικότητας των χαρακτηριστικών σε φθίνουσα σειρά α) στο μοντέλο Τυχαίου Δάσους (Random Forest), β) στο μοντέλο Δέντρου Απόφασης (Decision Tree).

Όσον αφορά στον οργανισμό Homo sapiens, ο ταξινομητής SVM επιδεικνύει ικανοποιητική απόδοση, επιτυγχάνοντας ποσοστό ακρίβειας 72%. Οι ταξινομητές Τυχαίου Δάσους (Random Forest), Bernoulli Naïve Bayes και Λογιστικής Παλινδρόμησης (Logistic Regression) εμφανίζουν ποσοστά ακρίβειας 66%, 69% και 66%, αντίστοιχα. Αντίθετα, οι ταξινομητές Δέντρου Απόφασης (Decision Tree) και Νευρωνικού Δικτύου (Neural Network) παρουσιάζουν συγκριτικά χαμηλότερα ποσοστά ακρίβειας, στα 59% και 62%, αντίστοιχα. Η συνολική ακρίβεια του μοντέλου KNN πολλαπλών κατηγοριών είναι 69%. Ο ταξινομητής εμφανίζει F1-score 69% στην πρόβλεψη της κατηγορίας 0 (υποεκφρασμένα γονίδια), ενώ παρουσιάζει καλύτερη απόδοση για την κατηγορία 1 (μη σημαντικά απορρυθμισμένη κατηγορία) με 67%, σε σύγκριση με την κατηγορία 2 (υπερεκφρασμένα γονίδια) με 53% (βλ. Εικόνα 86 και Εικόνα 87).

| | | | | | | Differential Expression |
|--|----------------------------|----------|-----------|--------|----------|-------------------------|
| | ML model | F1-score | Precision | Recall | Accuracy | [Class] |
| | Desision Trees | 0.61 | 0.62 | 0.61 | 0.50 | Under (expressed) |
| | Decision nee | 0.58 | 0.56 | 0.58 | 0.59 | Over (expressed) |
| | 0.04 | 0.73 | 0.75 | 0.71 | 0.72 | Under |
| | 30101 | 0.71 | 0.69 | 0.73 | 0.72 | Over |
| | Pandom Forost | 0.69 | 0.67 | 0.71 | 0.66 | Under |
| | Nanuom Porest | 0.62 | 0.64 | 0.60 | 0.00 | Over |
| | Naïve Bayes (Bernoulli) | 0.75 | 0.65 | 0.88 | 0.60 | Under |
| | | 0.58 | 0.78 | 0.47 | 0.09 | Over |
| | Logistic Regression | 0.70 | 0.65 | 0.76 | 0.66 | Under |
| | | 0.59 | 0.67 | 0.53 | 0.00 | Over |
| | NINI | 0.67 | 0.63 | 0.71 | 0.62 | Under |
| | ININ | 0.57 | 0.62 | 0.53 | 0.02 | Over |
| | | 0.71 | 0.73 | 0.69 | | Under |
| | Multiclass KNN | 0.75 | 0.86 | 0.67 | 0.69 | No dysregulation |
| | | 0.61 | 0.53 | 0.53 | | Over |
| | | | | | | |

Εικόνα 86. Αναφορά ταξινόμησης (Classification report) των ταξινομητών του Homo sapiens. Η απόδοση αυτών των ταξινομητών αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε με βάση τις μετρικές F1-score, Precision και Recall.



Εικόνα 87a. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 87b. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 87c. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 87d. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 87e. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.



Εικόνα 87f. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) του Homo sapiens. a) Logistic Regression, b) Decision Tree, c) Neural Network, d) Gaussian Naïve Bayes, e) Random Forest, f) SVM Support Vector Machine (SVC, kernel = linear). Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x στην προβλεπόμενη έκφραση. Η κλάση 0 αντιπροσωπεύει τα γονίδια με μειωμένη έκφραση, ενώ η κλάση 1 τα γονίδια με αυξημένη έκφραση.

Για να βελτιώσουμε την απόδοση του ταξινομητή του Νευρωνικού Δικτύου μας, ο οποίος αρχικά απέδιδε 62% ακρίβεια στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπου, εξετάσαμε την εφαρμογή τεχνικών Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). Συγκεκριμένα, προεκπαιδεύσαμε το μοντέλο μας στο μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων του οργανισμού Mus musculus για να αφομοιώσει κοινά χαρακτηριστικά, πριν πραγματοποιήσουμε fine tuning με το μικρότερο σύνολο δεδομένων του οργανισμού Homo sapiens. Εν συνεχεία, το μοντέλο Μεταφοράς Μάθησης παρουσίασε βελτιωμένη ακρίβεια και συγκεριμένα 71% (βλ. Εικόνα 88). Αξιοσημείωτο είναι ότι η βαθμολογία ανάκλησης (recall) ήταν υψηλότερη (80%) για την κατηγορία των υποεκφρασμένων γονιδίων σε σχέση με την ευκρίνεια (precision), ενώ η βαθμολογία ευκρίνειας ήταν ανώτερη (78%) για την κατηγορία των υποεκφρασμένων κατηγοριών και τη Μεταφορά Μάθησης.

| | | | | | Differential Expression |
|-------------------|----------|-----------|--------|----------|-------------------------|
| ML model | F1-score | Precision | Recall | Accuracy | [Class] |
| Transfer Learning | 0.72 | 0.65 | 0.80 | 0.71 | Under (expressed) |
| NN | 0.70 | 0.78 | 0.63 | 0.71 | Over (expressed) |

Εικόνα 88. Αναφορά Ταξινόμησης (Classification Report) της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). Η αναφορά ταξινόμησης για το μοντέλο Μεταφοράς Μάθησης αποκαλύπτει βελτιωμένη ακρίβεια 71% σε σύγκριση με τον ταξινομητή Νευρωνικού Δικτύου (NN) στο σύνολο δεδομένων του Homo sapiens.



Εικόνα 89a. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) αλγορίθμου KNN πολλαπλών κατηγοριών και της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). α) Ταξινομητής KNN πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπου, β) Ταξινομητής KNN πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ποντικού, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια, η κατηγορία 1 τα μη σημαντικά απορρυθμισμένα γονίδια και η κατηγορία 2 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. γ) Πίνακας σύγχυσης της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια και η κατηγορία 1 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x αντιστοιχεί στο προβλεπόμενο επίπεδο έκφρασης.



Εικόνα 89b. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) αλγορίθμου ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών και της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). α) Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπου, β) Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ποντικού, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια, η κατηγορία 1 τα μη σημαντικά απορρυθμισμένα γονίδια και η κατηγορία 2 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. γ) Πίνακας σύγχυσης της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια και η κατηγορία 1 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x αντιστοιχεί στο προβλεπόμενο επίπεδο έκφρασης.



Εικόνα 89c. Πίνακες σύγχυσης (Confusion Matrices) των ταξινομητών (Classifiers) αλγορίθμου KNN πολλαπλών κατηγοριών και της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning). α)

Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπου, β) Ταξινομητής ΚΝΝ πολλαπλών κατηγοριών στο σύνολο δεδομένων του ποντικού, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια, η κατηγορία 1 τα μη σημαντικά απορρυθμισμένα γονίδια και η κατηγορία 2 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. γ) Πίνακας σύγχυσης της εφαρμογής Μεταφοράς Μάθησης, όπου η κατηγορία 0 αντιπροσωπεύει τα υποεκφρασμένα γονίδια και η κατηγορία 1 τα υπερεκφρασμένα γονίδια. Ο άξονας y αντιστοιχεί στο πραγματικό επίπεδο έκφρασης, ενώ ο άξονας x αντιστοιχεί στο προβλεπόμενο επίπεδο έκφρασης.

ΜΕΡΟΣ ΙV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

19. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βαρύτητα αποτελεί ίσως τη μόνη περιβαλλοντική παράμετρο που παρέμεινε σταθερή καθόλη την εξελικτική ιστορία της ζωής στη Γη. Οι πρώτοι χερσαίοι οργανισμοί χρειάστηκε να διαχειριστούν τη βαρυτική επιβάρυνση διαφορετικά από τους υδρόβιους προκατόχους τους. Ανέπτυξαν δομές στήριξης, όπως ενισχυμένους σκελετούς, μηχανισμούς για την κυκλοφορία υγρών καθώς και εξελιγμένα καρδιαγγειακά συστήματα. Τα ερπετά βασίστηκαν περισσότερο σε μηχανισμούς αντιμετώπισης της τριβής, παρά της βαρύτητας, καθώς η επαφή τους με το έδαφος μειώνει το καθαρό βαρυτικό φορτίο. Αντίθετα, οργανισμοί που στάθηκαν στα άκρα τους χρειάστηκε να αναπτύξουν μυοσκελετικά συστήματα ικανά να αντισταθμίσουν τις δυνάμεις της βαρύτητας και να στηρίξουν το βάρος του σώματος τους. Στα πτηνά, η βαρύτητα αποτέλεσε καθοριστικό περιοριστικό παράγοντα για την πτήση. Για να επιτευχθεί η ικανότητα απογείωσης, απαιτήθηκε συνδυασμός επαρκούς ώθησης και ελάττωσης του βάρους — στοιχεία που αντικατοπτρίζονται σε εξειδικευμένες δομές όπως κοίλα οστά και ισχυρούς θωρακικούς μύες.[163]

Ο βιολογικός ρόλος της βαρύτητας αμφισβητήθηκε πριν από τρεις δεκαετίες, όταν οι Alpatov, Antipov και Tairbekov έθεσαν το ερώτημα αν κάποια από τις διαδικασίες που υπάρχουν σε ένα κύτταρο εξαρτάται από τη βαρύτητα και ποια η πιθανότητα προσαρμογής των κυττάρων στην έλλειψη βαρύτητας.[250] Το 2003, η Morey-Holton, από το Ερευνητικό Κέντρο Ames της NASA, εξέτασε σχετικές μελέτες για διαστημικές πτήσεις και επίγεια πειράματα και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η βαρύτητα διαμορφώνει τη ζωή.[163] Εφόσον η βαρυτική επιτάχυνση παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της ιστορίας της Γης, είναι εύλογο να υποθέσουμε ότι η επιρροή της υπήρξε συνεχής και κρίσιμη στην εμφάνιση και εξέλιξη της ζωής.

Σήμερα, οι μελέτες που πραγματοποιούνται σε συνθήκες διαστημικής πτήσης και επίγειων πειραμάτων επιβεβαιώνουν ότι το περιβάλλον τροποποιημένης βαρύτητας προκαλεί πολλαπλές μεταβολές στα φυσιολογικά συστήματα όπως το μυοσκελετικό, το ανοσοποιητικό, το καρδιαγγειακό, το αιθουσαίο, το δερματικό και το νευρικό.[251], [252], [253], [254], [255], [256], [257], [258], [259] Παράλληλα, η βιολογία και η ανάπτυξη των φυτών, φαίνεται επίσης να επηρεάζεται από τη βαρύτητα.[260], [261], [262] Η βαρύτητα επιδρά στα φυσιολογικά συστήματα των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens, συμπεριλαμβανομένων βιολογικών διεργασιών, όπως ο μεταβολισμός των σκελετικών μυών, η απόκριση σχηματισμού οστών, η φλεγμονώδης απόκριση, η απόπτωση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός σε PBLs, διαταραγμένη δράση των Τ κυττάρων, η διαφοροποίηση βλαστικών κυττάρων, η διαταραχή του κυτταρικού κύκλου σε θύλακες

178

τριχών, η μορφογένεση νευρώνων, η νευρωνική συναπτική σηματοδότηση και μετανάστευση, η κυτταρική μορφολογία και η αποκλίνουσα κυτταρική πορεία σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.[168]

Αρχικά, στη μελέτη μας ενσωματώσαμε όλα τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα που προέρχονται από τον ίδιο ιστό και οργανισμό με παρόμοιες πειραματικές συνθήκες, χωρίς να εξετάσουμε συγκεκριμένα κριτήρια ένταξης. Υπολογίσαμε τους συντελεστές συσχέτισης Pearson για όλα τα γονίδια σε όλα τα πειράματα που αξιολογούσαν συγκρίσιμους παράγοντες. Η ανάλυσή μας επικεντρώθηκε στον ιστό vastus lateralis του Homo sapiens. Διαπιστώθηκε μέτρια θετική συσχέτιση μεταξύ των πειραμάτων OSD-195 και OSD-370, με συντελεστή Pearson r = 0,64, υποδηλώνοντας αξιοσημείωτη ομοιότητα στα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης. Η συσχέτιση αυτή παρέμεινε υψηλή παρά τον μειωμένο αριθμό κοινών γονιδίων, γεγονός που υποδεικνύει πιθανές βιολογικά ουσιώδεις ομοιότητες μεταξύ των δύο πειραμάτων, οι οποίες ενδέχεται να μην είναι προφανείς όταν εξετάζεται το σύνολο των γονιδίων. Συμπεριλάβαμε επιπλέον το πείραμα OSD-51 για συγκριτική αξιολόγηση. Οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ του OSD-51 και των OSD-195 και OSD-370 ήταν r = 0,26, δηλαδή παρουσίαζαν ασθενή θετική συσχέτιση, γεγονός που φανερώνει περιορισμένη ομοιότητα ως προς τα πρότυπα έκφρασης των γονιδίων σε σύγκριση με το ζεύγος OSD-195/OSD-370. Όσον αφορά τους ιστούς gastrocnemius και soleus του οργανισμού Mus musculus, οι συσχετίσεις μεταξύ αντίστοιχων πειραμάτων ήταν ασθενείς ή σχεδόν μηδενικές, γεγονός που υποδηλώνει είτε υψηλή τεχνική ετερογένεια είτε σημαντικές βιολογικές διαφοροποιήσεις στα πρότυπα έκφρασης μεταξύ των συγκεκριμένων μυϊκών ιστών.

Επιπρόσθετα, μελετήσαμε πόσο αναπαραγώγιμα είναι αυτά τα πειραματικά αποτελέσματα σε κάθε είδος. Επικεντρωθήκαμε στο μυοσκελετικό σύστημα για μια συγκριτική ανάλυση επειδή το συγκεκριμένο φυσιολογικό σύστημα περιέχει τον μεγαλύτερο αριθμό συγκρίσιμων τύπων ιστών μεταξύ συνόλων δεδομένων στα δύο προς μελέτη είδη Mus musculus και Homo sapiens. Εξετάσαμε τις λειτουργίες της οντολογίας των γονιδίων (Gene Ontology) που ήταν στατιστικά σημαντικά υπερεκφραζόμενα σε τέσσερις ή περισσότερους μυοσκελετικούς ιστούς από τον οργανισμό Mus musculus σε όλα τα πειράματα: ήτοι τα γονίδια *Fbxo32, Cdkn1a, Lcn2, Pnmt, Fkbp5* και *Cebpd.* Τα πρωτεϊνική δέσμευση, τη δραστηριότητα της ουβικουιτίνης και τρανσφεράσες. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν μια συνεπή τάση διαφορικής γονιδιακής ρύθμισης σε μυϊκούς ιστούς ποντικών που εκτέθηκαν σε συνθήκες μικροβαρύτητας, ενισχύοντας την υπόθεση ότι συγκεκριμένες μοριακές αποκρίσεις στο μυοσκελετικό σύστημα είναι

179

διατηρημένες και ενδεχομένως σημαντικές για την κατανόηση των φυσιολογικών προσαρμογών σε μη γήινες συνθήκες.

Αξιολογήσαμε επίσης τις λειτουργίες γονιδιακής οντολογίας των γονιδίων που ήταν σημαντικά υποεκφραζόμενα σε δύο μυοσκελετικούς ιστούς ποντικών σε όλα τα πειράματα: ήτοι τα γονίδια *Collal* και *Dbp*. Αυτή η ανάλυση δείχνει συνεπή μειωμένη έκφραση πολλών βιολογικών διεργασιών σε όλα τα πειράματα, συμπεριλαμβανομένης της δέσμευσης ιόντων μετάλλων, της δέσμευσης DNA και της δραστηριότητας της RNA πολυμεράσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι αρκετές από τις ίδιες βιολογικές διεργασίες βρέθηκαν να σχετίζονται τόσο με τα υπερεκφραζόμενα όσο και με τα υποεκφραζόμενα γονίδια. Οι λειτουργικές κατηγορίες που σχετίζονται και με υπερεκφραζόμενα και υποεκφραζόμενα γονίδια είναι κοινές σε GO αναλύσεις και μπορεί να δηλώνουν ανακατανομή ενεργειακών πόρων ή κυτταρική επαναρύθμιση και όχι απλή καταστολή ή ενεργοποίηση.

Πραγματοποιήσαμε παρόμοια ανάλυση χρησιμοποιώντας όλα τα σύνολα δεδομένων από ανθρώπινο μυοσκελετικό ιστό. Υπήρχαν λιγότερα σύνολα δεδομένων προς σύγκριση και εντοπίσθηκαν τρία υπερεκφραζόμενα και εννέα υποεκφραζόμενα γονίδια που επικαλύφθηκαν μεταξύ των ανθρώπινων δεδομένων. Το γονίδιο CHRND (που σχετίζεται με τη δέσμευση της ακετυλοχολίνης, τη δραστηριότητα του υποδοχέα ακετυλοχολίνης, τη δραστηριότητα του κατιοντο-επιλεκτικού καναλιού που ενεργοποιείται από την ακετυλογολίνη, και τη δραστηριότητα του καναλιού ιόντων με συνδέσμους), το γονίδιο CHAD (που σχετίζεται με τη δραστηριότητα του αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης) και το γονίδιο RRAD (που σχετίζεται με τη δέσμευση GTP, τη δραστηριότητα GTPάσης, τη δέσμευση καλμοδουλίνης, και τη δέσμευση πρωτεΐνης) ήταν σημαντικά απορυθμισμένα σε δύο διαφορετικά ανθρώπινα πειράματα, OSD-195 και OSD-370, τα οποία μελετούσαν τον ιστό του πλευρικού μυός (vastus lateralis). Τα προαναφερθέντα πειράματα επίσης μοιράζονται εννέα κοινά γονίδια που υποεκφράζονται, ήτοι MYOZ2 (που σχετίζεται με την ακτίνη και τη δέσμευση πρωτεϊνών), COLQ (που σχετίζεται με τη δέσμευση πρωτεϊνών), καθώς και τα γονίδια KLHL40, CA14, CASQ2, KLHL34, ACOT11, COQ10A και PPP1R1C. Γενικότερα, στα σύνολα δεδομένων του ανθρώπινου μυοσκελετικού συστήματος διαπιστώνουμε συνέπεια στη βιολογική διαδικασία της πρωτεϊνικής σύνδεσης. Το OSD-195 και το OSD-370 παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη επικάλυψη, παρόλο που τα άλλα δύο σύνολα δεδομένων μελετούν επίσης τον ίδιο τύπο ιστού.

Ήταν δύσκολο να γίνει άμεση σύγκριση μεταξύ των αποτελεσμάτων του ανθρώπου και του ποντικού, λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος στα σύνολα δεδομένων του ανθρώπου. Ωστόσο, παρατηρήσαμε ότι ο όρος γονιδιακής οντολογίας για τη δέσμευση

180
πρωτεϊνών σχετιζόταν με αρκετά γονίδια ποντικιών που ρυθμίζονταν προς τα πάνω και ανθρώπινα γονίδια που ρυθμίζονταν προς τα κάτω. Αυτή η αντίθεση μπορεί να δείχνει ότι τα δύο είδη ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο στις ίδιες συνθήκες – όπως είναι η μικροβαρύτητα. Πιθανές εξηγήσεις περιλαμβάνουν διαφορές στην ευαισθησία των ειδών ή την ύπαρξη διαφορετικών μηχανισμών προσαρμογής που ενεργοποιούνται για να αντιμετωπιστεί το στρες που προκαλείται στο μυοσκελετικό σύστημα.

Συνοψίζοντας, αξιολογούμε τα αποτελέσματα της γονιδιακής έκφρασης από μια ποικιλία ιστών τόσο του Mus musculus όσο και του Homo sapiens που εκτίθενται σε μεταβαλλόμενη βαρύτητα σε διαστημικές πτήσεις ή σε ανάλογες συνθήκες στο έδαφος. Αναφέρουμε επικάλυψη και αναπαραγωγιμότητα στα γονίδια που αναγνωρίστηκαν ως διαφορικά εκφραζόμενα σε μυοσκελετικούς ιστούς του κάθε είδους, ενώ πολύ περιορισμένη επικάλυψη μεταξύ των ειδών, εν μέρει λόγω του μικρού αριθμού ανθρώπινων δειγμάτων. Για να διασφαλίσουμε την πληρότητα της ανάλυσής μας, ακολουθήσαμε μια περιεκτική προσέγγιση ενσωματώνοντας όλα τα σχετικά βιβλιογραφικά δεδομένα που προέρχονται από τον ίδιο ιστό και οργανισμό, με παρόμοιες πειραματικές συνθήκες. Αυτή η προσέγγιση δύναται να βοηθήσει στον εντοπισμό πιθανών μοτίβων ή τάσεων σε ένα ευρύτερο φάσμα μελετών, τα οποία μπορεί να μην είναι εμφανή όταν εστιάζουμε αποκλειστικά σε ένα υποσύνολο δεδομένων. Η αυξημένη συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ των OSD-195 και OSD-370, παρά τον μειωμένο αριθμό κοινών γονιδίων, υποδηλώνει την παρουσία πιθανών βιολογικά σχετικών ομοιοτήτων μεταξύ αυτών των δύο πειραμάτων. Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να κατανοήσουμε ποιες υπογραφές διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων από το Mus musculus αντικατοπτρίζουν πραγματικά την απόκριση του Homo sapiens στη μεταβαλλόμενη βαρύτητα.

Συμπληρωματικά, οι εμπλουτισμένοι όροι και οι μονοπάτια που σχετίζονται με στατιστικά σημαντικά διαφορικά εκφρασμένα γονίδια εντοπίστηκαν για κάθε είδος. Όσον αφορά στον οργανισμό Mus musculus, η αυξημένη έκφραση γονιδίων σε πολλαπλούς ιστούς, τα οποία εμπλέκονται στην αντοχή στην απόπτωση, την απορρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τις μεταβολές στα σηματοδοτικά μονοπάτια, υποδηλώνει ένα κοινό μοτίβο διαταραγμένου ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, ενισχυμένων σημάτων επιβίωσης, ανάπτυξης και εξέλιξης του καρκίνου. Από την άλλη πλευρά, τα γονίδια με μειωμένη έκφραση σχετίστηκαν με την ανάπτυξη επιπλοκών του διαβήτη. Ιδιαίτερα, η απορρύθμιση του συστήματος AGE-RAGE συνδέεται με τη χρόνια φλεγμονή, τη δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και το οξειδωτικό στρες στον διαβήτη. Επιπλέον, η εστιακή προσκόλληση, οι διαταραχές στην αλληλεπίδραση ΕCM-υποδοχέων και οι ακανόνιστες

181

ενεργοποιήσεις του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3K-Akt συνδέονται συχνά με την ανάπτυξη καρκίνου.

Όσον αφορά στον Homo sapiens, τα υπερεκφρασμένα γονίδια εμπλέκονται στη μελανογένεση, τη γήρανση των κυττάρων, το σύνδρομο long QT και τον διαβήτη. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 συνδέεται με την ελαττωματική επιδιόρθωση ιστών και συστηματικές επιπλοκές, όπως καρδιαγγειακές αρρυθμίες και κοιλιακή ταχυκαρδία. Από την άλλη, τα γονίδια με μειωμένη έκφραση σχετίστηκαν με τη υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια, την ανεπαρκή απόκριση στη θερμοκρασία και τους αβιοτικούς στρεσογόνους παράγοντες, ενώ η διαφορική ρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού PPAR συσχετίζεται με τον κυτταρικό μεταβολισμό, την ομοιόσταση ενέργειας και την καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης.

Μετά τη συγκριτική μετα-ανάλυση των ορθόλογων γονιδίων μεταξύ του Homo sapiens και του Mus musculus, εντοπίσαμε κοινά διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια μεταξύ των ειδών, αξιοποιώντας και την υψηλή συντήρηση των ορθόλογων γονιδίων κατά τη διάρκεια της εξέλιξης. Τα υπερεκφρασμένα ορθόλογα γονίδια σχετίζονταν κυρίως με την κυτταρική ανάπτυξη, τη ρύθμιση του μεταβολισμού και τις ανοσολογικές αποκρίσεις, ενώ η μειωμένη έκφραση δεκαεννέα ορθόλογων γονιδίων συνδέθηκε με επιπλοκές που σχετίζονται με τα νεφρά, τον διαβήτη τύπου 2, καθώς και μονοπάτια όπως η δυσλειτουργία του μεταβολισμού της γλυκόζης και η αντίσταση στην ινσουλίνη. Η ταυτοποίηση αυτών των διαφορικά ρυθμισμένων βιολογικών μονοπατιών, όπως η διαταραγμένη ανάπτυξη μυϊκού και σκελετικού ιστού, οι καρδιαγγειακές λειτουργίες, η μεταβολική ομοιόσταση και η φλεγμονώδης και στρεσογόνος απόκριση.

Αφού εντοπίστηκαν οι εμπλουτισμένοι όροι και τα μονοπάτια των διαφορικά ρυθμισμένων γονιδίων, κατασκευάσαμε σύνολα δεδομένων έτοιμα προς χρήση για τεχνητή νοημοσύνη (AI-ready merged datasets), ένα ανά είδος, με στόχο την εφαρμογή πολλαπλών επιβλεπόμενων μοντέλων μηχανικής μάθησης για την ανάπτυξη αποτελεσματικών ταξινομητών. Οι ταξινομητές Random Forest και Neural Network εμφάνισαν υψηλότερη απόδοση στο σύνολο δεδομένων του Mus musculus, επιτυγχάνοντας ποσοστά ακρίβειας 77% και 79%, αντίστοιχα. Η συνολική ακρίβεια του μοντέλου πολλαπλών κλάσεων KNN ήταν 74%, αποδίδοντας καλύτερα στην πρόβλεψη της κατηγορίας των μη σημαντικά διαφορικά ρυθμισμένων γονιδίων, με F1-score 78%. Από την άλλη πλευρά, μόνο ο ταξινομητής SVM παρουσίασε ικανοποιητική απόδοση στο σύνολο δεδομένων του ανθρώπινου οργανισμού, επιτυγχάνοντας ποσοστό ακρίβειας 72%. Οι μετρικές αξιολόγησης υποδεικνύουν τη σαφώς ανώτερη απόδοση των ταξινομητών στο σύνολο

182

δεδομένων του Mus musculus σε σύγκριση με αυτό του ανθρώπου. Σημειώνεται ότι το σύνολο δεδομένων του ανθρώπου αντιστοιχεί μόνο στο 10% των δεδομένων του Mus musculus, γεγονός που πιθανότατα συμβάλλει στη χαμηλότερη απόδοση των ταξινομητών του.

Ως εκ τούτου, διερευνήσαμε την εφαρμογή της Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning), καθώς στοχεύαμε στη βελτίωση της απόδοσης του ταξινομητή Neural Network, ο οποίος αρχικά παρουσίασε ακρίβεια 62% στα δεδομένα του Homo sapiens. Συγκεκριμένα, προεκπαιδεύσαμε το μοντέλο μας χρησιμοποιώντας δεδομένα από τον οργανισμό Mus musculus και στη συνέχεια το βελτιστοποιήσαμε με τα δεδομένα του ανθρώπου. Το μοντέλο μας προεκπαιδεύτηκε πρώτα στο σύνολο δεδομένων του Mus musculus, ώστε να μάθει χαρακτηριστικά που είναι κοινά σε αυτή τη μορφή δεδομένων, και στη συνέχεια προσαρμόστηκε στο μικρότερο σε μέγεθος σύνολο δεδομένων του ανθρώπου. Αυτή η προσέγγιση οδήγησε σε μια σημαντική βελτίωση της ακρίβειας, φτάνοντας το 71%.

20. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η πολυπλοκότητα των οργανισμών σχετίζεται άμεσα με την πολυπλοκότητα του περιβάλλοντος που τους υποστηρίζει. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ ειδών που ζουν σε συνθήκες στην επιφάνεια της Γης και ειδών που βρίσκονται υπό μικροβαρύτητα. Ιδιαίτερα στους ανθρώπους, αυτές οι αλλαγές επηρεάζουν διάφορα φυσιολογικά συστήματα, όπως το ανοσοποιητικό, το μυοσκελετικό, το καρδιαγγειακό κ.α. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά που αξίζει να επισημανθεί είναι ο ρόλος της μυϊκής και σκελετικής φυσιολογίας. Το γεγονός ότι οι άνθρωποι χάνουν σημαντικό ποσοστό οστικής μάζας στο διάστημα πιθανώς περιορίζει τις επιλογές για μελλοντική αποικιοποίηση του διαστήματος. Αυτό σημαίνει ότι οι πλανήτες που θα επιλεχθούν θα πρέπει, κατά προτίμηση, να έχουν συνθήκες παρόμοιες με εκείνες της Γης, ειδικά όσον αφορά στη δύναμη της βαρύτητας. Υπό αυτήν την έννοια, η Αφροδίτη είναι ο πλησιέστερος πλανήτης με τη Γη αναφορικά με τις βαρυτικές συνθήκες που την διέπουν.

Η βαρύτητα φαίνεται να έχει επηρεάσει τη συνεχιζόμενη εξέλιξη των ειδών. Μια πιο εις βάθος διερεύνηση αυτού του φαινομένου θα απαιτούσε συχνά και μακροχρόνια πειράματα σε συνθήκες διαστήματος ή σε περιβάλλοντα τροποποιημένης βαρύτητας. Κάθε οργανισμός θα πρέπει να μελετηθεί σε πολλές γενιές, προκειμένου να καθοριστούν οι βαθιές βιολογικές αλλαγές στην εξέλιξή του. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα δεδομένα, φαίνεται πως η βαρύτητα δεν καμπυλώνει μόνο το χωροχρονικό συνεχές, αλλά και το βιολογικό συνεχές.

Συμπερασματικά, η παρούσα διδακτορική διατριβή αναδεικνύει τις σημαντικές βιολογικές επιπτώσεις των τροποποιημένων συνθηκών βαρύτητας στην έκφραση γονιδίων και την απορρύθμιση βιολογικών μονοπατιών. Τα ευρήματα στον οργανισμό Mus musculus υποδεικνύουν προδιάθεση για καρκινογένεση, διαταραχή της ομοιόστασης των ιστών και αυξημένο κίνδυνο φλεγμονής, οξειδωτικού στρες και διαβητικών επιπλοκών. Αντίστοιχα, στον οργανισμό Homo sapiens, τα αποτελέσματα αναδεικνύουν συστημικές μεταβολικές διαταραχές και καρδιαγγειακές ευπάθειες, όπως αρρυθμίες και εξασθενημένους μηχανισμούς επιδιόρθωσης ιστών. Η συγκριτική ανάλυση μεταξύ των ειδών αποκαλύπτει διατηρημένα μονοπάτια που επηρεάζουν την ακεραιότητα των μυών και του σκελετού, τη μεταβολική ομοιόσταση και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Αυτές οι βιολογικές επιπτώσεις τονίζουν την ακεραιότητα των μυών και του σκελετού, τη μεταβολική ομοιόσταση και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Αυτές οι βιολογικές επιπτώσεις τονίζουν την ακεραιότητα των μυών και του σκελετού, τη μεταβολική ομοιόσταση και τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Αυτές οι βιολογικές επιπτώσεις τονίζουν την ακέρισεις του την ανάγκη για στοχευμένα αντίμετρα, προκειμένου να αντιμετωπιστούν οι συστημικοί και μακροπρόθεσμοι κίνδυνοι για την υγεία που συνδέονται με τις τροποποιημένες συνθήκες βαρύτητας κατά τη διάρκεια παρατεταμένων διαστημικών πτήσεων.

184

Επιπρόσθετα, η μελέτη αυτή αναδεικνύει τη δυνατότητα αξιοποίησης μεθοδολογιών Μηχανικής Μάθησης (Machine Learning), καθώς και Μεταφοράς Μάθησης (Transfer Learning) για την αντιμετώπιση των προκλήσεων που προκύπτουν από την ανάλυση εξειδικευμένων συνόλων δεδομένων (π.χ. AI-ready merged datasets των οργανισμών Mus musculus και Homo sapiens) στον τομέα της διαστημικής έρευνας. Η εφαρμογή της Μεταφοράς Μάθησης συμβάλλει σημαντικά στη γεφύρωση των διαφορών μεταξύ των ειδών, διευκολύνοντας τη μεταφορά γνώσης από μοντέλα οργανισμούς σε ανθρώπους και αντιμετωπίζοντας τους περιορισμούς που επιβάλλει ο ελάχιστος όγκος ανθρώπινων δεδομένων. Για την περαιτέρω πρόοδο του τομέα, η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στην τυποποίηση των πειραματικών σχεδιασμών για τη μείωση της ετερογένειας, την επέκταση της ποικιλομορφίας και του μεγέθους των συνόλων δεδομένων, την ενσωμάτωση διαχρονικών μελετών για την αποτύπωση των χρονικών δυναμικών και την αξιοποίηση προηγμένων υπολογιστικών μεθοδολογιών, όπως η ενσωμάτωση πολυ-ομικών δεδομένων (multi-omics integration), η Μεταφορά Μάθησης και τα επεξηγήσιμα μοντέλα Τεχνητής Νοημοσύνης (explainable AI models).

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

Να καθοδηγείς χωρίς να εξουσιάζεις.

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.»⁵⁰ - Μάνος Δανέζης

«Δε δέχουμαι τα σύνορα, δε με χωρούν τα φαινόμενα, πνίγουμαι! Την αγωνία τούτη βαθιά, αιματερά να τη ζήσεις, είναι το δεύτερο χρέος.

Ο νους βολεύεται, έχει υπομονή, του αρέσει να παίζει. μα η καρδιά αγριεύει, δεν καταδέχεται αυτή να παίζει, πλαντάει και χιμάει να ζεσκίσει το δίχτυ της ανάγκης.

Να υποτάζω τη γης, το νερό, τον αγέρα, να νικήσω τον τόπο και τον καιρό, να νιώσω με ποιους νόμους αρμολογούνται κι έρχουνται και ζανάρχουνται οι αντικαθρεφτισμοί που ανεβαίνουν από την πυρωμένην έρημο του νου, τι αζίαν έχει;

Ένα μονάχα λαχταρίζω: Να συλλάβω τι κρύβεται πίσω από τα φαινόμενα ..

Μια προσταγή μέσα μου:

Σκάψε! Τι βλέπεις;

Ανθρώπους και πουλιά, νερά και πέτρες!

Σκάψε ακόμα! Τι βλέπεις;

Ιδέες κι ονείρατα, αστραπές και φαντάσματα.

Σκάψε ακόμα! Τι βλέπεις;

Δε βλέπω τίποτα! Νύχτα βουβή, πηχτή σα θάνατος. Θα 'ναι ο θάνατος.

Σκάψε ακόμα!

Αχ! δεν μπορώ να διαπεράσω το σκοτεινό μεσότοιχο! Φωνές γρικώ και κλάματα, φτερά γρικώ στον άλλον όχτο! ». – Νίκος Καζαντζάκης

Μα δεν θα λένε: Ήτανε σκοτεινοί οι καιροί. Θα λένε: Γιατί σιωπούν οι ποιητές τους; - **Berthold Brecht**

Αν δεν μάθουμε να συνυπάρχουμε εδώ, δεν θα μάθουμε ποτέ να επιβιώνουμε αλλού.

⁵⁰ Απόσπασμα από το βιβλίο του Μ. Δανέζη «Έτσι Βλέπω τον Κόσμο: Η Επιστήμη του Homo Universalis», Εκδ. Δίαυλος, Αθήνα 2012, σελ.21.

Ντετερμινιστικό Χάος

Μάλλον του Οκτώβρη ήταν η πρώτη Κυριακή και φάνταζε αλλιώτικη από άλλη. Χάος και τάζη μάχονται δίχως τακτική εσύ ποιόνε στηρίζεις, δεν ζέρεις πάλι.

Οπως χαράζει φύλλα, πέφτουν στωικά, βουβή σκηνή με μάρτυρα κανένα, παράσταση σε θέατρο χωρίς σιδερικά, τρία βουνά κομπάρσοι σ' ένα ψέμα. Όπως χαράζει φύλλα, πέφτουν στωικά.

Του Μούδρου ο σκύλος τρέχει στη ράχη και τηρά τ' αθρόο φως βρε τον διαπερνάει, χαρούμενος γαβγίζει, την ουρά του κυνηγά το χάος σαν προβάδισμα κρατάει.

και σαν θαρρείς πως έληζε το έργο, έτσι απλά, μια λέζη εμφανίζεται τυχαία. (Αι) 'τιοκρατία γράφει στο χώμα νοερά Σκίσαν το σενάριο παρέα. και σαν θαρρείς πως έληζε το έργο, έτσι απλά.

Όσο ψηλά εδιάβαινε ο θεατής αυτός, μοτίβα σχηματίζονταν ωραία. Γέρνει το κεφάλι του, ο σκύλος σκεπτικός σαν είδε το αποτέλεσμα μοιραία.

Σε βαλς ρυθμό χορεύανε δύο μικρά παιδιά και δίπλα τους, υάκινθος προβάλλει «η μάχη να τελείωσε (ρωτάνε), τελικά;» ο σκύλος μόνο ζέρει και δε μιλάει. Σε βαλς ρυθμό χορεύουνε δύο μικρά παιδιά

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] N. d. Tyson, *Astrophysics for People in a Hurry*. New York: W.W. Norton & Company, 2017.
- [2] C. Sagan, Pale Blue Dot: A Vision of the Human Future in Space. New York: Random House., 1994.
- [3] E. Schrödinger, What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge: Cambridge University Press., 1944.
- [4] Baruch Spinoza, *Ethica* . PROMETHEUS, 1989.
- [5] André Laks and Glenn W. Most, *Early Greek Philosophy*, vol. 7. Harvard University Press, 2016.
- [6] Erwin Schrödinger, *Nature and the Greeks*. Cambridge University Press, 1954.
- [7] C. E. Mason *et al.*, 'A Second Space Age Spanning Omics, Platforms, and Medicine Across Orbits', *Nature*, 2024, doi: 10.1038/s41586-024-07586-8.
- [8] J. Uri, '60 years ago: NASA selects a second group of astronauts. NASA. ', https://www.nasa.gov/history/60-years-ago-nasa-selects-a-second-group-ofastronauts/.
- [9] E. G. Overbey *et al.*, 'Collection of biospecimens from the inspiration4 mission establishes the standards for the space omics and medical atlas (SOMA)', *Nat Commun*, vol. 15, no. 1, p. 4964, Jun. 2024, doi: 10.1038/s41467-024-48806-z.
- [10] E. G. Overbey *et al.*, 'The Space Omics and Medical Atlas (SOMA) and international astronaut biobank', *Nature*, vol. 632, no. 8027, pp. 1145–1154, Aug. 2024, doi: 10.1038/s41586-024-07639-y.
- [11] C. W. Jones *et al.*, 'Molecular and physiological changes in the SpaceX Inspiration4 civilian crew', *Nature*, vol. 632, no. 8027, pp. 1155–1164, Aug. 2024, doi: 10.1038/s41586-024-07648-x.
- [12] A. Witze, '2022 was a record year for space launches', *Nature*, vol. 613, no. 7944, pp. 426–426, Jan. 2023, doi: 10.1038/d41586-023-00048-7.
- [13] T. Cichan *et al.*, 'Mars Base Camp: An Architecture for Sending Humans to Mars', *New Space*, vol. 5, no. 4, pp. 203–218, Dec. 2017, doi: 10.1089/space.2017.0037.
- [14] Θάνος Καψάλης, Μια μέρα σαν κι αυτή στην ιστορία της ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ (Το χρονικό μιας επιστήμης). ΕΛΛΗΝΟΕΚΔΟΤΙΚΗ, 2018.
- [15] J. D. WATSON and F. H. C. CRICK, 'Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid', *Nature*, vol. 171, no. 4356, pp. 737–738, Apr. 1953, doi: 10.1038/171737a0.

- [16] M. H. F. WILKINS, A. R. STOKES, and H. R. WILSON, 'Molecular Structure of Nucleic Acids: Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids', *Nature*, vol. 171, no. 4356, pp. 738–740, Apr. 1953, doi: 10.1038/171738a0.
- [17] R. E. Franklin and R. G. Gosling, 'The structure of sodium thymonucleate fibres. II. The cylindrically symmetrical Patterson function', *Acta Crystallogr*, vol. 6, no. 8, pp. 678–685, Sep. 1953, doi: 10.1107/S0365110X53001940.
- [18] R. E. FRANKLIN and R. G. GOSLING, 'Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate', *Nature*, vol. 171, no. 4356, pp. 740–741, Apr. 1953, doi: 10.1038/171740a0.
- [19] D. B. K. H. A. D. J. A. J. J. L. M. R. K. R. P. W. Bruce Alberts, *Essential Cell Biology*. Garland Science, 2009.
- [20] Virginia Smith, Le Corps humain : comment ça marche ? DK, 2016.
- [21] Κ.Ι. Αδαμόπουλος, 'Μη-Γραμμική Μαθηματική Προτυποποίηση και Αποτυπώσεις Poincaré σε Χρονοσειρές Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού', ΕΜΠ, 2019.
- [22] H. F. W. R.L. Nussbaum RRM, Genetics in Medicine, Thompson & Thomspon. Broken Hill, 2011.
- [23] J. P. M. Madigan JM, Brock Biology of Microorganisms. Pearson Education, 2003.
- [24] Κ. Π. Σ. Αλεπόρου-Μαρίνου Α, Βιολογία. ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ, 2012.
- [25] S. B. Weiss and L. Gladstone, 'A MAMMALIAN SYSTEM FOR THE INCORPORATION OF CYTIDINE TRIPHOSPHATE INTO RIBONUCLEIC ACID ¹', J Am Chem Soc, vol. 81, no. 15, pp. 4118–4119, Aug. 1959, doi: 10.1021/ja01524a087.
- [26] M. L. Bochman, K. Paeschke, and V. A. Zakian, 'DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures', *Nat Rev Genet*, vol. 13, no. 11, pp. 770–780, Nov. 2012, doi: 10.1038/nrg3296.
- [27] E. D. Routh, S. D. Creacy, P. E. Beerbower, S. A. Akman, J. P. Vaughn, and P. J. Smaldino, 'A G-quadruplex DNA-affinity Approach for Purification of Enzymatically Active G4 Resolvase1', *Journal of Visualized Experiments*, no. 121, Mar. 2017, doi: 10.3791/55496.
- [28] M. Connor MF-S., Essential Medical Genetics. Πασχαλίδης, 2004.
- [29] D.L. Nelson MMC, Lehninger Principles of Biochemistry. Broken Hill, 2011.
- [30] R. D. Kornberg, 'The molecular basis of eukaryotic transcription', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, no. 32, pp. 12955–12961, Aug. 2007, doi: 10.1073/pnas.0704138104.

- [31] J. S. Mattick, 'RNA regulation: a new genetics?', *Nat Rev Genet*, vol. 5, no. 4, pp. 316–323, Apr. 2004, doi: 10.1038/nrg1321.
- [32] A. P. Bird, 'CpG-rich islands and the function of DNA methylation', *Nature*, vol. 321, no. 6067, pp. 209–213, May 1986, doi: 10.1038/321209a0.
- [33] P. Sar and S. Dalai, 'CRISPR/Cas9 in epigenetics studies of health and disease', 2021, pp. 309–343. doi: 10.1016/bs.pmbts.2021.01.022.
- [34] G. Millán-Zambrano and J. Casadesús, 'Epigenetics', in *Reference Module in Life Sciences*, Elsevier, 2022. doi: 10.1016/B978-0-12-822563-9.00047-0.
- [35] R. Cacabelos and C. Torrellas, 'Pharmacoepigenomics', in *Medical Epigenetics*, Elsevier, 2016, pp. 585–617. doi: 10.1016/B978-0-12-803239-8.00032-6.
- [36] Κ. Κ. Λ.Μαργαρίτης ΒΓ, Βιολογία Κυττάρου. Λίτσας ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΚΔ., 2015.
- [37] J.Koolman K-HR, Εγχειρίδιο Βιοχημείας. Πασχαλίδης, 2007.
- [38] Σ.Ν.Αλαχιώτης, Εισαγωγή στη Γενετική. Α.Α.Λιβάνη, 2011.
- [39] G.M. Cooper REH, *The Cell (A Molecular Approach)*. ASM Press, 2011.
- [40] Μ. J. AL-KHALILI JIM, ΖΩΗ ΣΤΗΝ ΚΟΨΗ Η ΜΥΣΤΗΡΙΩΔΗΣ ΚΒΑΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ. ΤΡΑΥΛΟΣ, 2015.
- [41] J. Al-Khalili, 'The birth of the electric machines: a commentary on Faraday (1832)
 "Experimental researches in electricity", *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 373, no. 2039, p. 20140208, Apr. 2015, doi: 10.1098/rsta.2014.0208.
- [42] Z. Wang, M. Gerstein, and M. Snyder, 'RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics', *Nat Rev Genet*, vol. 10, no. 1, pp. 57–63, Jan. 2009, doi: 10.1038/nrg2484.
- [43] M. Schena, D. Shalon, R. W. Davis, and P. O. Brown, 'Quantitative Monitoring of Gene Expression Patterns with a Complementary DNA Microarray', *Science (1979)*, vol. 270, no. 5235, pp. 467–470, Oct. 1995, doi: 10.1126/science.270.5235.467.
- [44] D. J. Lockhart *et al.*, 'Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays', *Nat Biotechnol*, vol. 14, no. 13, pp. 1675–1680, Dec. 1996, doi: 10.1038/nbt1296-1675.
- [45] P. O. Brown and D. Botstein, 'Exploring the new world of the genome with DNA microarrays', *Nat Genet*, vol. 21, no. S1, pp. 33–37, Jan. 1999, doi: 10.1038/4462.
- [46] Jonathan Pevsner, *Bioinformatics and Functional Genomics*. Wiley-Blackwell, 2015.

- [47] A. Mortazavi, B. A. Williams, K. McCue, L. Schaeffer, and B. Wold, 'Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq', *Nat Methods*, vol. 5, no. 7, pp. 621–628, Jul. 2008, doi: 10.1038/nmeth.1226.
- [48] M. L. Metzker, 'Sequencing technologies the next generation', *Nat Rev Genet*, vol. 11, no. 1, pp. 31–46, Jan. 2010, doi: 10.1038/nrg2626.
- [49] Andreas Scherer, Batch Effects and Noise in Microarray Experiments: Sources and Solutions. WILEY, 2009.
- [50] N. Altman, 'Batches and Blocks, Sample Pools and Subsamples in the Design and Analysis of Gene Expression Studies', 2009, pp. 33–50. doi: 10.1002/9780470685983.ch4.
- [51] R. J. Lipshutz, S. P. A. Fodor, T. R. Gingeras, and D. J. Lockhart, 'High density synthetic oligonucleotide arrays', *Nat Genet*, vol. 21, no. S1, pp. 20–24, Jan. 1999, doi: 10.1038/4447.
- [52] T. R. Hughes *et al.*, 'Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer', *Nat Biotechnol*, vol. 19, no. 4, pp. 342–347, Apr. 2001, doi: 10.1038/86730.
- [53] K. L. Gunderson *et al.*, 'Decoding Randomly Ordered DNA Arrays', *Genome Res*, vol. 14, no. 5, pp. 870–877, May 2004, doi: 10.1101/gr.2255804.
- [54] K. L. Gunderson, F. J. Steemers, G. Lee, L. G. Mendoza, and M. S. Chee, 'A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology', *Nat Genet*, vol. 37, no. 5, pp. 549–554, May 2005, doi: 10.1038/ng1547.
- [55] S. Singh-Gasson *et al.*, 'Maskless fabrication of light-directed oligonucleotide microarrays using a digital micromirror array', *Nat Biotechnol*, vol. 17, no. 10, pp. 974–978, Oct. 1999, doi: 10.1038/13664.
- [56] S. A. Dunbar, 'Applications of Luminex® xMAPTM technology for rapid, highthroughput multiplexed nucleic acid detection', *Clinica Chimica Acta*, vol. 363, no. 1–2, pp. 71–82, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.cccn.2005.06.023.
- [57] T. E. R. Christopher Tuplin, Science and Mathematics in Ancient Greek Culture. Oxford University Press, 2002.
- [58] Edmund Taylor Whittaker, From Euclid to Eddington: A Study of Conceptions of the External World. CUP Archive, 1979.
- [59] G. H. Katzin, J. Levine, and W. R. Davis, 'Curvature Collineations: A Fundamental Symmetry Property of the Space-Times of General Relativity Defined by the Vanishing Lie Derivative of the Riemann Curvature Tensor', *J Math Phys*, vol. 10, no. 4, pp. 617–629, Apr. 1969, doi: 10.1063/1.1664886.

- [60] A. Einstein, 'Über einen die Erzeugung und Verwandlung des Lichtes betreffenden heuristischen Gesichtspunkt', Ann Phys, vol. 322, no. 6, pp. 132–148, Jan. 1905, doi: 10.1002/andp.19053220607.
- [61] A. Einstein, 'Die Grundlage der allgemeinen Relativitätstheorie', Ann Phys, vol. 354, no. 7, pp. 769–822, Jan. 1916, doi: 10.1002/andp.19163540702.
- [62] Σ. Θ. Μάνος Δανέζης, Η κοσμολογία της νόησης: Εισαγωγή στην κοσμολογία. ΔΙΑΥΛΟΣ, 2003.
- [63] Τ.Μπουντής, Ο θαυμαστός κόσμος των Fractal. Leader Books, 2004.
- [64] Gleick J., Χάος, μια νέα επιστήμη. Κάτοπτρο, 1990.
- [65] Trinh X-T, *LE CHAOS ET L' HARMONIE*. TPAYAO Σ , 2004.
- [66] ΠΑΠΑΙΩΑΝΝΟΥ ΠΓ., *XAOTIKEΣ XPONOΣΕΙΡΕΣ ΘΕΩΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΑΞΗ*. LEADER BOOKS, 2000.
- [67] S. Ghosh and P. Jain, 'A pixel space method for testing dipole modulation in the CMB polarization', *Mon Not R Astron Soc*, vol. 492, no. 3, pp. 3994–4004, Mar. 2020, doi: 10.1093/mnras/stz3627.
- [68] J. Laskar and M. Gastineau, 'Existence of collisional trajectories of Mercury, Mars and Venus with the Earth', *Nature*, vol. 459, no. 7248, pp. 817–819, Jun. 2009, doi: 10.1038/nature08096.
- [69] G. J. Sussman and J. Wisdom, 'Numerical Evidence That the Motion of Pluto Is Chaotic', *Science* (1979), vol. 241, no. 4864, pp. 433–437, Jul. 1988, doi: 10.1126/science.241.4864.433.
- [70] K. Adamopoulos, D. Koutsouris, A. Zaravinos, and G. I. Lambrou, 'Poincaré Maps and Aperiodic Oscillations in Leukemic Cell Proliferation Reveal Chaotic Dynamics', *Cells*, vol. 10, no. 12, p. 3584, Dec. 2021, doi: 10.3390/cells10123584.
- [71] The Science of Astrobiology. SPRINGER, 2011.
- [72] D. Chandler, 'Weightlessness and microgravity', *Phys Teach*, vol. 29, no. 5, pp. 312–313, May 1991, doi: 10.1119/1.2343327.
- [73] M. D. Ross, 'The influence of gravity on structure and function of animals', *Advances in Space Research*, vol. 4, no. 12, pp. 305–314, Jan. 1984, doi: 10.1016/0273-1177(84)90575-1.
- [74] M. Pandiarajan and A. R. Hargens, 'Ground-Based Analogs for Human Spaceflight', *Front Physiol*, vol. 11, Jun. 2020, doi: 10.3389/fphys.2020.00716.
- [75] P. Wang et al., 'Altered Gravity Simulated by Parabolic Flight and Water Immersion Leads to Decreased Trunk Motion', PLoS One, vol. 10, no. 7, p. e0133398, Jul. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0133398.

- [76] S. Motil, A. Harrivel, and G. Zimmerli, 'Testing microgravity flight hardware concepts on the NASA KC-135', in *39th Aerospace Sciences Meeting and Exhibit*, Reston, Virigina: American Institute of Aeronautics and Astronautics, Jan. 2001. doi: 10.2514/6.2001-770.
- [77] R. WILLIAMS and L. BILLICA, 'JSC reduced gravity program and 1992 highlights', in *31st Aerospace Sciences Meeting*, Reston, Virigina: American Institute of Aeronautics and Astronautics, Jan. 1993. doi: 10.2514/6.1993-572.
- [78] J. Nasrini, E. Hermosillo, D. F. Dinges, T. M. Moore, R. C. Gur, and M. Basner, 'Cognitive Performance During Confinement and Sleep Restriction in NASA's Human Exploration Research Analog (HERA)', *Front Physiol*, vol. 11, Apr. 2020, doi: 10.3389/fphys.2020.00394.
- [79] S. Brungs *et al.*, 'Facilities for Simulation of Microgravity in the ESA Ground-Based Facility Programme', *Microgravity Sci Technol*, vol. 28, no. 3, pp. 191–203, Jun. 2016, doi: 10.1007/s12217-015-9471-8.
- [80] F. A. Oluwafemi and A. Neduncheran, 'Analog and simulated microgravity platforms for life sciences research: Their individual capacities, benefits and limitations', *Advances in Space Research*, vol. 69, no. 7, pp. 2921–2929, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.asr.2022.01.007.
- [81] J. Z. Kiss, C. Wolverton, S. E. Wyatt, K. H. Hasenstein, and J. J. W. A. van Loon, 'Comparison of Microgravity Analogs to Spaceflight in Studies of Plant Growth and Development', *Front Plant Sci*, vol. 10, Dec. 2019, doi: 10.3389/fpls.2019.01577.
- [82] R. K. Globus and E. Morey-Holton, 'Hindlimb unloading: rodent analog for microgravity', J Appl Physiol, vol. 120, no. 10, pp. 1196–1206, May 2016, doi: 10.1152/japplphysiol.00997.2015.
- [83] J. K. Lee, Y. De Dios, I. Kofman, A. P. Mulavara, J. J. Bloomberg, and R. D. Seidler, 'Head Down Tilt Bed Rest Plus Elevated CO2 as a Spaceflight Analog: Effects on Cognitive and Sensorimotor Performance', *Front Hum Neurosci*, vol. 13, Oct. 2019, doi: 10.3389/fnhum.2019.00355.
- [84] A. R. Hargens and L. Vico, 'Long-duration bed rest as an analog to microgravity', J Appl Physiol, vol. 120, no. 8, pp. 891–903, Apr. 2016, doi: 10.1152/japplphysiol.00935.2015.
- [85] L. C. Simonsen, T. C. Slaba, P. Guida, and A. Rusek, 'NASA's first ground-based Galactic Cosmic Ray Simulator: Enabling a new era in space radiobiology research', *PLoS Biol*, vol. 18, no. 5, p. e3000669, May 2020, doi: 10.1371/journal.pbio.3000669.

- [86] J. A. Bellone, P. S. Gifford, N. C. Nishiyama, R. E. Hartman, and X. W. Mao, 'Long-term effects of simulated microgravity and/or chronic exposure to low-dose gamma radiation on behavior and blood–brain barrier integrity', *NPJ Microgravity*, vol. 2, no. 1, p. 16019, Jun. 2016, doi: 10.1038/npjmgrav.2016.19.
- [87] T. B. Borak, L. H. Heilbronn, N. Krumland, and M. M. Weil, 'Design and dosimetry of a facility to study health effects following exposures to fission neutrons at low dose rates for long durations', *Int J Radiat Biol*, vol. 97, no. 8, pp. 1063–1076, Aug. 2021, doi: 10.1080/09553002.2019.1688884.
- [88] E. Afshinnekoo *et al.*, 'Fundamental Biological Features of Spaceflight: Advancing the Field to Enable Deep-Space Exploration', *Cell*, vol. 183, no. 5, pp. 1162–1184, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.10.050.
- [89] A. T. Kwok et al., 'Knee and Hip Joint Cartilage Damage from Combined Spaceflight Hazards of Low-Dose Radiation Less than 1 Gy and Prolonged Hindlimb Unloading', *Radiat Res*, vol. 191, no. 6, p. 497, Mar. 2019, doi: 10.1667/RR15216.1.
- [90] S. S. Panesar and K. Ashkan, 'Surgery in space', *British Journal of Surgery*, vol. 105, no. 10, pp. 1234–1243, Aug. 2018, doi: 10.1002/bjs.10908.
- [91] S. L. Castro-Wallace *et al.*, 'Nanopore DNA Sequencing and Genome Assembly on the International Space Station', *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, p. 18022, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-18364-0.
- [92] R. T. Scott *et al.*, 'Advancing the Integration of Biosciences Data Sharing to Further Enable Space Exploration', *Cell Rep*, vol. 33, no. 10, p. 108441, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.celrep.2020.108441.
- [93] R. Bellisle, C. Bjune, and D. Newman, 'Considerations for Wearable Sensors to Monitor Physical Performance During Spaceflight Intravehicular Activities', in 2020 42nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC), IEEE, Jul. 2020, pp. 4160–4164. doi: 10.1109/EMBC44109.2020.9175674.
- [94] D. L. Wallace *et al.*, 'CREB regulation of nucleus accumbens excitability mediates social isolation–induced behavioral deficits', *Nat Neurosci*, vol. 12, no. 2, pp. 200– 209, Feb. 2009, doi: 10.1038/nn.2257.
- [95] C. G. T. Tahimic *et al.*, 'Influence of Social Isolation During Prolonged Simulated Weightlessness by Hindlimb Unloading', *Front Physiol*, vol. 10, Sep. 2019, doi: 10.3389/fphys.2019.01147.

- [96] B. Crucian *et al.*, 'Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation', *Brain Behav Immun*, vol. 39, pp. 23–32, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.bbi.2014.01.011.
- [97] N. Leser and S. Wagner, 'The effects of acute social isolation on long-term social recognition memory', *Neurobiol Learn Mem*, vol. 124, pp. 97–103, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.nlm.2015.07.002.
- [98] J. I. Pagel and A. Choukèr, 'Effects of isolation and confinement on humansimplications for manned space explorations', *J Appl Physiol*, vol. 120, no. 12, pp. 1449–1457, Jun. 2016, doi: 10.1152/japplphysiol.00928.2015.
- [99] A. Beheshti, E. Cekanaviciute, D. J. Smith, and S. V. Costes, 'Global transcriptomic analysis suggests carbon dioxide as an environmental stressor in spaceflight: A systems biology GeneLab case study', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 4191, Mar. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-22613-1.
- [100] T. Münzel *et al.*, 'Adverse Cardiovascular Effects of Traffic Noise with a Focus on Nighttime Noise and the New WHO Noise Guidelines', *Annu Rev Public Health*, vol. 41, no. 1, pp. 309–328, Apr. 2020, doi: 10.1146/annurev-publhealth-081519-062400.
- [101] M. Durante and F. A. Cucinotta, 'Heavy ion carcinogenesis and human space exploration', *Nat Rev Cancer*, vol. 8, no. 6, pp. 465–472, Jun. 2008, doi: 10.1038/nrc2391.
- [102] M. Niemantsverdriet *et al.*, 'High and Low LET Radiation Differentially Induce Normal Tissue Damage Signals', *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics*, vol. 83, no. 4, pp. 1291–1297, Jul. 2012, doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.09.057.
- [103] S. Iosim, M. MacKay, C. Westover, and C. E. Mason, 'Translating current biomedical therapies for long duration, deep space missions', *Precis Clin Med*, vol. 2, no. 4, pp. 259–269, Dec. 2019, doi: 10.1093/pcmedi/pbz022.
- [104] C. Zeitlin *et al.*, 'Measurements of Energetic Particle Radiation in Transit to Mars on the Mars Science Laboratory', *Science (1979)*, vol. 340, no. 6136, pp. 1080– 1084, May 2013, doi: 10.1126/science.1235989.
- [105] R. L. Hughson, A. Helm, and M. Durante, 'Heart in space: effect of the extraterrestrial environment on the cardiovascular system', *Nat Rev Cardiol*, vol. 15, no. 3, pp. 167–180, Mar. 2018, doi: 10.1038/nrcardio.2017.157.

- [106] G. C. Demontis, M. M. Germani, E. G. Caiani, I. Barravecchia, C. Passino, and D. Angeloni, 'Human Pathophysiological Adaptations to the Space Environment', *Front Physiol*, vol. 8, Aug. 2017, doi: 10.3389/fphys.2017.00547.
- [107] F. Ferranti, M. Del Bianco, and C. Pacelli, 'Advantages and Limitations of Current Microgravity Platforms for Space Biology Research', *Applied Sciences*, vol. 11, no. 1, p. 68, Dec. 2020, doi: 10.3390/app11010068.
- [108] F. E. Garrett-Bakelman *et al.*, 'The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight', *Science (1979)*, vol. 364, no. 6436, Apr. 2019, doi: 10.1126/science.aau8650.
- [109] E. Afshinnekoo *et al.*, 'Fundamental Biological Features of Spaceflight: Advancing the Field to Enable Deep-Space Exploration', *Cell*, vol. 183, no. 5, pp. 1162–1184, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.10.050.
- [110] S. N. Nangle *et al.*, 'The case for biotech on Mars', *Nat Biotechnol*, vol. 38, no. 4, pp. 401–407, Apr. 2020, doi: 10.1038/s41587-020-0485-4.
- [111] Βασίλης Κωστάκης, Αλλάζοντας τον κόσμο με μια μπάλα. ΔΙΟΠΤΡΑ, 2024.
- [112] D. C. Berrios, J. Galazka, K. Grigorev, S. Gebre, and S. V. Costes, 'NASA GeneLab: interfaces for the exploration of space omics data', *Nucleic Acids Res*, vol. 49, no. D1, pp. D1515–D1522, Jan. 2021, doi: 10.1093/nar/gkaa887.
- [113] T. Barrett *et al.*, 'NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update', *Nucleic Acids Res*, vol. 41, no. D1, pp. D991–D995, Nov. 2012, doi: 10.1093/nar/gks1193.
- [114] R. Edgar, 'Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository', *Nucleic Acids Res*, vol. 30, no. 1, pp. 207–210, Jan. 2002, doi: 10.1093/nar/30.1.207.
- [115] Y. Perez-Riverol et al., 'The PRIDE database at 20 years: 2025 update', Nucleic Acids Res, vol. 53, no. D1, pp. D543–D553, Jan. 2025, doi: 10.1093/nar/gkae1011.
- [116] J. Pevsner, *Bioinformatics and Functional Genomics*. Wiley, 2009. doi: 10.1002/9780470451496.
- [117] Μ. Σαραφίδης, 'Εφαρμογή βΙΟπληροφορΙκών τεχνΙκών καΙ αλγορίθμων μηχανΙκής μάθησης με σκοπό την ανεύρεση δΙαγνωστΙκών, προγνωστΙκών καΙ προβλεπτΙκών βΙΟδεΙκτών γΙα τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης', PhD, ΕΜΠ, 2022.
- [118] A. Subramanian *et al.*, 'Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 102, no. 43, pp. 15545–15550, Oct. 2005, doi: 10.1073/pnas.0506580102.

- [119] G. K. Smyth, 'Linear Models and Empirical Bayes Methods for Assessing Differential Expression in Microarray Experiments', *Stat Appl Genet Mol Biol*, vol. 3, no. 1, pp. 1–25, Jan. 2004, doi: 10.2202/1544-6115.1027.
- [120] M. D. Robinson, D. J. McCarthy, and G. K. Smyth, '<tt>edgeR</tt>: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data', *Bioinformatics*, vol. 26, no. 1, pp. 139–140, Jan. 2010, doi: 10.1093/bioinformatics/btp616.
- [121] S. Anders and W. Huber, 'Differential expression analysis for sequence count data', Genome Biol, vol. 11, no. 10, p. R106, Oct. 2010, doi: 10.1186/gb-2010-11-10-r106.
- [122] Machine Learning: A Probabilistic Perspective, Kevin P. Murphy. MIT Press, 2012.
- [123] John Haugeland, Τεχνητή Νοημοσύνη: Σχεδιάζοντας τη νόηση: από την υπολογιστική θεωρία στις σύγχρονες ευφυείς μηχανές. Κάτοπτρο, 1992.
- [124] Michael Negnevitsky, Τεχνητή Νοημοσύνη: Αρχές και Εφαρμογές για την Ανάπτυζη Συστημάτων με Τεχνολογίες Νοημοσύνης. Εκδόσεις Τζιόλα, 2017.
- [125] Dan W. Patterson, Introduction to Artificial Intelligence and Expert Systems. Prentice Hall, 1990.
- [126] Robert J. Schalkoff, Artificial Intelligence: An Engineering Approach. McGraw-Hill, 1990.
- [127] H. B. D. M. H. B. O. D. J. Martin T. Hagan, Neural Network Design. Martin Hagan, 2014.
- [128] J. R. Berndt Müller, Neural Networks: An Introduction. Springer, 1995.
- [129] Ν. Russell, ΤΕΧΝΗΤΗ ΝΟΗΜΟΣΥΝΗ Μια σύγχρονη προσέγγιση. ΚΛΕΙΔΑΡΙΘΜΟΣ, 2021.
- [130] L. M. Sanders *et al.*, 'Biological research and self-driving labs in deep space supported by artificial intelligence', *Nat Mach Intell*, vol. 5, no. 3, pp. 208–219, Mar. 2023, doi: 10.1038/s42256-023-00618-4.
- [131] K. Li *et al.*, 'Explainable machine learning identifies multi-omics signatures of muscle response to spaceflight in mice', *NPJ Microgravity*, vol. 9, no. 1, p. 90, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41526-023-00337-5.
- [132] Δ. Μ. Κωνσταντίνος Διαμαντάρας, Μηχανική Μάθηση. Κλειδάριθμος, 2019.
- [133] Nils J. Nilsson, Artificial Intelligence: A New Synthesis. Morgan Kaufmann Publishers, Inc, 1998.
- [134] Tom M. Mitchell, Machine Learning. McGraw-Hill Education, 1997.
- [135] Robert Eric King, Υπολογιστική Νοημοσύνη στον Έλεγχο Συστημάτων. Τραυλός, 1998.

- [136] Γιώργος Ρίζος, Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα: Θεωρία & Εφαρμογές. Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών, 1996.
- [137] Σ.Γ. Τζαφέστας, Υπολογιστική Νοημοσύνη: Τόμος Α Μεθοδολογίες. Αυτοέκδοση, 2002.
- [138] Simon Haykin, Νευρωνικά Δίκτυα και Μηχανική Μάθηση. Παπασωτηρίου, 2010.
- [139] F. K. R. K. Detlef Nauck, Foundations of Neuro-Fuzzy Systems. John Wiley & Sons, 1997.
- [140] S. J. Pan and Q. Yang, 'A Survey on Transfer Learning', *IEEE Trans Knowl Data Eng*, vol. 22, no. 10, pp. 1345–1359, Oct. 2010, doi: 10.1109/TKDE.2009.191.
- [141] H.-C. Shin *et al.*, 'Deep Convolutional Neural Networks for Computer-Aided Detection: CNN Architectures, Dataset Characteristics and Transfer Learning', *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 35, no. 5, pp. 1285–1298, May 2016, doi: 10.1109/TMI.2016.2528162.
- [142] F. Zhuang et al., 'A Comprehensive Survey on Transfer Learning', Proceedings of the IEEE, vol. 109, no. 1, pp. 43–76, Jan. 2021, doi: 10.1109/JPROC.2020.3004555.
- [143] K. Weiss, T. M. Khoshgoftaar, and D. Wang, 'A survey of transfer learning', *J Big Data*, vol. 3, no. 1, p. 9, Dec. 2016, doi: 10.1186/s40537-016-0043-6.
- [144] X. Liu, Y. Xu, Y. Luo, and L. Teng, 'Prokaryotic and eukaryotic promoters identification based on residual network transfer learning', *Bioprocess Biosyst Eng*, vol. 45, no. 5, pp. 955–967, May 2022, doi: 10.1007/s00449-022-02716-w.
- [145] Biosignal Processing and Classification Using Computational Learning and Intelligence. Elsevier, 2022. doi: 10.1016/C2019-0-00985-5.
- [146] M. M. Rodríguez-Hernández, R. E. Pruneda, and J. M. Rodríguez-Díaz, 'Statistical Analysis of the Evolutive Effects of Language Development in the Resolution of Mathematical Problems in Primary School Education', *Mathematics*, vol. 9, no. 10, p. 1081, May 2021, doi: 10.3390/math9101081.
- [147] H. N. K. Al-Behadili, K. R. Ku-Mahamud, and R. Sagban, 'Rule pruning techniques in the ant-miner classification algorithm and its variants: A review', in 2018 IEEE Symposium on Computer Applications & Industrial Electronics (ISCAIE), IEEE, Apr. 2018, pp. 78–84. doi: 10.1109/ISCAIE.2018.8405448.
- [148] M. Belkin, D. Hsu, S. Ma, and S. Mandal, 'Reconciling modern machine-learning practice and the classical bias-variance trade-off', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 116, no. 32, pp. 15849–15854, Aug. 2019, doi: 10.1073/pnas.1903070116.

- [149] L. Gautier, L. Cope, B. M. Bolstad, and R. A. Irizarry, 'affy—analysis of Affymetrix GeneChip data at the probe level', Bioinformatics, vol. 20, no. 3, pp. 307–315, Feb. 2004, doi: 10.1093/bioinformatics/btg405.
- [150] M. E. Ritchie *et al.*, 'limma powers differential expression analyses for RNAsequencing and microarray studies', *Nucleic Acids Res*, vol. 43, no. 7, pp. e47–e47, Apr. 2015, doi: 10.1093/nar/gkv007.
- [151] B. S. Carvalho and R. A. Irizarry, 'A framework for oligonucleotide microarray preprocessing', *Bioinformatics*, vol. 26, no. 19, pp. 2363–2367, Oct. 2010, doi: 10.1093/bioinformatics/btq431.
- [152] Y. Benjamini and Y. Hochberg, 'Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing', *J R Stat Soc Series B Stat Methodol*, vol. 57, no. 1, pp. 289–300, Jan. 1995, doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- [153] D. W. Huang, B. T. Sherman, and R. A. Lempicki, 'Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources', *Nat Protoc*, vol. 4, no. 1, pp. 44–57, Jan. 2009, doi: 10.1038/nprot.2008.211.
- [154] B. T. Sherman *et al.*, 'DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update)', *Nucleic Acids Res*, vol. 50, no. W1, pp. W216–W221, Jul. 2022, doi: 10.1093/nar/gkac194.
- [155] N. V. Chawla, K. W. Bowyer, L. O. Hall, and W. P. Kegelmeyer, 'SMOTE: Synthetic Minority Over-sampling Technique', *Journal of Artificial Intelligence Research*, vol. 16, pp. 321–357, Jun. 2002, doi: 10.1613/jair.953.
- [156] F. Pedregosa *et al.*, 'Scikit-learn: Machine Learning in Python', J. Mach. Learn. Res., vol. 12, no. null, pp. 2825–2830, Nov. 2011.
- [157] G. Van Rossum and F. L. Drake, *Python 3 Reference Manual*. Scotts Valley, CA: CreateSpace, 2009.
- [158] T. Developers, 'TensorFlow', Oct. 2024, Zenodo. doi: 10.5281/zenodo.13989084.
- [159] M. Waskom, 'seaborn: statistical data visualization', J Open Source Softw, vol. 6, no. 60, p. 3021, Apr. 2021, doi: 10.21105/joss.03021.
- [160] J. D. Hunter, 'Matplotlib: A 2D Graphics Environment', *Comput Sci Eng*, vol. 9, no. 3, pp. 90–95, 2007, doi: 10.1109/MCSE.2007.55.
- [161] C. R. Harris *et al.*, 'Array programming with NumPy', *Nature*, vol. 585, no. 7825, pp. 357–362, Sep. 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2649-2.
- [162] R. J. White and M. Averner, 'Humans in space', *Nature*, vol. 409, no. 6823, pp. 1115–1118, Feb. 2001, doi: 10.1038/35059243.

- [163] E. R. Morey-Holton, 'The impact of gravity on life', in *Evolution on Planet Earth*, Elsevier, 2003, pp. 143–159. doi: 10.1016/B978-012598655-7/50036-7.
- [164] R. J. Reynolds *et al.*, 'Validating Causal Diagrams of Human Health Risks for Spaceflight: An Example Using Bone Data from Rodents', *Biomedicines*, vol. 10, no. 9, p. 2187, Sep. 2022, doi: 10.3390/biomedicines10092187.
- [165] A. Beheshti, E. Cekanaviciute, D. J. Smith, and S. V. Costes, 'Global transcriptomic analysis suggests carbon dioxide as an environmental stressor in spaceflight: A systems biology GeneLab case study', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 4191, Mar. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-22613-1.
- [166] R. Barker, S. V. Costes, J. Miller, S. G. Gebre, J. Lombardino, and S. Gilroy, 'Rad-Bio-App: a discovery environment for biologists to explore spaceflight-related radiation exposures', *NPJ Microgravity*, vol. 7, no. 1, p. 15, May 2021, doi: 10.1038/s41526-021-00143-x.
- [167] K. Adamopoulos, D. Koutsouris, A. Zaravinos, and G. I. Lambrou, 'Gravitational Influence on Human Living Systems and the Evolution of Species on Earth', *Molecules*, vol. 26, no. 9, p. 2784, May 2021, doi: 10.3390/molecules26092784.
- [168] K. I. Adamopoulos, L. M. Sanders, and S. V. Costes, 'NASA GeneLab derived microarray studies of Mus musculus and Homo sapiens organisms in altered gravitational conditions', *NPJ Microgravity*, vol. 10, no. 1, p. 49, Apr. 2024, doi: 10.1038/s41526-024-00392-6.
- [169] G. Gambara *et al.*, 'Gene Expression Profiling in Slow-Type Calf Soleus Muscle of 30 Days Space-Flown Mice', *PLoS One*, vol. 12, no. 1, p. e0169314, Jan. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0169314.
- [170] E. Albi *et al.*, 'Impact of Gravity on Thyroid Cells', *Int J Mol Sci*, vol. 18, no. 5, p. 972, May 2017, doi: 10.3390/ijms18050972.
- [171] M. Wehland *et al.*, 'The Impact of Hypergravity and Vibration on Gene and Protein Expression of Thyroid Cells', *Microgravity Sci Technol*, vol. 28, no. 3, pp. 261–274, Jun. 2016, doi: 10.1007/s12217-015-9474-5.
- [172] E. Albi *et al.*, 'Thyrotropin Receptor and Membrane Interactions in FRTL-5 Thyroid Cell Strain in Microgravity', *Astrobiology*, vol. 11, no. 1, pp. 57–64, Jan. 2011, doi: 10.1089/ast.2010.0519.
- [173] N. A. N. D. R. M. A. N. D. B. L. A. N. D. H. N. A. N. D. S. L. A. N. D. K.-J. M. Fuentes Tania I. AND Appleby, 'Simulated Microgravity Exerts an Age-Dependent Effect on the Differentiation of Cardiovascular Progenitors Isolated from the Human

Heart', *PLoS One*, vol. 10, no. 7, pp. 1–15, Nov. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0132378.

- [174] F. E. Garrett-Bakelman *et al.*, 'The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight', *Science (1979)*, vol. 364, no. 6436, Apr. 2019, doi: 10.1126/science.aau8650.
- [175] C. R. White and R. S. Seymour, 'THE ROLE OF GRAVITY IN THE EVOLUTION OF MAMMALIAN BLOOD PRESSURE', *Evolution (N Y)*, vol. 68, no. 3, pp. 901–908, Mar. 2014, doi: 10.1111/evo.12298.
- [176] R. Jha *et al.*, 'Simulated Microgravity and 3D Culture Enhance Induction, Viability, Proliferation and Differentiation of Cardiac Progenitors from Human Pluripotent Stem Cells', *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, p. 30956, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep30956.
- [177] A. Wnorowski *et al.*, 'Effects of Spaceflight on Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocyte Structure and Function', *Stem Cell Reports*, vol. 13, no. 6, pp. 960–969, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.stemcr.2019.10.006.
- [178] J.-I. Buchheim *et al.*, 'Stress Related Shift Toward Inflammaging in Cosmonauts After Long-Duration Space Flight', *Front Physiol*, vol. 10, Feb. 2019, doi: 10.3389/fphys.2019.00085.
- [179] J. B. Boonyaratanakornkit *et al.*, 'Key gravity-sensitive signaling pathways drive T-cell activation', *The FASEB Journal*, vol. 19, no. 14, pp. 2020–2022, Dec. 2005, doi: 10.1096/fj.05-3778fje.
- [180] C. S. Thiel *et al.*, 'Stability of gene expression in human T cells in different gravity environments is clustered in chromosomal region 11p15.4', *NPJ Microgravity*, vol. 3, no. 1, p. 22, Aug. 2017, doi: 10.1038/s41526-017-0028-6.
- [181] C. Lescale *et al.*, 'Hind limb unloading, a model of spaceflight conditions, leads to decreased B lymphopoiesis similar to aging', *The FASEB Journal*, vol. 29, no. 2, pp. 455–463, Feb. 2015, doi: 10.1096/fj.14-259770.
- [182] H. Morita, C. Abe, and K. Tanaka, 'Long-term exposure to microgravity impairs vestibulo-cardiovascular reflex', *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, p. 33405, Sep. 2016, doi: 10.1038/srep33405.
- [183] M. F. Reschke, S. J. Wood, and G. Clément, 'Ocular Counter Rolling in Astronauts After Short- and Long-Duration Spaceflight', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 7747, May 2018, doi: 10.1038/s41598-018-26159-0.
- [184] E. Hallgren *et al.*, 'Decreased otolith-mediated vestibular response in 25 astronauts induced by long-duration spaceflight', *J Neurophysiol*, vol. 115, no. 6, pp. 3045– 3051, Jun. 2016, doi: 10.1152/jn.00065.2016.

- [185] M. Jamon, 'The development of vestibular system and related functions in mammals: impact of gravity', *Front Integr Neurosci*, vol. 8, 2014, doi: 10.3389/fnint.2014.00011.
- [186] U. C. Dadwal *et al.*, 'The effects of spaceflight and fracture healing on distant skeletal sites', *Sci Rep*, vol. 9, no. 1, p. 11419, Aug. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-47695-3.
- [187] N. Guéguinou *et al.*, 'Stress response and humoral immune system alterations related to chronic hypergravity in mice', *Psychoneuroendocrinology*, vol. 37, no. 1, pp. 137–147, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.05.015.
- [188] S. D. Mhatre *et al.*, 'Neuro-consequences of the spaceflight environment', *Neurosci Biobehav Rev*, vol. 132, pp. 908–935, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.09.055.
- [189] D. Santucci *et al.*, 'Evaluation of Gene, Protein and Neurotrophin Expression in the Brain of Mice Exposed to Space Environment for 91 Days', *PLoS One*, vol. 7, no. 7, p. e40112, Jul. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0040112.
- [190] A. Frigeri *et al.*, 'Effect of microgravity on gene expression in mouse brain', *Exp* Brain Res, vol. 191, no. 3, pp. 289–300, Nov. 2008, doi: 10.1007/s00221-008-1523-5.
- [191] J. M. Holley, S. Stanbouly, M. J. Pecaut, J. S. Willey, M. Delp, and X. W. Mao, 'Characterization of gene expression profiles in the mouse brain after 35 days of spaceflight mission', *NPJ Microgravity*, vol. 8, no. 1, p. 35, Aug. 2022, doi: 10.1038/s41526-022-00217-4.
- [192] J. Fitzgerald, J. Endicott, U. Hansen, and C. Janowitz, 'Articular cartilage and sternal fibrocartilage respond differently to extended microgravity', NPJ Microgravity, vol. 5, no. 1, p. 3, Feb. 2019, doi: 10.1038/s41526-019-0063-6.
- [193] G. Gambara *et al.*, 'Microgravity-Induced Transcriptome Adaptation in Mouse Paraspinal longissimus dorsi Muscle Highlights Insulin Resistance-Linked Genes.', *Front Physiol*, vol. 8, p. 279, 2017, doi: 10.3389/fphys.2017.00279.
- [194] N. Chakraborty *et al.*, 'Gene-metabolite networks associated with impediment of bone fracture repair in spaceflight', *Comput Struct Biotechnol J*, vol. 19, pp. 3507– 3520, 2021, doi: 10.1016/j.csbj.2021.05.050.
- [195] G. Gambara *et al.*, 'Gene Expression Profiling in Slow-Type Calf Soleus Muscle of 30 Days Space-Flown Mice', *PLoS One*, vol. 12, no. 1, pp. e0169314-, Jan. 2017,
 [Online]. Available: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169314

- [196] D. Blottner *et al.*, 'Reciprocal Homer1a and Homer2 Isoform Expression Is a Key Mechanism for Muscle Soleus Atrophy in Spaceflown Mice', *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 1, p. 75, Dec. 2021, doi: 10.3390/ijms23010075.
- [197] C. Däpp, S. Schmutz, H. Hoppeler, and M. Flück, 'Transcriptional reprogramming and ultrastructure during atrophy and recovery of mouse soleus muscle', *Physiol Genomics*, vol. 20, no. 1, pp. 97–107, Dec. 2004, doi: 10.1152/physiolgenomics.00100.2004.
- [198] M. Flück, C. Däpp, S. Schmutz, E. Wit, and H. Hoppeler, 'Transcriptional profiling of tissue plasticity: role of shifts in gene expression and technical limitations', J Appl Physiol, vol. 99, no. 2, pp. 397–413, Aug. 2005, doi: 10.1152/japplphysiol.00050.2005.
- [199] D. J. Mazzatti, M. A. Smith, R. C. Oita, F.-L. Lim, A. J. White, and M. B. Reid, 'Muscle unloading-induced metabolic remodeling is associated with acute alterations in PPARδ and UCP-3 expression', *Physiol Genomics*, vol. 34, no. 2, pp. 149–161, Jul. 2008, doi: 10.1152/physiolgenomics.00281.2007.
- [200] D. L. Allen *et al.*, 'Effects of spaceflight on murine skeletal muscle gene expression', *J Appl Physiol*, vol. 106, no. 2, pp. 582–595, Feb. 2009, doi: 10.1152/japplphysiol.90780.2008.
- [201] S. J. Pardo et al., 'Simulated microgravity using the Random Positioning Machine inhibits differentiation and alters gene expression profiles of 2T3 preosteoblasts', *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, vol. 288, no. 6, pp. C1211– C1221, Jun. 2005, doi: 10.1152/ajpcell.00222.2004.
- [202] M. J. Patel *et al.*, 'Identification of mechanosensitive genes in osteoblasts by comparative microarray studies using the rotating wall vessel and the random positioning machine', *J Cell Biochem*, vol. 101, no. 3, pp. 587–599, Jun. 2007, doi: 10.1002/jcb.21218.
- [203] A. Camirand, D. Goltzman, A. Gupta, M. Kaouass, D. Panda, and A. Karaplis, 'The Role of Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) in Osteoblast Response to Microgravity: Mechanistic Implications for Osteoporosis Development', *PLoS One*, vol. 11, no. 7, p. e0160034, Jul. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0160034.
- [204] Y. Uda *et al.*, 'Global transcriptomic analysis of a murine osteocytic cell line subjected to spaceflight', *The FASEB Journal*, vol. 35, no. 5, May 2021, doi: 10.1096/fj.202100059R.
- [205] Y. Wang et al., 'GeneChip Expression Profiling Reveals the Alterations of Energy Metabolism Related Genes in Osteocytes under Large Gradient High Magnetic

Fields', *PLoS One*, vol. 10, no. 1, p. e0116359, Jan. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0116359.

- [206] Y. Sambandam *et al.*, 'Microarray Profile of Gene Expression During Osteoclast Differentiation in Modelled Microgravity', *J Cell Biochem*, vol. 111, no. 5, pp. 1179–1187, Dec. 2010, doi: 10.1002/jcb.22840.
- [207] M. Monticone, Y. Liu, N. Pujic, and R. Cancedda, 'Activation of nervous system development genes in bone marrow derived mesenchymal stem cells following spaceflight exposure', *J Cell Biochem*, vol. 111, no. 2, pp. 442–452, Oct. 2010, doi: 10.1002/jcb.22765.
- [208] M. T. Ortega, N. Lu, and S. K. Chapes, 'Evaluation of in vitro macrophage differentiation during space flight', *Advances in Space Research*, vol. 49, no. 10, pp. 1441–1455, May 2012, doi: 10.1016/j.asr.2012.02.021.
- [209] S. Chapes and M. Ortega, 'Understanding Macrophage Differentiation During Space Flight: The Importance of Ground-Based Experiments Before Space Flight', *Recent Pat Space Technol*, vol. 3, no. 1, pp. 40–47, Jul. 2013, doi: 10.2174/18776116112029990011.
- [210] H. Tronnier, M. Wiebusch, and U. Heinrich, 'Change in Skin Physiological Parameters in Space – Report on and Results of the First Study on Man', *Skin Pharmacol Physiol*, vol. 21, no. 5, pp. 283–292, 2008, doi: 10.1159/000148045.
- [211] T. Neutelings *et al.*, 'Skin physiology in microgravity: a 3-month stay aboard ISS induces dermal atrophy and affects cutaneous muscle and hair follicles cycling in mice', *NPJ Microgravity*, vol. 1, no. 1, p. 15002, May 2015, doi: 10.1038/npjmgrav.2015.2.
- [212] X. W. Mao *et al.*, 'Biological and metabolic response in STS-135 space-flown mouse skin', *Free Radic Res*, vol. 48, no. 8, pp. 890–897, Aug. 2014, doi: 10.3109/10715762.2014.920086.
- [213] T. W. Lebsack *et al.*, 'Microarray analysis of spaceflown murine thymus tissue reveals changes in gene expression regulating stress and glucocorticoid receptors', J *Cell Biochem*, vol. 110, no. 2, pp. 372–381, May 2010, doi: 10.1002/jcb.22547.
- [214] A. Beheshti, S. Ray, H. Fogle, D. Berrios, and S. V. Costes, 'A microRNA signature and TGF-β1 response were identified as the key master regulators for spaceflight response', *PLoS One*, vol. 13, no. 7, p. e0199621, Jul. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0199621.
- [215] A. Chopard *et al.*, 'Large-scale mRNA analysis of female skeletal muscles during 60 days of bed rest with and without exercise or dietary protein supplementation as

countermeasures', *Physiol Genomics*, vol. 38, no. 3, pp. 291–302, Aug. 2009, doi: 10.1152/physiolgenomics.00036.2009.

- [216] E. Rullman, R. Fernandez-Gonzalo, I. B. Mekjavić, T. Gustafsson, and O. Eiken, 'MEF2 as upstream regulator of the transcriptome signature in human skeletal muscle during unloading', *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative* and Comparative Physiology, vol. 315, no. 4, pp. R799–R809, Oct. 2018, doi: 10.1152/ajpregu.00452.2017.
- [217] E. Rullman, I. B. Mekjavic, H. Fischer, and O. Eiken, 'PlanHab (Planetary Habitat Simulation): the combined and separate effects of 21 days bed rest and hypoxic confinement on human skeletal muscle miRNA expression', *Physiol Rep*, vol. 4, no. 8, p. e12753, Apr. 2016, doi: 10.14814/phy2.12753.
- [218] A. C. Alibegovic *et al.*, 'Insulin resistance induced by physical inactivity is associated with multiple transcriptional changes in skeletal muscle in young men', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 299, no. 5, pp. E752–E763, Nov. 2010, doi: 10.1152/ajpendo.00590.2009.
- [219] S. Mayer-Wagner *et al.*, 'Effects of single and combined low frequency electromagnetic fields and simulated microgravity on gene expression of human mesenchymal stem cells during chondrogenesis', *Archives of Medical Science*, vol. 14, no. 3, pp. 608–616, 2018, doi: 10.5114/aoms.2016.59894.
- [220] S. Bradamante *et al.*, 'SCD Stem Cell Differentiation Toward Osteoblast Onboard the International Space Station', *Microgravity Sci Technol*, vol. 30, no. 5, pp. 713– 729, Oct. 2018, doi: 10.1007/s12217-018-9653-2.
- [221] M. Terada *et al.*, 'Effects of a Closed Space Environment on Gene Expression in Hair Follicles of Astronauts in the International Space Station', *PLoS One*, vol. 11, no. 3, p. e0150801, Mar. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0150801.
- [222] Y. Zhang *et al.*, 'Transient gene and microRNA expression profile changes of confluent human fibroblast cells in spaceflight', *The FASEB Journal*, vol. 30, no. 6, pp. 2211–2224, Jun. 2016, doi: 10.1096/fj.201500121.
- [223] T. Lu *et al.*, 'Cellular responses and gene expression profile changes due to bleomycin-induced DNA damage in human fibroblasts in space', *PLoS One*, vol. 12, no. 3, p. e0170358, Mar. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0170358.
- [224] N. E. Ward, N. R. Pellis, S. A. Risin, and D. Risin, 'Gene expression alterations in activated human T-cells induced by modeled microgravity', *J Cell Biochem*, vol. 99, no. 4, pp. 1187–1202, Nov. 2006, doi: 10.1002/jcb.20988.

- [225] T. T. Chang *et al.*, 'The Rel/NF-κB pathway and transcription of immediate early genes in T cell activation are inhibited by microgravity', *J Leukoc Biol*, vol. 92, no. 6, pp. 1133–1145, Dec. 2012, doi: 10.1189/jlb.0312157.
- [226] C. S. Thiel *et al.*, 'Dynamic gene expression response to altered gravity in human T cells', *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, p. 5204, Jul. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-05580-x.
- [227] C. S. Thiel *et al.*, 'Stability of gene expression in human T cells in different gravity environments is clustered in chromosomal region 11p15.4', *NPJ Microgravity*, vol. 3, no. 1, p. 22, Aug. 2017, doi: 10.1038/s41526-017-0028-6.
- [228] S. Tauber, S. Christoffel, C. S. Thiel, and O. Ullrich, 'Transcriptional Homeostasis of Oxidative Stress-Related Pathways in Altered Gravity', *Int J Mol Sci*, vol. 19, no. 9, p. 2814, Sep. 2018, doi: 10.3390/ijms19092814.
- [229] J. Vogel, C. S. Thiel, S. Tauber, C. Stockmann, M. Gassmann, and O. Ullrich, 'Expression of Hypoxia-Inducible Factor 1α (HIF-1α) and Genes of Related Pathways in Altered Gravity', *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 2, p. 436, Jan. 2019, doi: 10.3390/ijms20020436.
- [230] C. S. Thiel *et al.*, 'Rapid coupling between gravitational forces and the transcriptome in human myelomonocytic U937 cells', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 13267, Sep. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-31596-y.
- [231] H. Fu, F. Su, J. Zhu, X. Zheng, and C. Ge, 'Effect of simulated microgravity and ionizing radiation on expression profiles of miRNA, lncRNA, and mRNA in human lymphoblastoid cells', *Life Sci Space Res (Amst)*, vol. 24, pp. 1–8, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.lssr.2019.10.009.
- [232] N. Chakraborty, A. Gautam, S. Muhie, S.-A. Miller, M. Jett, and R. Hammamieh, 'An integrated omics analysis: impact of microgravity on host response to lipopolysaccharide in vitro', *BMC Genomics*, vol. 15, no. 1, p. 659, Dec. 2014, doi: 10.1186/1471-2164-15-659.
- [233] S. Versari, G. Longinotti, L. Barenghi, J. A. M. Maier, and S. Bradamante, 'The challenging environment on board the International Space Station affects endothelial cell function by triggering oxidative stress through thioredoxin interacting protein overexpression: the ESA-SPHINX experiment', *The FASEB Journal*, vol. 27, no. 11, pp. 4466–4475, Nov. 2013, doi: 10.1096/fj.13-229195.
- [234] C. Girardi *et al.*, 'Integration Analysis of MicroRNA and mRNA Expression Profiles in Human Peripheral Blood Lymphocytes Cultured in Modeled Microgravity', *Biomed Res Int*, vol. 2014, pp. 1–16, 2014, doi: 10.1155/2014/296747.

- [235] C. Girardi *et al.*, 'Analysis of miRNA and mRNA Expression Profiles Highlights Alterations in Ionizing Radiation Response of Human Lymphocytes under Modeled Microgravity', *PLoS One*, vol. 7, no. 2, p. e31293, Feb. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0031293.
- [236] T. I. Fuentes *et al.*, 'Simulated Microgravity Exerts an Age-Dependent Effect on the Differentiation of Cardiovascular Progenitors Isolated from the Human Heart', *PLoS One*, vol. 10, no. 7, p. e0132378, Jul. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0132378.
- [237] M. Bisserier *et al.*, 'Astronauts Plasma-Derived Exosomes Induced Aberrant EZH2-Mediated H3K27me3 Epigenetic Regulation of the Vitamin D Receptor', *Front Cardiovasc Med*, vol. 9, Jun. 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.855181.
- [238] P. Vidyasekar *et al.*, 'Genome Wide Expression Profiling of Cancer Cell Lines Cultured in Microgravity Reveals Significant Dysregulation of Cell Cycle and MicroRNA Gene Networks', *PLoS One*, vol. 10, no. 8, p. e0135958, Aug. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0135958.
- [239] H. G. Hansma, 'The Power of Crowding for the Origins of Life', Origins of Life and Evolution of Biospheres, vol. 44, no. 4, pp. 307–311, Dec. 2014, doi: 10.1007/s11084-014-9382-5.
- [240] A. Fallah-Araghi et al., 'Enhanced Chemical Synthesis at Soft Interfaces: A Universal Reaction-Adsorption Mechanism in Microcompartments', Phys Rev Lett, vol. 112, no. 2, p. 028301, Jan. 2014, doi: 10.1103/PhysRevLett.112.028301.
- [241] H. G. Hansma, 'Mechanical Energy before Chemical Energy at the Origins of Life?', Sci, vol. 2, no. 4, p. 88, Nov. 2020, doi: 10.3390/sci2040088.
- [242] P. Shapshak, 'Astrobiology an opposing view', *Bioinformation*, vol. 14, no. 06, pp. 346–349, Jun. 2018, doi: 10.6026/97320630014346.
- [243] H. B. Lillywhite, 'Snakes, Blood Circulation and Gravity', *Sci Am*, vol. 259, no. 6, pp. 92–98, Dec. 1988, doi: 10.1038/scientificamerican1288-92.
- [244] D. Perez, C. M. Sheehy, and H. B. Lillywhite, 'Variation of organ position in snakes', *J Morphol*, vol. 280, no. 12, pp. 1798–1807, Dec. 2019, doi: 10.1002/jmor.21065.
- [245] P. A. Wright and A. J. Turko, 'Amphibious fishes: evolution and phenotypic plasticity', *Journal of Experimental Biology*, vol. 219, no. 15, pp. 2245–2259, Aug. 2016, doi: 10.1242/jeb.126649.
- [246] E. Brunt, A. J. Turko, G. R. Scott, and P. A. Wright, 'Amphibious fish jump better on land after acclimation to a terrestrial environment', *Journal of Experimental Biology*, Jan. 2016, doi: 10.1242/jeb.140970.

- [247] D. Volkmann and F. Baluška, 'Gravity: one of the driving forces for evolution', *Protoplasma*, vol. 229, no. 2–4, pp. 143–148, Dec. 2006, doi: 10.1007/s00709-006-0200-4.
- [248] A. Bauer-Mehren, M. Rautschka, F. Sanz, and L. I. Furlong, 'DisGeNET: a Cytoscape plugin to visualize, integrate, search and analyze gene–disease networks', *Bioinformatics*, vol. 26, no. 22, pp. 2924–2926, Nov. 2010, doi: 10.1093/bioinformatics/btq538.
- [249] K. G. Becker, K. C. Barnes, T. J. Bright, and S. A. Wang, 'The Genetic Association Database', *Nat Genet*, vol. 36, no. 5, pp. 431–432, 2004, doi: 10.1038/ng0504-431.
- [250] A. M. Alpatov, E. A. I'lin, V. V Antipov, and M. G. Tairbekov, '[Biological experiments on "Kosmos-1887"].', *Kosm Biol Aviakosm Med*, vol. 23, no. 5, pp. 26– 32, 1989.
- [251] Y. Nishida *et al.*, 'Effects and biological limitations of +Gz acceleration on the autonomic functions-related circulation in rats', *The Journal of Physiological Sciences*, vol. 66, no. 6, pp. 447–462, Nov. 2016, doi: 10.1007/s12576-016-0461-4.
- [252] T. Ohira, F. Kawano, T. Ohira, K. Goto, and Y. Ohira, 'Responses of skeletal muscles to gravitational unloading and/or reloading', *The Journal of Physiological Sciences*, vol. 65, no. 4, pp. 293–310, Jul. 2015, doi: 10.1007/s12576-015-0375-6.
- [253] H. D. Stupak and S. Y. Park, 'Gravitational forces, negative pressure and facial structure in the genesis of airway dysfunction during sleep: a review of the paradigm', *Sleep Med*, vol. 51, pp. 125–132, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.sleep.2018.06.016.
- [254] I. Y. Akparibo, J. Anderson, and E. Chumbley, Aerospace Gravitational Effects. 2025.
- [255] N. Guettler *et al.*, 'Management of cardiac conduction abnormalities and arrhythmia in aircrew', *Heart*, vol. 105, no. Suppl 1, pp. s38–s49, Jan. 2019, doi: 10.1136/heartjnl-2018-313057.
- [256] M. Shen and W. H. Frishman, 'Effects of Spaceflight on Cardiovascular Physiology and Health', *Cardiol Rev*, vol. 27, no. 3, pp. 122–126, May 2019, doi: 10.1097/CRD.00000000000236.
- [257] T. Najrana and J. Sanchez-Esteban, 'Mechanotransduction as an Adaptation to Gravity', *Front Pediatr*, vol. 4, Dec. 2016, doi: 10.3389/fped.2016.00140.
- [258] C. A. Nickerson, C. M. Ott, J. W. Wilson, R. Ramamurthy, and D. L. Pierson, 'Microbial Responses to Microgravity and Other Low-Shear Environments',

Microbiology and Molecular Biology Reviews, vol. 68, no. 2, pp. 345–361, Jun. 2004, doi: 10.1128/MMBR.68.2.345-361.2004.

- [259] G. Sonnenfeld, 'Immune Responses in Space Flight', *Int J Sports Med*, vol. 19, no.
 S 3, pp. S195–S204, Jul. 1998, doi: 10.1055/s-2007-971992.
- [260] J. Z. Kiss, C. Wolverton, S. E. Wyatt, K. H. Hasenstein, and J. J. W. A. van Loon, 'Comparison of Microgravity Analogs to Spaceflight in Studies of Plant Growth and Development', *Front Plant Sci*, vol. 10, Dec. 2019, doi: 10.3389/fpls.2019.01577.
- [261] B. Moulia, R. Bastien, H. Chauvet-Thiry, and N. Leblanc-Fournier, 'Posture control in land plants: growth, position sensing, proprioception, balance, and elasticity', J *Exp Bot*, vol. 70, no. 14, pp. 3467–3494, Jul. 2019, doi: 10.1093/jxb/erz278.
- [262] A. Groover, 'Gravitropisms and reaction woods of forest trees evolution, functions and mechanisms', *New Phytologist*, vol. 211, no. 3, pp. 790–802, Aug. 2016, doi: 10.1111/nph.13968.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

- MASON, C.E., GREEN, J., ADAMOPOULOS, K.I. ET AL. A SECOND SPACE AGE SPANNING OMICS, PLATFORMS AND MEDICINE ACROSS ORBITS. NATURE 632, 995– 1008 (2024). <u>https://doi.org/10.1038/s41586-024-07586-8</u>
- Adamopoulos, K.I., Sanders, L.M. & Costes, S.V. NASA GeneLab derived microarray studies of Mus musculus and Homo sapiens organisms in altered gravitational conditions. NPJ Microgravity 10, 49 (2024). https://doi.org/10.1038/s41526-024-00392-6
- Adamopoulos, K.; Koutsouris, D.; Zaravinos, A.; Lambrou, G.I. Gravitational Influence on Human Living Systems and the Evolution of Species on Earth. Molecules 2021, 26, 2784. <u>https://doi.org/10.3390/molecules26092784</u>
- Adamopoulos, K.; Koutsouris, D.; Zaravinos, A.; Lambrou, G.I. Poincaré Maps and Aperiodic Oscillations in Leukemic Cell Proliferation Reveal Chaotic Dynamics. Cells 2021, 10, 3584. <u>https://doi.org/10.3390/cells10123584</u>
- Adamopoulos, K., Koutsouris, D., & Lambrou, G. I. Chaotic mechanics and biological systems: The "Lapis Philosophorum" for the prediction of biological systems? Arch Hellen Med, 39(4), July-August 2022, 550-569 <u>http://srv54.mednet.gr/archives/2022-4/550abs.html</u>
- Adamopoulos, K.I., Sanders, L.M., Hoarfrost, A. & Costes, S.V. Deep Cross-Organism Generalization of the Physiological Effects of Spaceflight from Mammalian Model Organisms to Humans. American Society for Gravitational and Space Research (ASGSR) (Accepted)