Πολυτεχνείο Κρήτης

Τμήμα Ηλέκτρονικών Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών

Διπλωματική εργασία

‘Διαμερισματική μοντελοποίηση με χρήση της πλατφορμας E-Cell’

Κάσσης Νικόλαος

Επιτροπή: Αναπλ.Καθ.Κωνσταντίνος Μπάλας (Επιβλέπων)

Καθ. Μιχαήλ Ζερβάκης

Καθ. Γεώργιος Σταυρακάκης

Χανιά 2010

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η ενασχόληση με τομείς που δεν είχα ασχοληθεί ιδιαίτερα πριν, όπως αυτούς της φαρμακοκινητικής , βιολογίας, χημείας και φαρμακολογίας συχνά με οδήγησαν σε αδιέξοδο . Οι δυσκολίες αυτές προσπεράστηκαν με την πολύτιμη βοήθεια των ανθρώπων που με περιέβαλαν στην δύσκολη αυτή προσπάθεια.

Πρώτα από όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Κωνσταντίνο Μπάλα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου την παρούσα μελέτη και για την πολύτιμη βοήθειά του όποτε βρισκόμουν σε αδιέξοδο.

Ιδιάιτερες ευχαριστίες οφείλω εκ βαθέων στον κύριο Παπουτσόγλου Γεώργιο ο οποίος μου στάθηκε από κοντά σε όλη την διάρκεια της εργασίας.Με βοήθησε σε όλους τους τομείς της μελέτης αυτής τόσο ψυχολογικά όσο και με τις γνώσεις που μου παρείχε σε ότι πρόβλημα παρουσιαζόταν διαθέτοντάς μου ένα μεγάλο μέρος του πολύτιμου χρόνου του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές του τμήματος ΗΜΜΥ κύριο Σταυρακάκη Γεώργιο και κύριο Ζερβάκη Μιχαήλ για την συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή της διπλωματικής εργασίας.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τα παιδιά του εργαστηρίου ηλεκτρονικής, Τσάπρα Αθανάσιο και Ποτηράκη Αντώνιο, τόσο για την ψυχολογική βοήθεια όσο και για την βοήθεια που μου παρείχαν μέσω των δικών τους μελετών.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τόσο την οικογένειά μου όσο και τους φίλους μου που μου στάθηκαν σε όλη αυτή την δύσκολη και αγχώδη περίοδο της ζωής μου.

Πολυτεχνείο Κρήτης

Τμήμα Ηλέκτρονικών Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών

Διπλωματική Εργασία

'Διαμερισματική μοντελοποίηση με χρήση της πλατφορμας E-Cell'

Κάσσης Νικόλαος

Επιβλέπων Καθηγητής Κωνσταντίνος Μπάλας

Περίληψη

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί την τρίτη κατά σειρά αιτία θανάτου για τις γυναίκες σήμερα. Η διάγνωσή του βασίζεται στην οπτική εξέταση του ιστού. Η τοπική εφαρμογή οξικού οξέος τονίζει τις δυσπλαστικές περιοχές μέσω της λεύκανσης τους, δρώντας ως βιολογικός δείκτης, η ένταση και η χρονική διάρκεια της οποίας εξαρτάται από το προκαρκινικό στάδιο του επιθηλίου. Αφού αναλύσαμε το βιολογικό υπόβαθρο όσον αφορά τους επιθηλιακούς ιστούς, προχωρήσαμε στον καθορισμό των βιοφυσικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάχυση του οξικού οξέως. Βασιζόμενοι στις αρχές που διέπουν την φαρμακοκινητική και την διαμερισματική μοντελοποίηση, καθορίσαμε ένα σύστημα διαφορικών εξισώσεων που περιγράφει την κινητική του δείκτη εντός του ιστού.

Στη συνέχεια, επιλέγοντας την πλατφόρμα E-cell προσομοιώσαμε το εν λόγω βιοφυσικό μοντέλο αναλύοντας την ευαισθησία του στις παραμέτρους του, μέσω των μεταβολών των καμπύλων συγκέντρωσης-χρόνου. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την αρχική υπόθεση ότι το φαινόμενο της λεύκανσης εξαρτάται από τις δομικές και λειτουργικές αλλαγές στο επιθήλιο που επιφέρει η νεοπλασία. Συμπερασματικά, έγινε η πρώτη προσέγγιση για δημιουργία μίας πλατφόρμας η οποία θα χρησιμοποιείται για διαμερισματική μοντελοποίηση. Παρόλο που περεταίρω βελτιώσεις είναι δυνατόν να πραγματοποιηθούν προς την κατεύνθυνση αυτή, γίνεται αντιληπτό πως τοαναπτυχθέν εργαλείο θα μπορέσει δυνητικά να χρησιμοποιηθεί ως βάση περιγραφής των βιοφυσικών διεργασιών ενός βιολογικού δείκτη μέσα σε ιστούς. Αυτό προβλέπεται να καθορίσει ποσοτικά τα δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά βελτιώνοντας την πρόληψη και έγκαιρη διάγνωση των καρκινικών αλλοιώσεων καθώς και την παρακολούθηση παθήσεων.

Η μοντελοποίηση αυτή μας βοηθά στην βαθύτερη κατανόηση των βιοφυσικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα . Επίσης η βαθύτερη κατανόηση της επιρροής των παραμέτρων στο μοντέλο ίσως βοηθήσει στην καλύτερη διάγνωση και αντιμετώπιση της νόσου.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ 6

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 6
Αιτιολογία και παράγοντες κινδύνου 8
1.2 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ 10

2 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ 12

2.1 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ 12
2.1.1 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ 13
2.2 ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ 13
2.2.1 ΠΑΡΑΔΟΧΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ 14
2.2.2 ΜΟΝΤΕΛΟ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ 15
2.2.3 ΠΟΛΥ-ΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ 15

3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ 17

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 17
3.2 ΑΠΟ ΞΕΧΩΡΙΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ 18
3.3 ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΙ ΙΣΤΟΙ 20
3.3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ 20
3.3.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΩΝ 21
3.4 ΒΙΟΦΥΣΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΟΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΙΣΤΟ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ 28
3.4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 28
3.4.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ 32
3.4.3 ΙΟΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ 33
3.4.4 ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΔΙΑΧΥΣΗ ΜΟΡΙΩΝ 34
3.4.5 ΕΣΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΙ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟ BUFFERING 36
3.4.6 ΑΠΟΒΟΛΗ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ(PUMPING) 37
3.4.7 ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ 38

4 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΣΕ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ 42

4.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΑΙΤΗΣΕΩΝ 42
4.2 ΠΛΑΤΦΟΡΜΕΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ 43
4.2.1 JSim 43
4.2.2 PK-SIM 46
4.2.3 Systems Biology Toolbox 2 48
4.2.4 TinkerCell 50
4.2.5 SAAM II 53
4.2.6 E-CELL 58
4.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗ ΠΛΑΤΦΟΡΜΑ E-CELL 59
4.3.1 Εισαγωγή 59
4.3.2 ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ E-CELL 60
4.3.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ 71

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ECELLINTER 78

5.1 ΑΡΙΘΜΌΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΏΝ ΕΠΙΠΈΔΩΝ. 78
5.2 ΔΙΆΧΥΣΗ TJ 79
5.3 BUFFERING 81
5.4 ΑΠΟΒΟΛΉ ΠΡΩΤΟΝΊΩΝ (PUMPING) 83
5.5 ΑΡΧΙΚΉ ΣΥΓΚΈΝΤΡΩΣΗ 84

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ 87
ΑΝΑΦΟΡΕΣ 90

Εικόνα 1.Θέση τραχήλου της μήτρας 6
Εικόνα 2. Ένας υγιείς τράχηλος 7
Εικόνα 5. Το κύτταρο σαν εργοστάσιο. 18
Εικόνα 6 Cell adhesion μόρια: a) Tight junctions b) Desmosomes 19
c) Gap junctions d) Hemidesmosomes 19
Εικόνα 7 . Η ασυμμετρία των επιθηλιακών κυττάρων 21
Εικόνα 8. Απλό λεπιδοειδές επιθήλιο 22
Εικόνα 9. Απλό κυβοειδές επιθήλιο 23
Εικόνα 10. Απλό κιονοειδές επιθήλιο 23
Εικόνα 11.Απλό κιονοειδές βλεφαριδωτό επιθήλιο 24
Εικόνα 12. Ψευδοδιαστρωματοποιημένα κιονοειδή βλεφαριδωτά επιθήλια 24
Εικόνα 13. Διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή επιθήλια 25
Εικόνα 14.Διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή κερατοειδή επιθήλια 26
Εικόνα 15.Διαστρωματοποιημένα κυβοειδή επιθήλια 26
Εικόνα 16. Ενδιάμεσα επιθήλια 27
Εικόνα 17.Βασικοί τύποι επιθηλιακών δομών 27
Εικόνα 18.Το υπερ-κύτταρο ενός δυσπλαστικού στρώματος με το αντίστοιχο εξωκυττάριο χώρο. 29
Εικόνα 19. Τα κυτταρικά επίπεδα 30
Εικόνα 20 (a) Τα επιθηλιακά τμήματα και οι διαχύσεις μεταφοράς (b) Το κυτταρικό μοντέλο δύο τμημάτων και οι διαχύσεις μεταφοράς. 31
Πίνακας 1. Διαστάσεις των επιθηλιακών κυττάρων 33
Εικόνα 21. Παθητική διάχυση μεταξύ δύο τμημάτων σε σταθερή κατάσταση 35
Πίνακας 3 Τιμές των παραμέτρων στο μοντέλο μας 40
Εικόνα 22.Αρχιτεκτονική του JSim 45
Εικόνα 23. Το περιβάλλον του Pk-Sim 47
Εικόνα 24 System Biology Toolbox 2 49
Εικόνα 25 TinkerCell modeling 51
Εικόνα 26. Δέντρο τμημάτων TinkerCell 52
Εικόνα 27. Δέντρο συνδέσεων TinkerCell 52
Εικόνα 28.Ολοκληρωμένη αναπαράσταση τμημάτων και συνδέσεων 52
Εικόνα 29. Περιβάλλον SAAM II 53
Εικόνα 30.SAAM II Εξισώσεις 54
Εικόνα 31.Είσοδος δεδομένων SAAM II 55
Εικόνα 32.Αλλαγή δεδομένων SAAM II 55
Εικόνα 33.Επιλογή διαφορικού λύτη SAAM II 55
Εικόνα 34.Κατασκευή εξισώσεων SAAM II 56

Εικόνα 35.Εισαγωγή δεδομένων SAAM II *57*
Εικόνα 36.Βελτιστοποίηση παραμέτρων SAAM II *57*
Εικόνα 37.Αποτελέσματα στο SAAM II *58*
Εικόνα 38 Επιλογή stepper *64*
Εικόνα 39 Δέντρο οντοτήτων *65*
Εικόνα 40 Ορισμός όγκου οντότητας *66*
Εικόνα 41 Μεταβλητές στο E-Cell *67*
Εικόνα 42 Διαδικασίες στο E-Cell *68*
Εικόνα 43 Σύνδεση διαδικασιών με stepper στο E-Cell *69*
Εικόνα 44 Σύνδεση μεταβλητών με τις διαδικασίες στο E-Cell *71*
Εικόνα 45 Το interface της εφαρμογής μας *72*
Εικόνα 46 Ορισμός των paths στην εφαρμογής μας *72*
Εικόνα 47 Ορισμός των αριθητικών παραμέτρων στην εφαρμογής μας *73*
Εικόνα 48 Επιλογή των γραφικών αποτελεσμάτων στην εφαρμογής μας *74*
Εικόνα 49 Γραφική παράσταση του AAecs *75*
Εικόνα 50 Γραφική παράσταση του AAics *75*
Εικόνα 51 Γραφική παράσταση του Hecs *76*
Εικόνα 52 Γραφική παράσταση του Hics *76*
Εικόνα 53 Γραφική παράσταση του Total *77*
Εικόνα 54 Το αρχικό interface της εφαρμογής *78*
Εικόνα 55 Γραφική παράσταση του Hics για διάφορα n *79*
Εικόνα 56 Γραφική παράσταση για Tjarea=15.0 ..... *80*
Εικόνα 57 Γραφική παράσταση για Tjarea=8.0 ..... *80*
Εικόνα 58 Γραφική παράσταση με bics=0.2 και becs=0.003 ..... *81*
Εικόνα 59 Γραφική παράσταση με bics=0.1 ..... *82*
Εικόνα 60 Γραφική παράσταση με buffering για becs=-0.001 ..... *82*
Εικόνα 61 Γραφική παράσταση αποβολής πρωτονίων για Kp=80000 ..... *83*
Εικόνα 62 Γραφική παράσταση αποβολής πρωτονίων για Kp=40000 ..... *84*
Εικόνα 63 Γραφική παράσταση για συγκέντρωση 2 v/v *85*
Εικόνα 64 Γραφική παράσταση για συγκέντρωση 0.5 v/v *85*

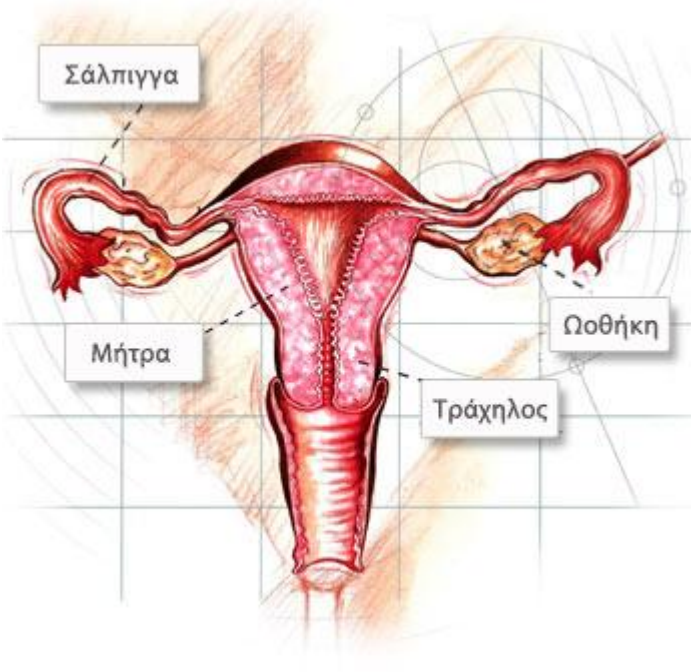
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΟΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο τράχηλος

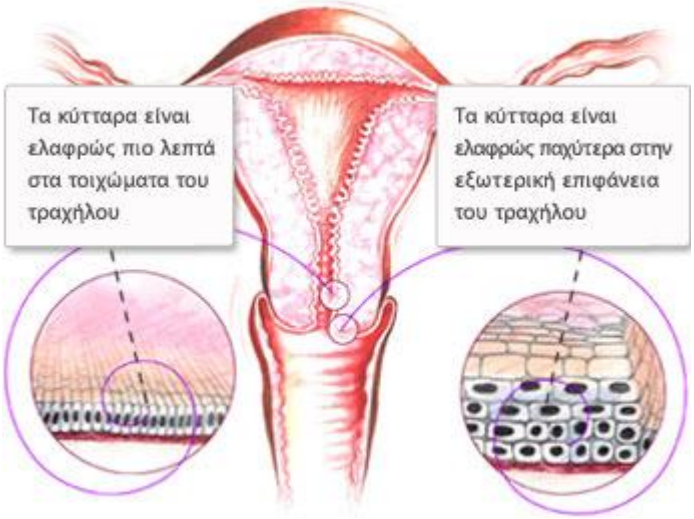
Ο τράχηλος είναι το κατώτερο στενό τμήμα της μήτρας. Έχει ένα μικρό άνοιγμα προς τον κόλπο, που επιτρέπει να περνάει το αίμα της εμμήνου ρήσεως. Εκτός από το να επιτρέπει την έμμηνο ρύση, ο τράχηλος της μήτρας λειτουργεί ως φραγμός. Παίζει σημαντικό ρόλο στο να προστατεύει τη μήτρα σας από τις λοιμώξεις. Ο τράχηλος παίζει σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια του τοκετού, με το να διαστέλλεται και να επιτρέπει έτσι στο έμβρυο να γεννηθεί.

Θέση του τραχήλου



Εικόνα 1.Θέση τραχήλου της μήτρας

Ένας υγιής τράχηλος



Εικόνα 2. Ένας υγιείς τράχηλος

Η ασθένεια

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας προκαλείται από κάποιους τύπους ενός κοινού ιού που ονομάζεται ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων ή αλλιώς με τα αρχικά HPV. (Human Papilloma Virus). Η ασθένεια περιλαμβάνει παθολογική και ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων που σχηματίζουν τον τράχηλο. Υπάρχουν περισσότεροι από 100 τύποι του ιού. Οι περισσότεροι είναι τύποι χαμηλού κινδύνου και δεν προκαλούν καρκίνο στον τράχηλο. Ωστόσο, οι τύποι υψηλού κινδύνου (ογκογόνοι) , μπορούν να προκαλέσουν την εμφάνιση παθολογικών κυττάρων που, αν δεν θεραπευθούν, μπορεί να οδηγήσουν σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Ωστόσο, ακόμη και οι λοιμώξεις από ογκογόνους τύπους μπορεί να περάσουν χωρίς θεραπεία. Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις θα παραμείνουν και μέσα σε ένα μεγάλο χρονικό διάστημα αυτά τα παθολογικά κύτταρα μπορεί να εξελιχθούν σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας- συνήθως σε ένα χρονικό διάστημα 10 με 20 ετών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η διαδικασία αυτή μπορεί να συμβεί πολύ πιο γρήγορα αλλά είναι γενικά αποδεκτό ότι είναι μια ασθένεια με αργή εξέλιξη.

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ο τρίτος κατά σειρά συχνότητας καρκίνος στις γυναίκες, μετά τον καρκίνο του μαστού και του ενδομητρίου. Η μέση ηλικία των γυναικών που εμφανίζουν καρκίνο του τραχήλου κυμαίνεται

μεταξύ 48 και 52 ετών. Η θνησιμότητα από τον καρκίνο του τραχήλου έχει ελαττωθεί κατά 50% στα τελευταία 40 χρόνια και η συχνότητα της προχωρημένης νόσου κατά τη διάγνωση έχει ελαττωθεί κατά 70% στο ίδιο χρονικό διάστημα. Αυτό είναι αποτέλεσμα της έγκαιρης διάγνωσης και θεραπείας

Αιτιολογία και παράγοντες κινδύνου

Ηλικία: η συχνότητα της νόσου αυξάνεται δραματικά με την πρόοδο της ηλικίας.

Κάπνισμα: έχει παρατηρηθεί ότι οι καπνίστριες εμφανίζουν συχνότερα καρκίνο του τραχήλου από αυτές που δεν καπνίζουν.

Σεξουαλική δραστηριότητα: γυναίκες που έχουν σεξουαλικές σχέσεις από πολύ νεαρή ηλικία ή που διατηρούν σχέσεις με πολλούς άνδρες παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα της νόσου.

Παθολογικές καταστάσεις: φλεγμονές του τραχήλου από ορισμένους ιούς όπως ο ιός του ανθρώπινου θηλώματος και ο έρπις αυξάνουν τη συχνότητα της νόσου. Η διατροφή και η κληρονομικότητα δε φαίνεται να επηρεάζουν τη συχνότητα της νόσου.

Συμπτώματα

Τα συμπτώματα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας έχουν άμεση σχέση με το στάδιο της νόσου. Στα αρχικά στάδια η νόσος είναι ασυμπτωματική. Αργότερα όμως μπορεί να εμφανιστούν αιμορραγίες, αυξημένα υγρά στον κόλπο και σε πολύ προχωρημένα στάδια ο καρκίνος επεκτείνεται τοπικά και προκαλεί τοπικό άλγος ή δυσουρικά προβλήματα, συχνουρία, αιματουρία, οιδήματα κάτω άκρων, οσφυαλγία και συμπτώματα από απομακρυσμένα όργανα που νοσούν λόγω μεταστάσεων, όπως ηπατομεγαλία σε ηπατικές μεταστάσεις, οστικά άλγη σε οστικές μεταστάσεις και δύσπνοια σε πνευμονικές μεταστάσεις κ.ο.κ.

Θεραπεία

Η επιτυχία στη θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας εξαρτάται από το στάδιο της νόσου. Όταν η προσβολή είναι στα πολύ αρχικά στάδια, η θεραπεία αποτελείται από ένα απλό χειρισμό στα εξωτερικά ιατρεία, με

αποτέλεσμα την πλήρη ίαση. Σε πιο προχωρημένα στάδια η χειρουργική θεραπεία, σε συνδυασμό με την ακτινοβολία και τη χημειοθεραπεία, προσφέρει αρκετά καλά αποτελέσματα.

Διάγνωση

Η διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι ευχερής. Η γυναικολογική κλινική εξέταση αποκαλύπτει συνήθως βλάβες του τραχήλου και διόγκωση λεμφαδένων, ενώ συνήθως το τεστ Παπανικολάου αποκαλύπτει νεοπλασματικά κύτταρα σε δείγμα κολπικού υγρού που λαμβάνεται από τον τράχηλο. Η κολποσκόπηση χρησιμοποιείται, όταν το τεστ Παπανικολάου βγει θετικό και δεν υπάρχουν εμφανείς βλάβες του τραχήλου στην απλή γυναικολογική εξέταση. Το κολποσκόπιο έχει τη δυνατότητα να μεγεθύνει πολύ την περιοχή και να εμφανίζει τοπικές εστίες που δεν ήταν αντιληπτές στην απλή εξέταση. Η βιοψία της ύποπτης περιοχής δίνει τις απαραίτητες πληροφορίες για το εάν υπάρχει κακοήθεια, καθώς και το βαθμό, τον τύπο και το στάδιο της νόσου.

Η διαδικασία της κολποσκόπησης απαιτεί η ασθενής να τοποθετείται σε τροποποιημένη γυναικολογική θέση, και ο τράχηλος εκτίθενται χρησιμοποιώντας ένα δίλοβο κάτοπτρο. Ένα επαναληπτικό κολποτραχηλικό επίχρισμα συχνά λαμβάνεται σε αυτή τη φάση, προσέχοντας να περιοριστεί ο κίνδυνος αιμορραγίας, που θα μπορούσε στη συνέχεια να παρεμποδίσει το οπτικό πεδίο. Ο τράχηλος στην συνέχεια σφουγγίζεται ήπια με απορροφητικό μέσο από βαμβάκι, που εμποτίζεται σε φυσιολογικό ορό, και επιθεωρείται. Ένα αραιό διάλυμα οξικού οξέος (3% ή 5%) εφαρμόζεται ήπια και αφήνεται για περίπου πέντε δευτερόλεπτα. Το οξικό οξύ καθιστά το ανώμαλο επιθήλιο ορατό στο γυμνό μάτι. Οι ανώμαλες περιοχές εμφανίζονται ως άσπρες συνήθως αισθητά καθορισμένες περιοχές (aceto white) στον εξωτράχηλο. Η επίδραση του αραιού οξικού οξέος στο επιθήλιο θεωρείται ότι επιτυγχάνεται με την πήξη της πυρηνικής πρωτεΐνης. Λόγω της υψηλής πυκνότητας της πυρηνικής πρωτεΐνης στις περιοχές CIN και τις αλλαγές στην αρχιτεκτονική του αγγειακού δικτύου που συνδέεται με τη νεοπλασία, οι περιοχές εμφανίζονται λιγότερο διαφανείς από ότι το γύρω φυσιολογικό επιθήλιο.

Αποτελεί απλή, μη επεμβατική και σύντομη στην διενέργειά της εξέταση, με την οποία επισκοπείται ο τράχηλος υπό μεγέθυνση με την βοήθεια ειδικού μικροσκοπίου. Η επίθηξη του τραχηλικού επιθηλίου με διάλυμα οξικού οξέος 3%-5% προκαλεί τήξη των πρωτεϊνών του πυρήνα των κυττάρων και έτσι, στις περιοχές όπου υπάρχει αλλοιωμένο επιθήλιο-και όπου κατά κανόνα αυτό είναι υπερπλαστικό –εμφανίζεται λευκάζουσα απόχρωση. Η ύπαρξη υπερπλαστικών αγγείων του στρώματος δίνει επιφανειακά την εικόνα διάστιξης ή μωσαϊκού (το φυσιολογικό επιθήλιο διατηρεί την ερυθρά ομαλή εμφάνιση του και μετά την δράση του οξικού οξέος). Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ανεύρεση άτυπων αγγείων στο τραχηλικό επιθήλιο. Η επίθηξη με διάλυμα Lugol (δοκιμασία κατά Schiller) προκαλεί στο φυσιολογικό επιθήλιο μια έντονη φαιά χρώση, λόγω πρόσληψης του KI του διαλύματος από το γλυκογόνο του κυτταροπλάσματος των κυττάρων. Αντίθετα, το αλλοιωμένο επιθήλιο δεν χρώνεται λόγω του ότι τα κύτταρα του στερούνται γλυκογόνου. Η κολποσκόπηση θεωρείται ικανοποιητική, όταν το σύνολο της ζώνης μετάπτωσης είναι ορατό. Αντίθετα, εάν μέρος αυτής της ζώνης ευρίσκεται στο βάθος του ενδοτραχηλικού αυλού και δεν είναι δυνατή η δια του κολποσκοπίου επισκόπησή του, απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή ως προς την συνολική εκτίμηση του κινδύνου.

Στην εργασία αυτή κάνουμε μία προσπάθεια να εξηγήσουμε την βιοφυσική βάση της διαδικασίας της κολποσκόπησης που περιγράψαμε με το διάλυμα του οξικού οξέος δίνοντας έμφαση στα επιθηλιακά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα. Με βάση αυτή τη μελέτη αναπτύξαμε μία εφαρμογή που βασίζεται στο μαθηματικό μοντέλο στο οποίο καταλήξαμε και θα μας βοηθήσει στη μελέτη της συμπεριφοράς των κυττάρων κάτω από καθορισμένες συνθήκες.

1.2 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η έγκαιρη και αξιόπιστη διάγνωση των δυσπλαστικών κυττάρων χρησιμοποιώντας ένα in-vivo βιοφυσικό μαθηματικό μοντέλο. Μέσα από τα επόμενα κεφάλαια θα παρουσιάσουμε τα βήματα που ακολουθήσαμε για να πετύχουμε το στόχο μας.

Στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζουμε την βασικές αρχές που διέπουν την φαρμακοκινητική και την διαμερισματική μοντελοποίηση με σκοπό ο αναγνώστης να καταλάβει τις βασικές δομές που θα ακολουθήσουμε στην προσέγγιση του προβλήματος που μελετάμε.

Στο κεφάλαιο 3 δίνουμε στον αναγνώστη τις βασικές γνώσεις που σχετίζονται με τους επιθηλιακούς ιστούς. Ξεκινάμε με το πως οργανώνονται τα ξεχωριστά κύτταρα σε οργανωμένους ιστούς και στη συνέχεια παραθέτουμε μια εκτενέστερη ανάλυση των τύπων των επιθηλίων. Στη συνέχεια αναπτύσσουμε τον πυρήνα της μελέτης μας που αποτελείται από την περιγραφή του μαθηματικού μοντέλου για το καρκινικό επιθηλιακό ιστό. Εδώ περιγράφονται όλες οι διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο(όπως ιονισμός, διαχύσεις, pumping, buffering κ.α.)

Στο κεφάλαιο 4 κάνουμε μία προσπάθεια ανάλυσης των απαιτήσεων που έχουμε από μία εφαρμογή, που θα μας βοηθήσει στην μοντελοποίηση του μαθηματικού μοντέλου που μόλις αναλύσαμε. Στη συνέχεια αναφέρουμε τα προγράμματα που βρήκαμε κάνοντας εκτενή έρευνα αγοράς και τα οποία πλησιάζουν στις απαιτήσεις που ορίσαμε. Κλείνουμε το κεφάλαιο περιγράφοντας την δική μας προσέγγιση στην κατασκευή μίας εφαρμογής σύμφωνα με τις δικές μας ανάγκες και η οποία θα μπορεί να αποτελέσει άριστο εργαλείο στην προσπάθεια μελέτης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Στο κεφάλαιο 5 παραθέτουμε μία σειρά αποτελεσμάτων που πήραμε, εκτελώντας την εφαρμογή που δημιουργήσαμε.

Στο κεφάλαιο 6 κλείνουμε αναφέροντας τα συμπεράσματά μας και προτάσεις για μελλοντικές μελέτες πάνω στο αντικείμενο.

2 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΑΙ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

2.1 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

Η φαρμακοκινητική, πολλές φορές τη συναντάμε για συντομία PK(PharmacoKinetics), είναι κλάδος της φαρμακολογίας που ασχολείται με τον πορεία των ουσιών που διοχετεύονται εξωτερικά σε ένα ζωντανό οργανισμό. Στην πράξη, εφαρμόζεται κυρίως σε φαρμακευτικές ουσίες, παρόλο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλα τα είδη ουσιών που μπορούν να απορροφηθούν ή να μεταδοθούν εξωτερικά σε έναν οργανισμό, όπως τροφές, ορμόνες, μεταβολίτες, τοξίνες κτλ.

Η φαρμακοκινητική διαιρείται σε διάφορα πεδία τα οποία περιλαμβάνουν το μέγεθος και το ποσοστό της Απορρόφησης, Διανομής, Μεταβολισμού και Απέκκρισης. Αυτό αναφέρεται συχνά σαν ADME σχήμα (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion). Ωστόσο πρόσφατες έρευνες σχετικά με τις επιδράσεις των φαρμακευτικών ουσιών στο σώμα έφεραν σαν αποτέλεσμα το νέο όρο απελευθέρωση (liberation). Έτσι καταλήγουμε ότι η φαρμακοκινητική μπορεί να περιγραφεί από το σχήμα LADME:

- Απελευθέρωση(Liberation): Είναι η διαδικασία απελευθέρωσης ουσίας από την εξίσωση.
- Απορρόφηση(absorption): Είναι η διαδικασία κατά την οποία η ουσία εισέρχεται στο σώμα.
- Διανομή(Distribution): Είναι η διασπορά των ουσιών μέσα στα υγρά και στους ιστούς του σώματος.
- Μεταβολισμός(Metabolism): Είναι μη αναστρέψιμη μετατροπή των ουσιών σε θυγατρικούς μεταβολίτες.
- Έκκριση(Excretion): Είναι η εξάλειψη της ουσίας από το σώμα. Σε σπάνιες περιπτώσεις, κάποιες ουσίες συσσωρεύονται μη αναστρέψιμα σε έναν ιστό του σώματος.

Η φαρμακοκινητική περιγράφει πώς επηρεάζεται το σώμα όταν εισέλθει σε αυτό μια συγκεκριμένη ουσία. Οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες μίας ουσίας επηρεάζονται από στοιχεία όπως το σημείο εισροής της ουσίας και η συγκέντρωση της ουσίας που βάζουμε. Αυτά μπορούν να επηρεάσουν το ποσοστό της απορρόφησης.

2.1.1 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η φαρμακοκινητική ανάλυση γίνεται τόσο με μη διαμερισματικό (non-compartmental) τρόπο όσο και με διαμερισματικό (compartmental). Η μη διαμερισματική μέθοδος υπολογίζει της επιρροή μιας ουσίας υπολογίζοντας την περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου. Η διαμερισματική μέθοδος , η οποία μας ενδιαφέρει στη μελέτη μας, υπολογίζει και περιγράφει την γραφική παράσταση συγκέντρωσης-χρόνου χρησιμοποιώντας κινητικά μοντέλα. Τα διαμερισματικά φαρμακοκινητικά μοντέλα είναι συνήθως παρόμοια με τα κινητικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται σε άλλα επιστημονικά πεδία όπως χημικά κινητικά μοντέλα και θερμοδυναμικά μοντέλα. Το πλεονέκτημα της διαμερισματικής έναντι της μη διαμερισματικής ανάλυσης είναι η δυνατότητα να προβλέπουμε την συγκέντρωση ανά πάσα στιγμή. Το μειονέκτημα είναι η δυσκολία στην σωστή και έγκυρη ανάπτυξη του κατάλληλου μοντέλου.

2.2 ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

Ένα πολύ-μερισματικό (multi-compartment) μοντέλο είναι ένας τύπος μαθηματικού μοντέλου που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τον τρόπο με τον οποίο υλικά ή ενέργειες μεταδίδονται στα τμήματα(compartments) ενός συστήματος. Κάθε τμήμα ξεχωριστά δεχόμαστε πως είναι μία ομογενής οντότητα μέσα στην οποία οι οντότητες (entities) που μοντελοποιούμε είναι ισοδύναμες. Για παράδειγμα, σε ένα φαρμακοκινητικό μοντέλο, τα τμήματα μπορεί να αναπαριστούν διαφορετικά μέρη ενός σώματος στα οποία η συγκέντρωση ενός φαρμάκου υποθέτουμε ότι είναι ομοιόμορφα ισοκατανεμημένη. Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται σε ένα τέτοιο

μοντέλο χαρακτηρίζονται ως lumped parameters οι οποίες αποτελούν απλούστευση του μαθηματικού μοντέλου ενός φυσικού συστήματος, με την οποία οι μεταβλητές οι οποίες είναι κατανεμημένες στο χώρο αναπαρίστανται ως διαβαθμισμένες τιμές. Π.χ. η θερμοκρασία ενός χώρου αντικαθίσταται από τις μέσες θερμοκρασίες. Μια τέτοια προσέγγιση μπορεί να είναι λογική αν το σύστημα είναι αρκετά ομοιογενές.

Τα πολύ-μερισματικά μοντέλα χρησιμοποιούνται σε πολλά πεδία όπως: φαρμακοκινητική, επιδημιολογία, βιοιατρική, θεωρία συστημάτων, μηχανική, φυσική, επιστήμη της πληροφορίας και κοινωνική επιστήμη. Επίσης και τα ηλεκτρικά κυκλώματα μπορούν να μοντελοποιηθούν με αυτόν τον τρόπο.

2.2.1 ΠΑΡΑΔΟΧΕΣ ΣΤΗ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

Η διαμερισματική μοντελοποίηση απαιτεί την υιοθέτηση μερικών υποθέσεων, έτσι ώστε τα φυσικά συστήματα να μπορούν να μοντελοποιηθούν μαθηματικά:

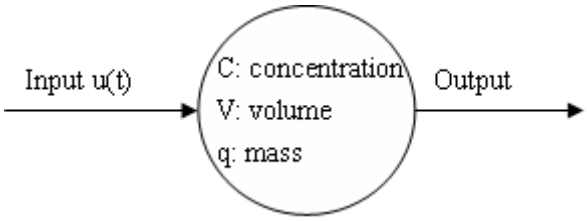
Άμεση ομογενής διανομή των υλικών ή των ενεργειών μέσα στο τμήμα. Τα πολύ-μερισματικά μοντέλα ,θεωρητικά, κάθε στιγμή αναμειγνύονται ακαριαία, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι η συγκέντρωση της ουσίας που εκκρίνεται είναι ίση για με την συγκέντρωση μέσα στο υγρό. Αυτό μας επιτρέπει να χρησιμοποιούμε τις συνηθισμένες διαφορικές εξισώσεις(ODE),για παράδειγμα, για τον υπολογισμό της αλλαγής της συγκέντρωσης C μέσα σε ένα τμήμα και της εκροής από αυτό:$\frac{dC}{dt} = Flow * \frac{C_{in} - C}{V}$, όπου Flow=όγκος της ροής μέσα και έξω, ο όγκος V,είναι σταθερός και το Cin είναι η συγκέντρωση της ουσίας που διαχέεται.

Το ποσοστό ανταλλαγής υλικών ή ενεργειών μεταξύ των compartments σχετίζεται με τις πυκνότητες των τμημάτων που συμμετέχουν.

Συνήθως, είναι επιθυμητό τα υλικά να μην υφίστανται χημικές αντιδράσεις καθώς μεταφέρονται από το ένα τμήμα στο άλλο.

Όταν μελετάται η συγκέντρωση των κυττάρων, τυπικά ο όγκος υποθέτουμε ότι είναι σταθερός στο χρόνο, ενώ αυτό μπορεί να μην είναι απόλυτα σωστό στην πραγματικότητα.

2.2.2 ΜΟΝΤΕΛΟ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ



Εικόνα 3. Μοντέλο ενός τμήματος

Η πιο απλή εφαρμογή ενός πολύ-μερισματικού μοντέλου είναι η παρακολούθηση της συγκέντρωσης ενός μόνο κύτταρου. Εάν ο όγκος ενός κυττάρου είναι V, η μάζα του διαλυμένης ουσίας είναι q, η είσοδος είναι u(t) και η έκκριση του διαλύματος είναι ανάλογη της πυκνότητας του μέσα στο κύτταρο, τότε η συγκέντρωση του διαλύματος C μέσα στο κύτταρο σε συνάρτηση με τον χρόνο δίνεται ως εξής:

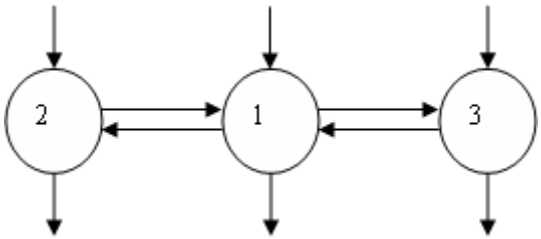
$$\frac{dq}{dt} = u(t) - kq$$

$$C = \frac{q}{V}$$

Όπου κ είναι ο συντελεστής αναλογίας.

2.2.3 ΠΟΛΥ-ΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Όσο ο αριθμός των τμημάτων αυξάνεται, το μοντέλο μπορεί να γίνει πολύ περίπλοκο και οι λύσεις συνήθως πέρα από του συνηθισμένους υπολογισμούς. Παρακάτω βλέπουμε ένα μοντέλο 3 κυττάρων με υπερσυνδέσεις μεταξύ τους.



Εικόνα 4.n-κυτταρικό μοντέλο

Ο τύπος για ένα n-κυτταρικό μοντέλο γίνεται ως εξής:

$$\dot{q}1 = q_1\, k_{11} \; + q_2 k_{12} \; + \cdots + q_n k_{1n} \; + u_1\,(t)$$
$$\dot{q}2 = q_1\, k_{21} \; + q_2 k_{22} \; + \cdots + q_n k_{2n} \; + u_2\,(t)$$
$$\ldots\ldots$$
$$\dot{q}n = q_1\, k_{n1} \; + q_2 k_{n2} \; + \cdots + q_n k_{nn} \; + u_n(t)$$

Όπου

$$k_{ii} \; = -\sum_{j=1;i\neq j}^{n} k_{ji}$$

For $i = 1,2, \ldots, n$

Ή σε μορφή πινάκων

$$\dot{q} = Kq + u$$

Όπου

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} k_{11} & k_{12} & \cdots & k_{1n} \\ k_{21} & k_{22} & \cdots & k_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ k_{n1} & k_{n2} & \cdots & k_{nn} \end{bmatrix}$$ και

$q = [q_1\; q_2 \ldots q_n]^{\mathrm{T}}$

Και $u = [u_1(t) \;\; u_2(t) \ldots \; u_n(t)]^{\mathrm{T}}$

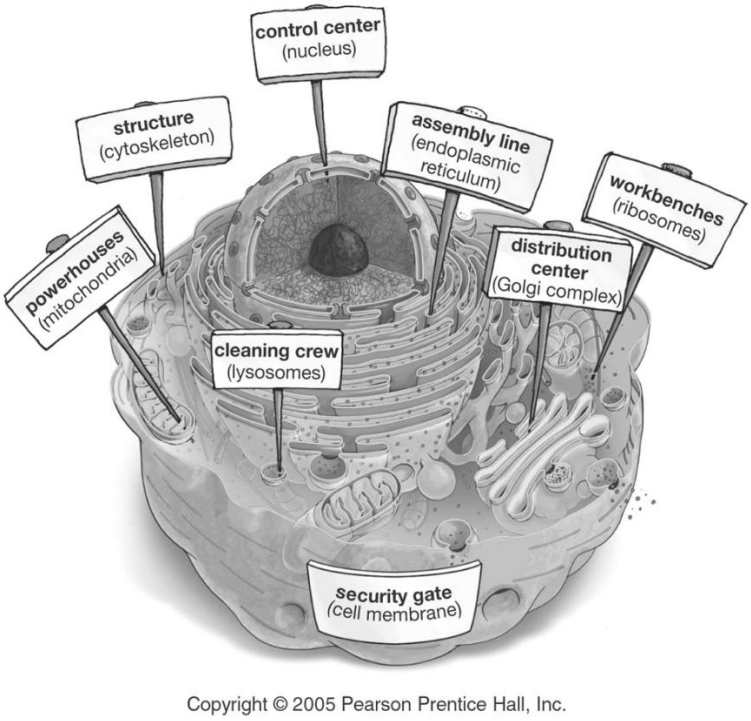
3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κύτταρο είναι η δομική και λειτουργική μονάδα όλων των ζωντανών οργανισμών. Είναι η απλούστερη μονάδα ενός οργανισμού που ορίζεται σαν ζωντανός και μερικές φορές καλείται δομικός λίθος της ζωής. Η εξέλιξη ξεκινά με γονιμοποιημένο ωάριο που σπάει σε δύο, τέσσερα, μετά οκτώ κύτταρα δημιουργώντας το αρχικό έμβρυο. Συνεχίζοντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και στη συνέχεια την διαχώρισή τους σε ξεχωριστά είδη κυττάρων αναπτύσσονται οι ιστοί του σώματός μας. Τα κύτταρα διαφέρουν στο σχήμα, το μέγεθος , το περιεχόμενο , το χρώμα , την ευκινησία και την σύνθεση της επιφάνειάς τους. Για να δημιουργηθούν το ανθρώπινα κύτταρα πρέπει να οργανωθούν και να τακτοποιηθούν κατάλληλα σε ιστούς, όργανα και προσαρτήματα. Επιπλέον πολλά κύτταρα παρουσιάζουν ξεχωριστή δομική και λειτουργική ασυμμετρία, μία ιδιότητα που συχνά αποκαλείται πολικότητα. Από τέτοια πολωμένα κύτταρα δημιουργούνται πολωμένοι και ασύμμετροι ιστοί τέτοιοι όπως το εσωτερικό των εντοσθίων και δομές όπως τα χέρια και η καρδιά.

Τα κύτταρα μπορούν να διαχωριστούν σε δύο βασικά τμήματα: τον πυρήνα και το κυτόπλασμα. Στο πρώτο περιέχεται το περισσότερο από το γενετικό υλικό του κυττάρου οργανωμένο σε πολλαπλές μακριές γραμμές μορίων DNA σε συνδυασμό με μια μεγάλη ποικιλία πρωτεϊνών, για να δημιουργήσουν τα χρωμοσώματα. Το άλλο αποτελεί το περιεχόμενο του κυττάρου εκτός από τον πυρήνα. Το κυτόπλασμα περιέχει μεμβράνες που δεσμεύουν τα κυτταρικά όργανα και οριοθετούνται από την μεμβράνη πλάσματος.

Τα μιτοχόνδρια παράγουν την χημική ενέργεια που χρειάζονται τα κύτταρα. Τα λυσσοσώματα είναι υπεύθυνα για την εσωκυττάρια πέψη και τα ριβοσώματα είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται από τα κύτταρα. Η εικόνα 5 παρουσιάζει αυτές τις διαδικασίες των κυττάρων και τις δομές τους.



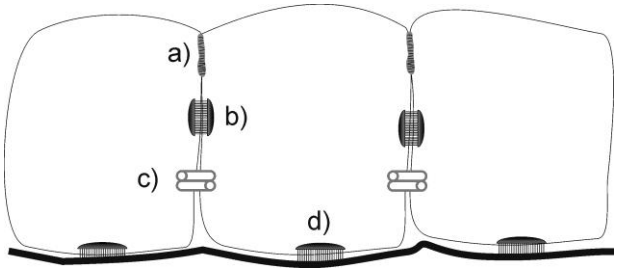
Εικόνα 5. Το κύτταρο σαν εργοστάσιο.

3.2 ΑΠΟ ΞΕΧΩΡΙΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Στην εξέλιξη των σύνθετων πολυκυτταρικών οργανισμών όπως τα ζώα , τα πρωτογενή κύτταρα διαφοροποιούνται σε ξεχωριστά είδη τα οποία έχουν χαρακτηριστική σύνθεση, δομή και λειτουργία. Τα κύτταρα ενός συγκεκριμένου είδους ενώνονται σε έναν ιστό για να εκτελέσουν μαζί μία συγκεκριμένη διαδικασία. Π.χ. συστολή μυών. Ομοίως οργανώνονται και σε όργανα. Για παράδειγμα , οι βαλβίδες των μυών και τα αγγεία του αίματος της καρδιάς συνεργάζονται για να δώσουν αίμα στο σώμα. Η συντονισμένη λειτουργία πολλών τύπων κυττάρων μέσα στους ιστούς καθώς και οι πολλαπλοί εξειδικευμένοι ιστοί επιτρέπουν στους οργανισμούς ως σύνολο να κινούνται , να μεταβολίζονται, να αναπαράγονται και να εκτελούν άλλες ουσιώδεις λειτουργίες.

Παρ' όλες τις διαφορετικές μορφές και λειτουργίες ,όλα τα κύτταρα των ζώων μπορούν να ταξινομηθούν ως στοιχεία πέντε κύριων κλάσεων ιστών: επιθηλιακοί ιστοί, συνδετικοί ιστοί, μυϊκοί ιστοί , νευρικοί ιστοί και αίμα.

Διάφοροι τύποι κυττάρων είναι τακτοποιημένοι σε ακριβείς πρότυπα υπερβολικά σύνθετων για να ξεχωριστούν σε ξεχωριστούν ιστούς και όργανα. Αυτή η συναρμολόγηση διαφορετικών ιστών σε όργανα καθορίζεται από την μοριακή αλληλεπίδραση σε κυτταρικό επίπεδο και δεν θα ήταν δυνατό χωρίς τη χρονική και χωρική κανονικοποίηση μιας σειράς μορίων όπως φαίνεται παρακάτω.



Εικόνα 6 Cell adhesion μόρια: a) Tight junctions b) Desmosomes c) Gap junctions d) Hemidesmosomes

Όπως περιγράφηκε σύντομα, τα κύτταρα στους ιστούς μπορούν να κολλούν το ένα στο άλλο μέσω ολοκληρωμένων μεμβρανών πρωτεϊνών οι οποίες ονομάζονται cell-adhesion μόρια τα οποία ομαδοποιούνται σε ειδικές κυτταρικές ενώσεις. Επιπλέον τα κύτταρα σε ζωικούς ιστούς κολλούν εμμέσως μέσω των δεσμών των δεκτών στην μεμβράνη πλάσματος με στοιχεία του εξωκυττάριου χώρου. Αυτοί οι δύο βασικοί τύποι αλληλεπιδράσεων όχι μόνο επιτρέπουν στα κύτταρα να ενωθούν σε ξεχωριστούς ιστούς αλλά επίσης δίνουν ένα νόημα για την αμφίδρομη μεταφορά πληροφοριών μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού του κυττάρου.

Στο κείμενο αυτό μας ενδιαφέρει να μελετήσουμε την δομή και τη λειτουργία των επιθηλίων καθώς και τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις τους οι οποίες θα μας δώσουν τις βιοφυσικές διαδικασίες μεταφοράς.

3.3 ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΙ ΙΣΤΟΙ

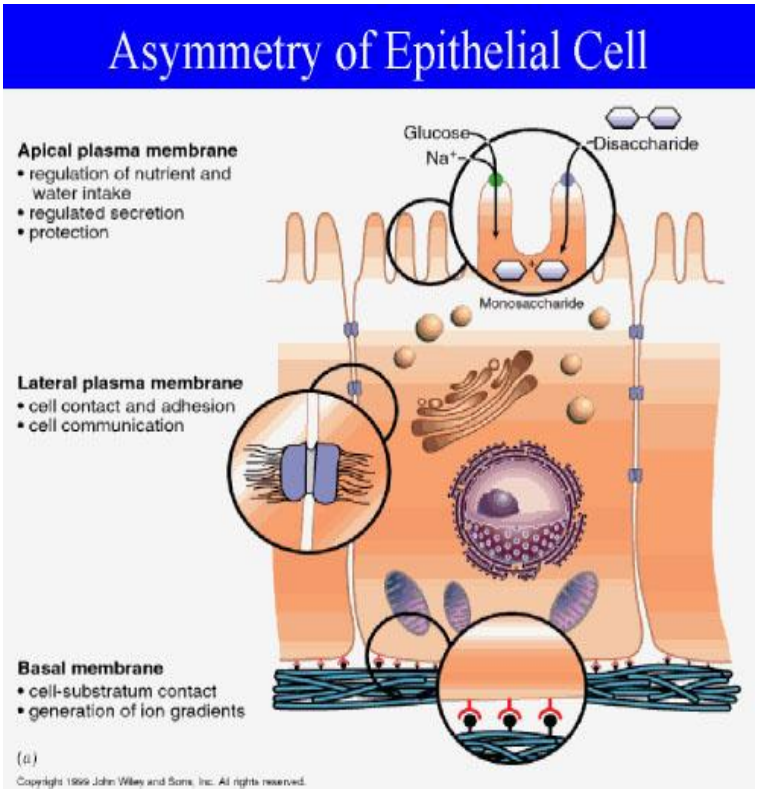
3.3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το επιθήλιο είναι μία διαφορετική ομάδα ιστών η οποία, πλην σπάνιων εξαιρέσεων, καλύπτουν όλη τις επιφάνειες του σώματος, τις κοιλότητες και τους πόρους. Το επιθήλιο δρα ως μεσάζων μεταξύ διαφορετικών βιολογικών τμημάτων. Ως τέτοιο το επιθήλιο μεσολαβεί σε μια μεγάλη γκάμα δραστηριοτήτων όπως επιλεκτική διάχυση, απορρόφηση και φυσική προστασία. Παραδείγματος χάρη , το επιθηλιακό εσωτερικό του μικρού εντέρου συμμετέχει πρωτίστως στην απορρόφηση των προϊόντων της πέψης και επίσης προστατεύει τον εαυτό του από τις βλαβερές εσωτερικές ουσίες με την απόκρυψη μιας ειδικής επιφανείας βλέννας.

Όλα τα επιθήλια υποστηρίζονται από μια βασική μεμβράνη διαφόρου πάχους. Οι μεμβράνες της βάσης χωρίζουν τα επιθήλια από τους θεμελιώδεις ιστούς. Αντί για την μεμβράνη βάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο όρος *basal lamina* ή *external lamina.* Ο όρος basal lamina υπάρχει επίσης στον επιθηλιακό έλεγχο της εξέλιξης και της διαφοροποίησης του, φτιάχνοντας έναν αδιαπέραστο ύφαλο στην προς τα κάτω ανάπτυξη του επιθηλίου. Αυτό παύει να ισχύει μόνο εάν το επιθήλιο υποστεί καταστροφική μετάλλαξη.

Τα επιθήλια είναι συνήθως πολωμένα που σημαίνει ότι οι πλευρές κάθε κυττάρου είναι δομικά και λειτουργικά διαφορετικές. Η πλευρά του επιθηλιακού κυττάρου που κοιτάει προς την παροχή αίματος είναι η βασική επιφάνεια. Οι πλευρές λέγονται πλευρικές επιφάνειες και η πάνω μεριά λέγεται κορυφαία επιφάνεια (μακριά από την παροχή αίματος).

Η εικόνα 7 δείχνει την ασυμμετρία ή την πολικότητα των επιθηλιακών κυττάρων.



Εικόνα 7 . Η ασυμμετρία των επιθηλιακών κυττάρων

3.3.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΩΝ

Τα επιθήλια είναι παραδοσιακά ταξινομημένα σύμφωνα με τα τρία ακόλουθα μορφολογικά χαρακτηριστικά:

I. Τον αριθμό των κυτταρικών στρωμάτων: ένα στρώμα επιθηλιακών κυττάρων λέγεται απλό επιθήλιο, ενώ επιθήλια που αποτελούνται από διάφορα στρώματα διαστρωματοποιημένα επιθήλια.

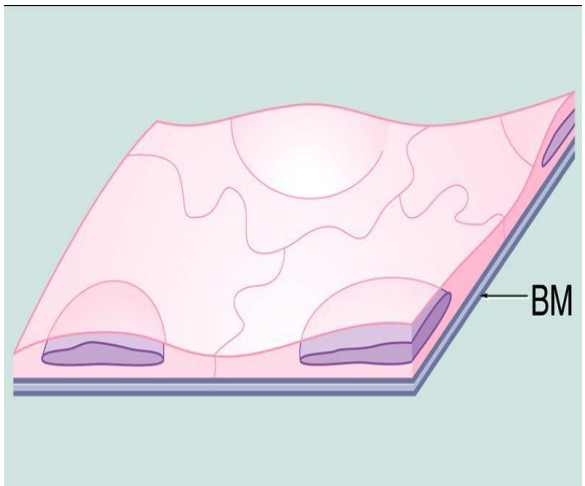
II. Το σχήμα των κυττάρων που τα αποτελούν: με λεπιδοειδή επιθηλιακά κύτταρα, κιονοειδή και κυβοειδή. Στα διαστρωματοποιημένα επιθήλια το σχήμα του εξωτερικού στρώματος των κυττάρων καθορίζει την περιγραφική ταξινόμηση.

III. Την παρουσία ιδιομορφιών στην επιφάνεια όπως βλέφαρα και κερατίνη.

3.3.2.1 ΑΠΛΟ ΕΠΙΘΗΛΙΟ

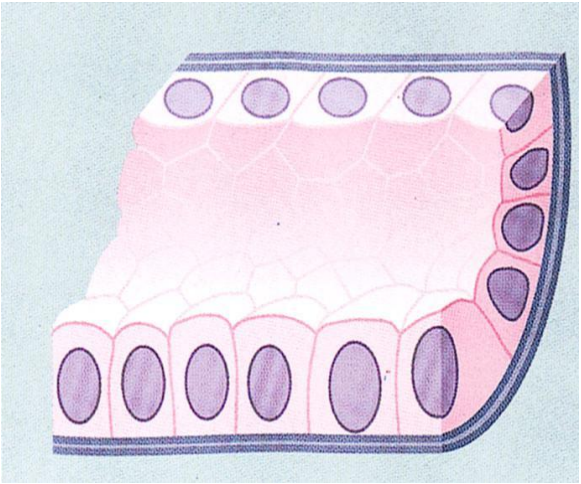
Απλά επιθήλια ορίζουμε επιφανειακά επιθήλια που αποτελούνται από ένα στρώμα κυττάρων. Τα απλά επιθήλια τα συναντάμε σχεδόν πάντα στις διασυνδέσεις που αφορούν επιλεκτική διάχυση, απορρόφηση και απόκρυψη. Προβάλλουν μικρή προστασία απέναντι στις μηχανικές πιέσεις. Τα κύτταρα που αποτελούν τα απλά επιθήλια εκτείνονται σε σχήμα από υπερβολικά επίπεδα μέχρι ψηλά κιονοειδή, ανάλογα την λειτουργία τους. Τα απλά επιθήλια μπορεί να παρουσιάσουν μια σειρά από επιφανειακές ιδιομορφίες όπως microvilli και cilia, που διευκολύνουν τις επιφανειακές λειτουργίες τους. Μερικοί τύποι απλών επιθηλίων ακολουθούν παρακάτω:

I. Το απλό λεπιδοειδές επιθήλιο το οποίο αποτελείται από επιπεδοποιημένα ανώμαλα σχηματικά κύτταρα φτιάχνοντας μια συνέχεια η οποία μπορεί επίσης να οριστεί ως λιθόστρωτο επιθήλιο. (εικόνα 8).



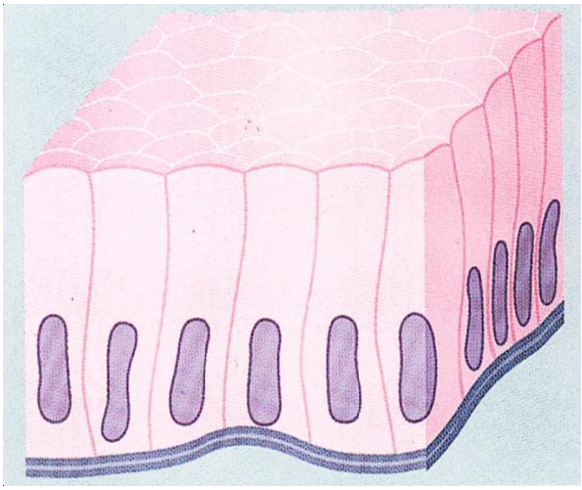
Εικόνα 8. Απλό λεπιδοειδές επιθήλιο

II. Το απλό κυβοειδές επιθήλιο αντιπροσωπεύει έναν ενδιάμεσο τύπο μεταξύ του απλού λεπιδοειδούς επιθηλίου και του απλού κιονοειδούς επιθηλίου. Το σχήμα του κυττάρου είναι σχεδόν τετράγωνο, γεγονός που μας οδηγεί να το χαρακτηρίσουμε κυβοειδές επιθήλιο. Ο πυρήνας είναι συνήθως κυκλικός και βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου. (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Απλό κυβοειδές επιθήλιο

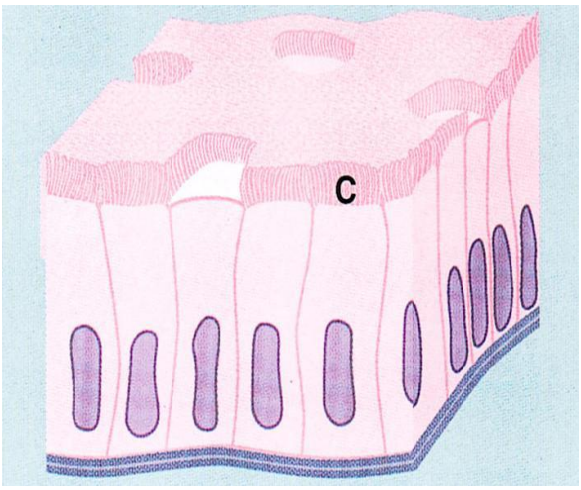
III. Το απλό κιονοειδές επιθήλιο είναι παρόμοιο με το απλό κυβοειδές με την διαφορά ότι τα κύτταρα είναι ψηλότερα εμφανίζονται κιονοειδή. Η περιοχή των πυρήνων είναι επιμηκυμένη και μπορεί να βρίσκεται μπροστά από την βάση, το κέντρο ή ενίοτε στην κορυφή του κυτοπλάσματος. (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Απλό κιονοειδές επιθήλιο

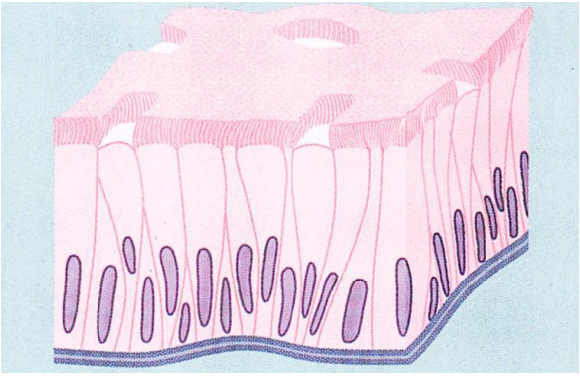
IV. Το απλό κιονοειδές βλεφαριδωτό επιθήλιο παραδοσιακά περιγράφεται ως ξεχωριστή οντότητα εξ αιτίας της παρουσίας των επιφανειακών ιδιομορφιών που ονομάζονται βλεφαρίδες(cilia) στην πλειοψηφία των κυττάρων. Μεταξύ αυτών των κυττάρων υπάρχουν διάσπαρτα μη

βλεφαριδωτά κύτταρα που έχουν συνήθως εκκριτική λειτουργία. (Εικόνα 11).



Εικόνα 11.Απλό κιονοειδές βλεφαριδωτό επιθήλιο

V. Τα ψευδοδιαστρωματοποιημένα κιονοειδή βλεφαριδωτά επιθήλια. Ο όρος ψευδοδιαστρωματοποιημένα παράγεται από την εμφάνιση αυτού του επιθήλιου που δίνει την εντύπωση ότι δεν αποτελείται από μόνο ένα στρώμα κυττάρων. Στην πραγματικότητα είναι ένα απλό επιθήλιο ωστόσο οι πυρήνες είναι τοποθετημένοι σε διαφορετικά επίπεδα, έτσι δημιουργείται η ψευδαίσθηση της κυτταρικής διαστρωμάτωσης. (Εικόνα 12).

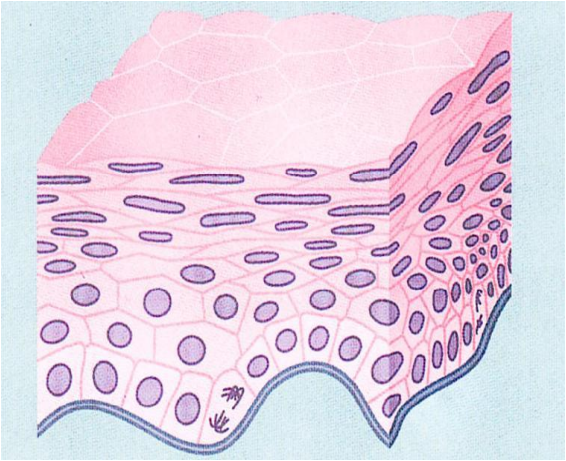


Εικόνα 12. Ψευδοδιαστρωματοποιημένα κιονοειδή βλεφαριδωτά επιθήλια

3.3.2.2 ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑ

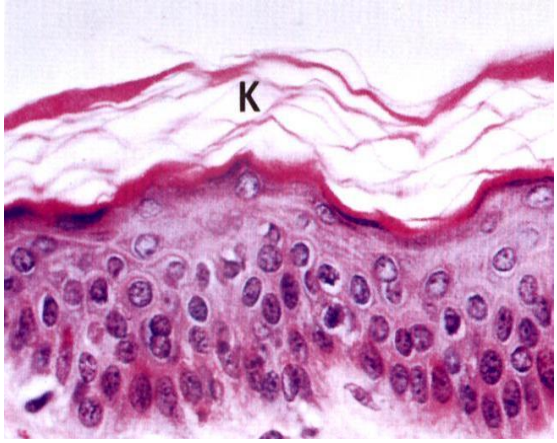
Διαστρωματοποιημένα επιθήλια ορίζονται τα επιθήλια που αποτελούνται από δύο ή περισσότερα στρώματα κυττάρων και έχουν κυρίως προστατευτικές λειτουργίες. Η ταξινόμηση των διαστρωματοποιημένων επιθηλίων βασίζεται στο σχήμα και την δομή των επιφανειακών κυττάρων καθώς τα κύτταρα της βάσης είναι συνήθως κυβοειδές σχήμα.:

I. Τα διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή επιθήλια αποτελούνται από έναν αριθμό κυτταρικών στρωμάτων τα οποία παρουσιάζουν αλλαγή από το κυβοειδές βασικό στρώμα μέχρι το επιπεδοποιημένο επιφανειακό στρώμα. Τα διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή επιθήλια αντέχουν στις τριβές και υπάρχουν στην στοματική κοιλότητα, στον οισοφάγο, στον φάρυγγα και σε άλλα σημεία. (Εικόνα 13).



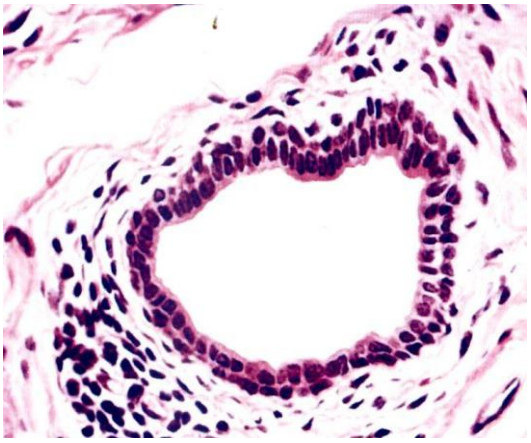
Εικόνα 13. Διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή επιθήλια

II. Τα διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή κερατοειδή επιθήλια. Αυτός ο ειδικός τύπος διαστρωματοποιημένων λεπιδοειδών επιθηλίων αποτελεί την επιθηλιακή επιφάνεια του δέρματος (την επιδερμίδα). Η πάνω πλευρά αυτού του επιθηλίου καλύπτεται από μία νεκρή επιφάνεια που αποτελείται από κερατίνη. (Εικόνα 14).



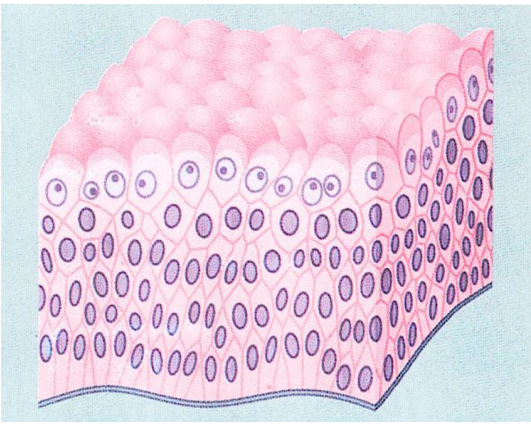
Εικόνα 14.Διαστρωματοποιημένα λεπιδοειδή κερατοειδή επιθήλια

III. Τα διαστρωματοποιημένα κυβοειδή επιθήλια είναι λεπτά επιθήλια τα οποία αποτελούνται από δύο ή τρία στρώματα κυβοειδών ή χαμηλών κιονοειδών κυττάρων. Αυτός ο τύπος επιθηλίου βρίσκεται στους σιελογόνους αδένες. (Εικόνα 15).



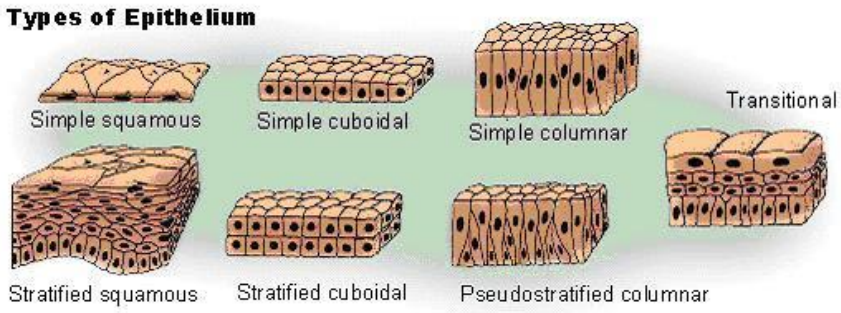
Εικόνα 15.Διαστρωματοποιημένα κυβοειδή επιθήλια

IV. Τα ενδιάμεσα επιθήλια είναι ένας τύπος διαστρωματοποιημένων επιθηλίων που βρίσκεται σχεδόν αποκλειστικά στην ουροδόχο κύστη των θηλαστικών . Αυτός ο τύπος επιθηλίου ονομάζεται έτσι γιατί έχει κάποια χαρακτηριστικά που είναι ενδιάμεσα μεταξύ διαστρωματοποιημένων κυβοειδών και διαστρωματοποιημένων λεπιδοειδών επιθηλίων. (Εικόνα 16).



Εικόνα 16. Ενδιάμεσα επιθήλια

Στην εικόνα 17 συνοψίζονται μερικοί από τους πιο σημαντικούς τύπους επιθηλιακών δομών.



Εικόνα 17.Βασικοί τύποι επιθηλιακών δομών

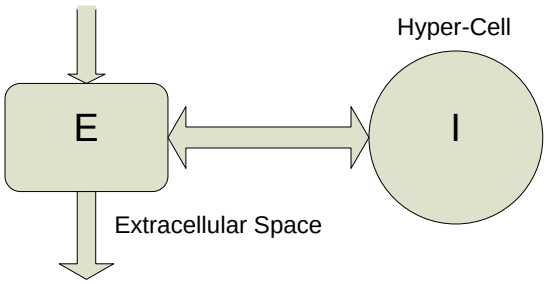
3.4 ΒΙΟΦΥΣΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΟΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΙΣΤΟ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ

3.4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Έρευνες έδειξαν ότι το οξικό οξύ όντας ασθενές διίσταται σε μικρότερο βαθμό στον όξινο εξωκυττάριο χώρο των νεοπλαστικών κυττάρων κάτι που επιτρέπει την εκτενή παθητική διάχυσή του στον εσωκυτταρικά. Εκεί διίσταται σε μεγαλύτερο βαθμό ,εξ αιτίας του ουδέτερου ph, σε ιόντα υδρογόνου και οξικού άλατος τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν μορφολογικές αλλαγές στις πρωτείνες του πυρήνα. Αυτό αλλάζει τον τοπικό δείκτη διάθλασης μεταμορφόνοντας το επιθήλιο από διαφανές σε αδιαφανές, δημιουργόντας το οπτικό σήμα που φαίνεται κατά την λεύκανση.Την ίδια στιγμή αντλίες ιόντων και βιοχημικές κυτταρικές διεργασίες ενεργοποιούνται για την απορροή και μεταβολισμό των παραγώμενων ιόντων αντίστοιχα με αποτέλεσμα την αναστροφή του φαινομένου. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται μέχρις ότου το οξικό οξύ καταναλωθεί ή διοχετευθεί στους υποκείμενους ιστούς.Η μελέτη του φαινομένου αυτού οδήγησε στην ανάπτυξη ενός βιοφυσικού μοντέλου και επιβεβαιωσή του από πειραματικά δεδομένα. [1]. Οι παραμέτροι του μοντέλου συσχετίστηκαν με τις δομικές και λειτουργικές αλλαγές του επιθηλίου που επιφέρει η νεοπλασία και μας οδήγησε στην in vivo ποσοτική μελέτη των χαρακτηριστικών αυτών.Μέρος του μοντέλου αυτού αναπτύχθηκε για τις ανάγκες δημιουργίας μιας πλατφόρμας διαμερισματικής μοντελοποίησης την οποία περιγράφουμε παρακάτω.

Το επιθήλιο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μπορεί να περιγραφεί σαν ένα πολυεπίπεδο επιθήλιο που αλλάζει τόσο δομικά όσο και λειτουργικά κατά τη διάρκεια του CIN. Η πιο προφανής δομική αλλαγή συνδέεται με την εξέλιξη του CIN είναι η απώλεια διάκρισης του κυττάρου. Η κυτταρική ομογενοποίηση στο CIN μπορεί να οδηγήσει στη γενική παραδοχή ότι κάθε δυσπλαστικό επίπεδο αποτελείται από ένα σύστημα δύο τμημάτων. Το πρώτο τμήμα σχετίζεται με τα κύτταρα που περιέχονται στο επίπεδο και το δεύτερο τμήμα με το αντίστοιχο εξωκυττάριο χώρο. Διαφορετικά μπορεί να ειπωθεί ότι τα κύτταρα κάθε δυσπλαστικού επιπέδου αποτελούν ένα «υπερ-κύτταρο» και για

κάθε «υπερ-κύτταρο» υπάρχει ο αντίστοιχος εξωκυττάριος χώρος. Σχηματικά το παραπάνω μοντέλο είναι ως εξής:

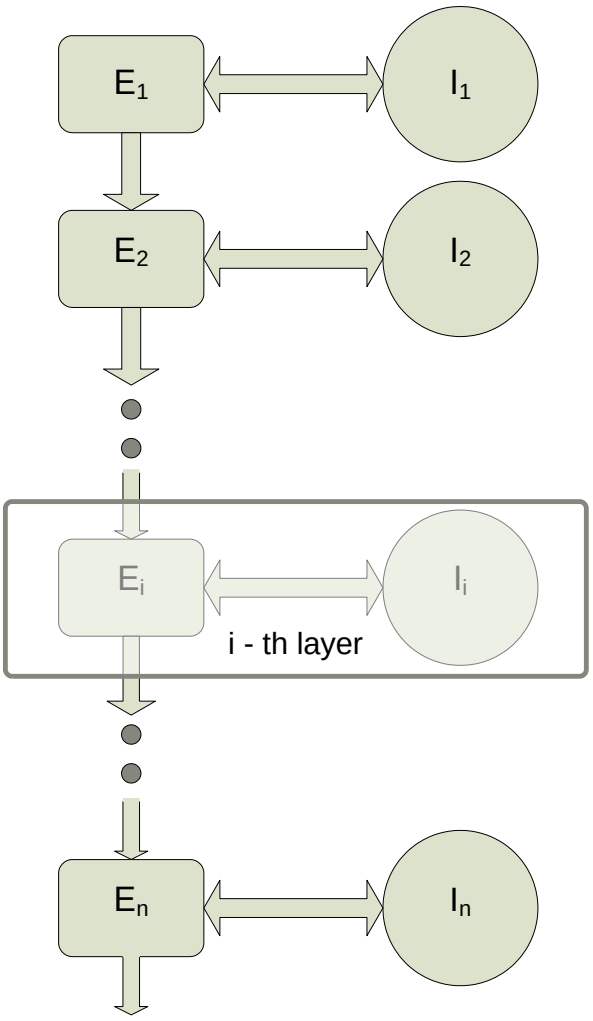


Εικόνα 18.Το υπερ-κύτταρο ενός δυσπλαστικού στρώματος με το αντίστοιχο εξωκυττάριο χώρο.

Το οξικό οξύ διασπάται σταδιακά στον εξωκυττάριο χώρο, με αποτέλεσμα να προκαλεί μια μείωση στην τιμή του εξωκυτταρικού PH. Η ενοποιημένη μορφή του οξικού οξέος είτε διαχέεται παθητικά διαμέσου λιπιδιακών μεμβρανών στο εσωτερικό του κυττάρου είτε περνάει μέσω σφιχτών ενώσεων στο επόμενο επιθηλιακό επίπεδο(Η διάμετρος μιας σφιχτής ένωσης είναι από 4.9 ως 7 Ǻ , ενώ η ακτίνα του οξικού οξέος είναι 3 Ǻ, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το οξικό οξύ περνά ελεύθερα μέσω των σφιχτών ενώσεων.
Εξ' αιτίας της "charge-dependent" συμπεριφοράς των σφιχτών ενώσεων η υπόθεση ότι μόνο η ενοποιημένη μορφή του οξικού οξέος διαχέεται είναι αποδεχτή. Στον εσωκυττάριο χώρο το οξικό οξύ διασπάται, προκαλώντας μια πτώση του PH, όπως στον εξωκυττάριο χώρο. Για να αντέξει το κύτταρο την μείωση και να κανονικοποιήσει το εσωτερικό PH ,υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί buffering και εξώθησης πρωτονίων (pumping). Μετά την ενεργοποίηση της εξώθησης πρωτονίων, το PH σταδιακά επανέρχεται στις προηγούμενες σταθερές κανονικές του τιμές(το buffering απλώς ελαχιστοποιεί την αλλαγή του PH). Το φαινόμενο διαρκεί μέχρι η ποσότητα του αρχικού οξικού οξέος διασχίσει όλο το επιθήλιο και φτάσει στην βασική μεμβράνη περνώντας στον υποκείμενο συνδετικό ιστό.
Καθώς παραθέτουμε την ανάλυση του μοντέλου «συστήματος δύο τμημάτων» , δυο ακόμη παραδοχές πρέπει να ληφθούν υπ' όψει. Τα τμήματα είναι καλά αναμεμειγμένα και ομοιογενή κινητικά. Αυτές οι περαιτέρω παραδοχές

επιτρέπουν την σχέση κάθε τμήματος με μια σταθερή μεταβλητή (για παράδειγμα συγκέντρωση ή μάζα) και την σύνδεση δύο ή περισσότερων τμημάτων έτσι ώστε μια συνολική εισροή και εκροή να μπορεί να υπολογιστεί για κάθε ζευγάρι τμημάτων ξεχωριστά.

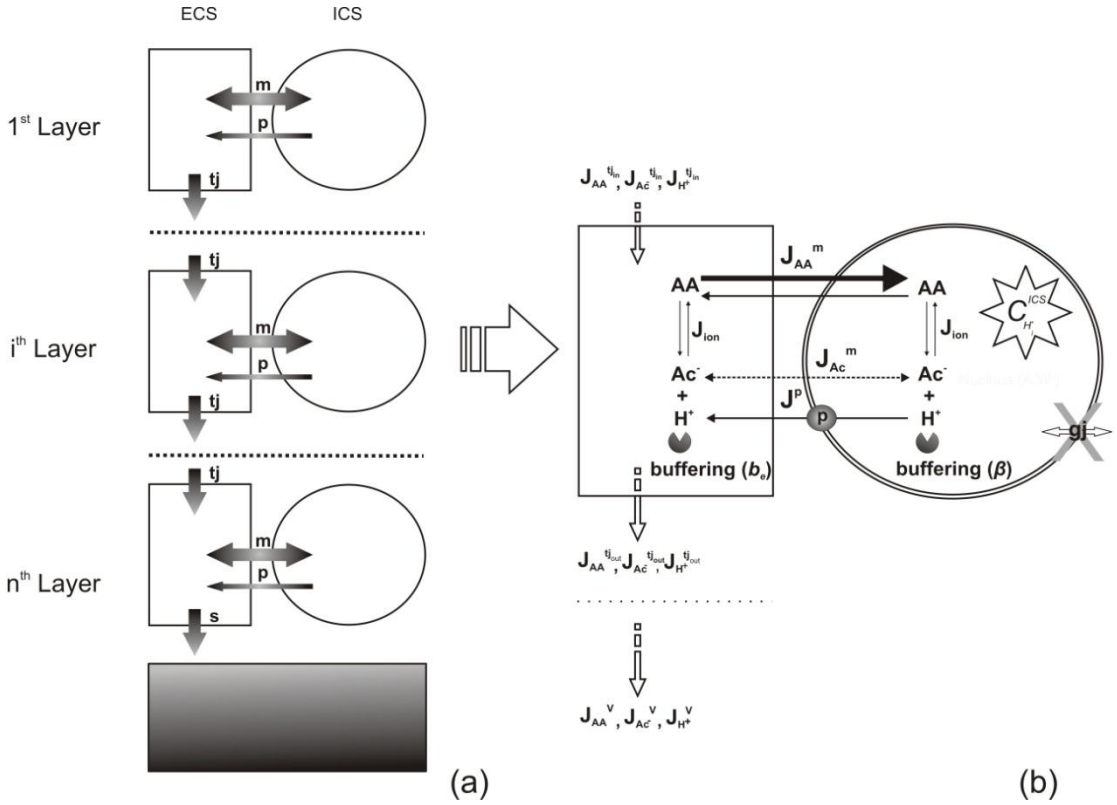
Είναι ξεκάθαρο ότι ο αριθμός δυσπλαστικών επιπέδων καθορίζει τον αριθμό και των τμηματικών επιπέδων. Μια παρουσίαση μιας δυσπλαστικής βλάβης N επιπέδων δίνεται σχηματικά παρακάτω.



Εικόνα 19. Τα κυτταρικά επίπεδα

Ο αριθμός των κυττάρων που αποτελούν ένα επίπεδο παίζει επίσης πολύ σημαντικό ρόλο, καθώς όπως θα εξηγηθεί παρακάτω επιδρά σε μια σειρά παραμέτρων του μοντέλου που μελετάμε. Ο αριθμός μπορεί να υπολογισθεί διαιρώντας το μήκος του επιθηλιακού ιστού, το οποίο αντιστοιχεί σε ένα pixel μιας εικόνας, με το μήκος ενός δυσπλαστικού επιθηλιακού κυττάρου.

Πειραματικά στοιχεία δείχνουν ότι το κανονικό επιθήλιο δεν συμμετέχει στο φαινόμενο της ασετονολευκανσης (acetowhitening). Υπενθυμίζουμε ακόμη ότι κανένα σήμα από ένα κανονικό επιθηλιακό ιστό δεν ανιχνεύεται. Επίσης, σε CIN το γενετικό σήμα ξεκινά σχεδόν αμέσως μετά την εφαρμογή του οξικού οξέος. Αυτές οι δύο παρατηρήσεις οδηγούν στην υπόθεση ότι τα κανονικά επίπεδα του ιστού μπορούν να αποκλειστούν από την μοντελοποίηση και ότι το οξικό οξύ αμέσως μετά την εφαρμογή του φτάνει στο πρώτο δυσπλαστικό επίπεδο.



Εικόνα 20 (a) Τα επιθηλιακά τμήματα και οι διαχύσεις μεταφοράς (b) Το κυτταρικό μοντέλο δύο τμημάτων και οι διαχύσεις μεταφοράς.

Στις επόμενες παραγράφους παρουσιάζουμε ποσοτικά και ποιοτικά όλα τα φαινόμενα και τους μηχανισμούς που συμβαίνουν κατά την διάρκεια της δράσης του οξικού οξέος στο δυσπλαστικό επιθήλιο, μη συμπεριλαμβάνοντας τις βιοφυσικές διεργασίες διάχυσης των ιοντων.

3.4.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ

Έχει βρεθεί ότι το μέσο βάθος ενός επιθηλίου του τραχήλου είναι 360μm. Υποθέτωντας ότι όλα τα τμήματα (βασικό, παραβασικό, ενδιάμεσο και εξωτερικό) καλύπτουν ίσες περιοχές, προκύπτει ότι το ύψος καθενός είναι 360/4=90μm. Ο συνολικός αριθμός των επιθηλιακών επιπέδων για κάθε στάδιο του CIN εκτιμάται από την ακόλουθη σχέση:

$$n = \sum_{i=1}^{4} \frac{90}{h_i}$$

Όπου το *n* είναι ο συνολικός αριθμός των επιπέδων και h_i ,είναι το ύψος του κυττάρου για κάθε επιθηλιακό τμήμα. Έτσι λοιπόν ο συνολικός αριθμός των δυσπλαστικών επιπέδων στο κυβοειδές επιθήλιο του τραχήλου, στα διάφορα στάδια του CIN, υπολογίζεται χρησιμοποιόντας την ανωτέρω εξίσωση και οι μορφολογικές τιμές του κυττάρου παίρνονται από ον πίνακα 1 που ακολουθεί:

$$n_{CIN_1} = 90/13 \cong 7,$$

$$n_{CIN_2} = 90/13 + 90/15 \cong 13 \text{ and}$$

$$n_{CIN_3} = 90/13 + 90/16 + 90/16 + 90/14 \cong 7.$$

Πίνακας 1. Διαστάσεις των επιθηλιακών κυττάρων

Τύπος Ιστούς	Μήκος (μm)	Υψος (μm)	Υπολογισμένο n:c volume ratio
Normal	66 ± 9.2	14 ± 4.8	0.01
Normal	52 ± 10	14 ± 4.7	0.01
Normal	31 ± 6.0	17 ± 5.1	0.03
Normal	16 ± 3.2	15 ± 5.0	0.19
CIN I	46 ± 10	14 ± 1.3	0.01
CIN I	41 ± 9.4	14 ± 2.4	0.01
CIN I	25 ± 5.0	16 ± 3.8	0.04
CIN I	12 ± 4.2	13 ± 2.2	0.21
CIN II	38 ± 7.1	15 ± 2.3	0.02
CIN II	25 ± 7.1	17 ± 4.1	0.04
CIN II	18 ± 5.0	15 ± 2.5	0.17
CIN II	12 ± 1.6	13 ± 1.7	0.33
CIN III	20 ± 5.5	13 ± 3.2	0.14
CIN III	18 ± 5.9	16 ± 1.8	0.15
CIN III	15 ± 3.6	16 ± 1.5	0.20
CIN III	13 ± 2.3	14 ± 2.4	0.28

Αυτές οι τιμές καθορίζουν τον αριθμό των συστημάτων δύο τμημάτων που συνθέτουν το επιθηλιακό μοντέλο για κάθε στάδιο του CIN και αποτελεί την είσοδο για το στάδιο του CIN που θα αναλυθεί.

3.4.3 ΙΟΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το οξικό οξύ διασπάται τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον εσωκυττάριο χώρο. Η έκταση της διάσπασης επηρεάζεται από την τιμή του PH σε κάθε χώρο αντίστοιχα. Έτσι στο οξικό εξωκυττάριο χώρο αναμένουμε μικρότερη έκταση από τον αλκαλικό εσωκυττάριο χώρο.

Ο ιονισμός του οξικού οξέος αντιπροσωπεύεται από την ακόλουθη χημική εξίσωση.

$$CH_3COOH \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} CH_3COO^- + H^+$$

Όπου k_1 και k_2 οι σταθερές διάσπασης και ένωσης αντίστοιχα. Σύμφωνα με τον νόμο της δράσης της μάζας, ο ρυθμός του ιονισμού του οξικού οξέος δίνεται από την σχέση

$$R(t) = -k_1 C_1(t) + k_2 C_2(t) C_3(t) \qquad (1)$$

$C_1(t)$, $C_2(t)$ and $C_3(t)$ αντιστοιχούν στις συγκεντρώσεις του οξικού οξέος, των οξικών ιόντων και των ιόντων υδρογόνου.

Σε χημική ισορροπία(όπου $R_i(t) = 0$) ισχύει η ακόλουθη σχέση

$$K = \frac{k_1}{k_2} = \frac{C_2(t) C_3(t)}{C_1(t)} \qquad (2)$$

όπου K_e είναι η σταθερά ισορροπίας. Η σταθερά ισορροπίας συνήθως σε λογαριθμική μορφή

$$pK_e = -logK_e \qquad (3)$$

Η εξάρτηση της σταθεράς ισορροπίας pK_e από την θερμοκρασία δίνεται ως εξής:

$$pK = \frac{1140.48}{T} - 3.1649 + 0.013399T \qquad (4)$$

Στους 25 ^{0}C, $pK_e = 4.75$ και στους 37 ^{0}C (θερμοκρασία σώματος) $pK_e = 4.76$. Όπως μπορούμε εύκολα να διακρίνουμε δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά μεταξύ των δύο θερμοκρασιών.

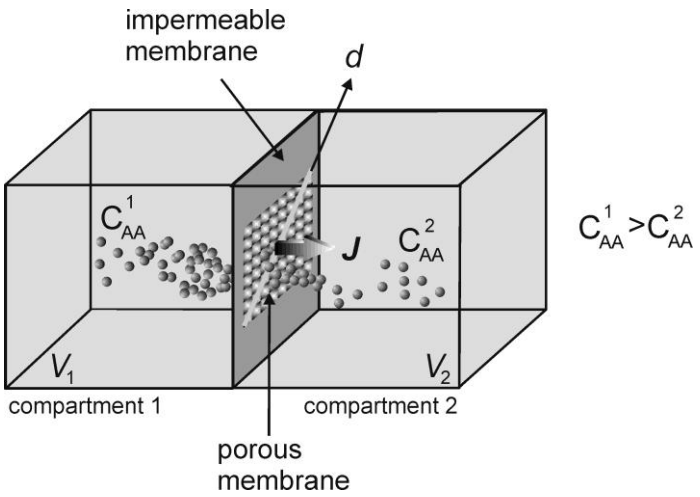
3.4.4 ΠΑΘΗΤΙΚΗ ΔΙΑΧΥΣΗ ΜΟΡΙΩΝ

Η ροή των μορίων στο θετικό άξονα X, *J(x,t),*είναι ανάλογη με τη χωρική μεταβολή των μορίων συγκέντρωσης *c(x,t)*,

$$J(x,t) = -D\frac{\partial c(x,t)}{\partial x} \qquad (5)$$

Όπου D είναι ο παράγοντας διάχυσης ή διαπερατότητα και είναι ανεξάρτητη από τις μονάδες που χρησιμοποιούνται για τον αριθμό των μορίων που διαχέονται.Αν υποθέσουμε ότι η ροή των μορίων είναι σταθερή πάνω σε μια ορισμένη επιφάνεια A και η συγκέντρωση είναι σταθερή όταν είναι ορισμένος ο όγκος V, τότε η εξίσωση (5) γίνεται:

$$J = -\frac{V}{A}\frac{dc}{dt} \qquad (6)$$



Εικόνα 21. Παθητική διάχυση μεταξύ δύο τμημάτων σε σταθερή κατάσταση

Υποθέτοντας ότι οι κινητικές είναι σε σταθερή κατάσταση σε κάθε χρονική στιγμή (steady state), η παθητική διάχυση μεταξύ δύο τμημάτων, με όγκους V_1,V_2 , και διαχωρισμένων από μια πορώδη μεμβράνη (p_m) επιφάνειας A_{pm} ελέγχεται από τον νόμο του Fick:

$$\frac{dq_1}{dt} = \frac{KAD}{L}(C_2 - C_1) = PA(C_2 - C_1) \qquad (7)$$

όπου q_1 είναι η ποσότητα οξέος στο πρώτο διαμέρισμα (mol), C_1 και C_2 είναι οι συγκεντρώσεις των οξέων στα δύο διαμερίσματα (mol l^{-1}), K είναι η σταθερά αναλογίας λαδιού με νερού του οξέος (είναι το ποσοστό της συγκέντρωσης του οξέος στη φάση του λαδιού προς την αντίστοιχη στη φάση

του νερού), *A* είναι η επιφάνεια διάχυσης του κυττάρου (cm^2), *D* είναι η σταθερά διάχυσης ($cm^2\ s^{-1}$) and *L* είναι τα πάχος της μεμβράνης (cm) και *P* ο παράγοντας διείσδυσης.

Το οξικό οξύ χρησιμοποιείται στην (5) σε δυο μορφές, ως ποσότητα (mol) και ως συγκέντρωση ($mol\ l^{-1}$). Με σκοπό να διατηρηθεί μία μορφή, χρησιμοποιείται η ακόλουθη εξίσωση

$$q = CV \qquad (8)$$

όπου *V* είναι ο όγκος (l) του αντίστοιχου διαμερίσματος. Έτσι η (7) διαφοροποιείται ως εξής:

$$R_{pd\,1\rightarrow 2} = \frac{dC_2}{dt} = P\frac{A}{V_2}(C_2 - C_1) \qquad (9)$$

όπου $R_{pd1\rightarrow 2}$ είναι ο ρυθμός αλλαγής της συγκέντρωσης εξαιτίας της διάχυσης από το πρώτο διαμέρισμα στο δεύτερο.

3.4.5 ΕΣΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΙ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟ BUFFERING

Ο μαθηματικός ορισμός της διατήρησης του ph ενός διαλύματος δίνεται παρακάτω.

Η δύναμη διατήρησης του ph ή η ικανότητα διατήρησης του ph ενός διαλύματος είναι η συγκέντρωση των πρωτονίων η οποία πρέπει να προστεθεί ή να αφαιρεθεί έτσι ώστε το ph να διαφοροποιηθεί κατά μία μονάδα. Σε μία αυστηρά μαθηματική βάση , η διατήρηση του ph ορίζεται ως εξής:

$$\beta = -\frac{d[H^+]}{dPH} \qquad (10)$$

(με μονάδα $M\ PH^{-1}$) όπου $[H^+]$ είναι η ποσότητα των προστιθέμενων ή αφαιρούμενων πρωτονίων . Το μείον σημαίνει ότι η διατήρηση του ph αντιδρά

στην αλλαγή των πρωτονίων. Γενικά η δύναμη διατήρησης του ph ενός διαλύματος εξαρτάται από την τιμή ph , αλλά χάριν ευκολίας εδώ την παίρνουμε ως σταθερά (12).

$$-\beta \frac{d[H^+]}{dPH} = \frac{d[H^+]}{dt} \qquad (11)$$

Όπου το $\frac{d[H^+]}{dt}$ αντιπροσωπεύει τον ρυθμό αλλαγής των προστιθέμενων ή αφαιρούμενων πρωτονίων και το $\frac{dpH}{dt}$ αντιπροσωπεύει τον ρυθμό αλλαγής του PH. Ο όρος $\frac{d[H^+]}{dt}$ είναι μη γραμμικός επειδή περικλείει την διάσπαση του οξέος και τις κινητικές εκβολής του οξέος. Ο όρος $\frac{dpH}{dt}$ επίσης είναι μη γραμμικός εξ αιτίας της λογαριθμικής φύσης του pH. Ισχύει,

$$\frac{d[H^+]}{dt} = -\frac{d\ log[H^+]_b}{dt} = -\frac{1}{ln10}\frac{1}{[H^+]_b}\frac{d[H^+]_b}{dt} \qquad (12)$$

όπου $[H^+]_b$ είναι η συγκέντρωση πρωτονίων (μετά την επίδραση της διατήρησης του ph). Άρα ο ρυθμός αλλαγής των πρωτονίων ενός διαλύματος με την επίδραση της διατήρησης του ph θα είναι :

$$\frac{d[H^+]_b}{dt} = \frac{ln10}{\beta}[H^+]_b\frac{d[H^+]}{dt} \qquad (13)$$

3.4.6 ΑΠΟΒΟΛΗ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ(PUMPING)

Εκτός από την διαδικασία της διατήρησης του ph ελεύθερα πρωτόνια μπορούν να αφαιρεθούν από τον εσωκυττάριο χώρο με μηχανισμούς αποβολής (pump). Ο ρυθμός αποβολής πρωτονίων από τον εσωκυττάριο χώρο στον αντίστοιχο εξωκυττάριο, εξαρτάται ουσιαστικά από την

συγκέντρωση του υδρογόνου.Για τον υπολογισμό του ρυθμού άντλησης πρωτονίων θεωρούμε την ύπαρξη μίας μονοκατευνθυτικής ροής :

$$P = k_p C_H^{ics} \qquad (14)$$

Όπου k_p είναι η σταθερά αποβολής πρωτονίων και C_H^{ics} είναι η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου στον εσωκυττάριο χώρο.

Όπως γίνεται αντιληπτό ο παράγοντας k_p αποτελεί τον ρυθμιστή της ταχύτητας της κανονικοποίησης του ph. Παρόλο που η σταθερά k_p, που καθορίζει πόσο γρήγορα ή αργά αποβάλει πρωτόνια το κύτταρο , εξαρτάται γενικά από το ph του εξωκυττάριου χώρου και την συγκέντρωση στον εξωκυττάριο χώρο, για τις ανάγκες του παρόντος μοντέλου θεωρούμε ότι έχει σταθερή τιμή.

3.4.7 ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Στο εδάφιο αυτό θα παρουσιάσουμε τις εξισώσεις που προσδιορίζουν το μοντέλο που μελετάμε. Οι μεταβλητές που μας απασχολούν για κάθε δυσπλαστικό επίπεδο είναι 6 , άρα τόσες θα είναι και οι εξισώσεις που θα προκύψουν για κάθε επίπεδο.Όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό αν έχουμε n δυσπλαστικά επίπεδα θα έχουμε 6 x n μαθηματικές εξισώσεις.

$$\dot{C}_{AA}^{ecs_i} = R_{AA}^{i-1\to i} - R_{AA}^{i\to i+1} + R_{AA}^{ics_i\to ecs_i} + R_{ion}^{ecs_i}$$

$$\dot{C}_{Ac}^{ecs_i} = R_{Ac}^{i-1\to i} - R_{Ac}^{i\to i+1} - R_{ion}^{ecs_i}$$

$$\dot{C}_{H}^{ecs_i} = R_{H}^{i-1\to i} - R_{H}^{i\to i+1} - R_{ion}^{ecs_i} + P$$

$$\dot{C}_{AA}^{ics_i} = R_{AA}^{ecs_i\to ics_i} + R_{ion}^{ics_i}$$

$$\dot{C}_{Ac}^{ics_i} = -R_{ion}^{ics_i}$$

$$\dot{C}_{H}^{ics_i} = -R_{ion}^{ics_i} - P$$

Κάνοντας χρήση των εξισώσεων [1],[9] και [14] οι έξι παραπάνω εξισώσεις γίνονται ως εξής:

- $\dot{C}_{AA}^{ecs_i} = \frac{k_{AA}}{V_{ecs}} C_{AA}^{i} - \frac{k_{AA}}{V_{ecs}} C_{AA}^{i-1} - \frac{k_{AA}}{V_{ecs}} C_{AA}^{i+1} + \frac{k_{AA}}{V_{ecs}} C_{AA}^{i} + \frac{k_{AAm}}{V_{ecs}} C_{AA}^{ecs_i} - \frac{k_{AAm}}{V_{ecs}} C_{AA}^{ics_i} - k_1 C_{AA}^{ecs_i} + k_2 C_{Ac}^{ecs_i} C_{H}^{ecs_i}$

- $\dot{C}_{Ac}^{ecs_i} = \frac{k_{Ac}}{V_{ecs}} C_{Ac}^{i} - \frac{k_{Ac}}{V_{ecs}} C_{Ac}^{i-1} - \frac{k_{Ac}}{V_{ecs}} C_{Ac}^{i+1} + \frac{k_{Ac}}{V_{ecs}} C_{Ac}^{i} + k_1 C_{AA}^{ecs_i} - k_2 C_{Ac}^{ecs_i} C_{H}^{ecs_i}$

- $\dot{C}_{H}^{ecs_i} = \frac{k_{H}}{V_{ecs}} C_{H}^{i} - \frac{k_{H}}{V_{ecs}} C_{H}^{i-1} - \frac{k_{H}}{V_{ecs}} C_{H}^{i+1} + \frac{k_{H}}{V_{ecs}} C_{H}^{i} + k_1 C_{AA}^{ecs_i} - k_2 C_{Ac}^{ecs_i} C_{H}^{ecs_i} - k_p C_{H}^{ics_i}$

- $\dot{C}_{AA}^{ics_i} = \frac{k_{AAm}}{V_{ics}} C_{AA}^{ics_i} - \frac{k_{AAm}}{V_{ics}} C_{AA}^{ecs_i} - k_1 C_{AA}^{ics_i} + k_2 C_{Ac}^{ics_i} C_{H}^{ics_i}$

- $\dot{C}_{Ac}^{ics_i} = k_1 C_{AA}^{ics_i} - k_2 C_{Ac}^{ics_i} C_{H}^{ics_i}$

- $\dot{C}_{H}^{ics_i} = k_1 C_{AA}^{ics_i} - k_2 C_{Ac}^{ics_i} C_{H}^{ics_i} + k_p C_{H}^{ics_i}$

Πινακας 2.Ορισμός μεταβλητών και παραμέτρων	
Μεταβλητές	
Σύμβολο	Ορισμός
C_{AA}^{ecs}	Συγκέντρωση εξωκυτταρικού οξικού οξέος (CH_3COOH)
C_{Ac}^{ecs}	Συγκέντρωση εξωκυτταρικού οξικού ιόντος (CH_3COO^-)
C_{H}^{ecs}	Συγκέντρωση εξωκυτταρικού υδρογόνου (H^+)
C_{AA}^{ics}	Συγκέντρωση εσωκυτταρικού οξικού οξέος (CH_3COOH)
C_{Ac}^{ics}	Συγκέντρωση εσωκυτταρικού οξικού ιόντος (CH_3COO^-)
C_{H}^{ics}	Συγκέντρωση εσωκυτταρικού Ηδρογόνου (H^+)
Παράμετροι	
i	i-th επίπεδο
k_1	Σταθερά διάσπασης
k_2	Σταθερά ένωσης
k_{AA}	Σταθερά διάχυσης Tj οξικού οξέος
k_{Ac}	Σταθερά διάχυσης Tj ιόντων
k_H	Σταθερά διάχυσης Tj υδρογόνων
k_{AAm}	Σταθερά διάχυσης οξικού οξέος από εξωκυττάριο σε εσωκυττάριο χώρο
k_p	Σταθερά αποβολής πρωτονίων

Πίνακας 3 Τιμές των παραμέτρων στο μοντέλο μας

Parameter	Value	Unit
pH_{ECS}	7.2	-
pH_{ICS}	6.8	-
ICS όγκος (V_{ICS})	3375	μm^3
ECS όγκος (V_{ECS})	225	μm^3
Επιφάνεια κυττάρου (A_{cell})	225	μm^2

TJ επιφάνεια (A_{tj})	15.0	μm^2
$P_{AA}{}^{m}$	70	μm/s
$P_{AA}{}^{tj}$	0.97	μm/s
$P_{Ac}{}^{tj}$	1.1	μm/s
$P_{H}{}^{tj}$	25	μm/s
Εσωκυτταρικό buffering (bics)	-10 – -50	mM
Εσωκυτταρικό buffering (bics)	-10 – -50	mM
Σταθερά αποβολής πρωτονίων (k_p)	50 – 150	μM/s

4 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΜΕΡΙΣΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΣΕ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

4.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΑΙΤΗΣΕΩΝ

Λαμβάνοντας υπ όψιν τις ανάγκες που προκύπτουν για την μελέτη και την περαιτέρω ανάλυση μοντέλων, όπως αυτό του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας που μελετάμε, οδηγούμαστε στο να αναζητούμε ένα λογισμικό που θα έχει όσα περισσότερα από τα παρακάτω χαρακτηριστικά, όπως αυτά προκύπτουν από την ανάλυση των απαιτήσεων του προβλήματός μας.

I. Αρχικά πρέπει να υπάρχει η δυνατότητα της διαμερισματικής μοντελοποίησης με σκοπό να καταφέρουμε να μοντελοποιήσουμε τα όποια επίπεδα κυττάρων έχουμε. Στην διαμερισματική μοντελοποίηση δημιουργούμε τις οντότητες που αντιπροσωπεύουν μέρη του μοντέλου μας και παρακολουθούμε την πορεία των συγκεντρώσεων διαφόρων ουσιών που έχουμε ορίσει μέσα σε αυτά.
II. Χρειαζόμαστε ακόμη τα διάφορα αυτά μέρη να επικοινωνούν μεταξύ τους, με σκοπό να αναπαραστήσουμε τις διάφορες διαχύσεις που λαμβάνουν χώρα τόσο στον εσωκυττάριο όσο και στον εξωκυττάριο χώρο καθώς επίσης και διάφορες ακόμη διεργασίες όπως αυτή της διάσπασης.
III. Επίσης θέλουμε να έχουμε τη δυνατότητα για παραμετρική ανάλυση με την οποία βάσει του μοντέλου μας μπορούμε να προβλέπουμε την καμπύλη συγκέντρωση-χρόνος για κάθε στιγμή.
IV. Τέλος χρειαζόμαστε ένα εργαλείο απεικόνισης των αποτελεσμάτων μας(γραφικών παραστάσεων).

Ύστερα από εκτενή έρευνα, με σκοπό την ανεύρεση κάποιου προγράμματος που να εξυπηρετεί τις ανάγκες μας καταλήξαμε σε κάποια προγράμματα που πλησιάζουν σε αυτό που θέλουμε αλλά το καθένα παρουσιάζει κάποιες αδυναμίες. Στη συνέχεια έχουμε μία σύντομη παρουσίαση των προγραμμάτων αυτών.

4.2 ΠΛΑΤΦΟΡΜΕΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΙΣΜΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

4.2.1 JSim

Το JSim είναι ένα Java-based σύστημα προσομοίωσης για κατασκευή πλήθους μαθηματικών μοντέλων και την ανάλυσή τους. Σκοπός αυτού του προγράμματος είναι να χρησιμοποιηθεί στην φυσιολογία και την βιοχημεία, ωστόσο η μηχανή υπολογισμού που χρησιμοποιεί του δίνει τη δυνατότητα να έχει μεγαλύτερη γκάμα εφαρμογών.

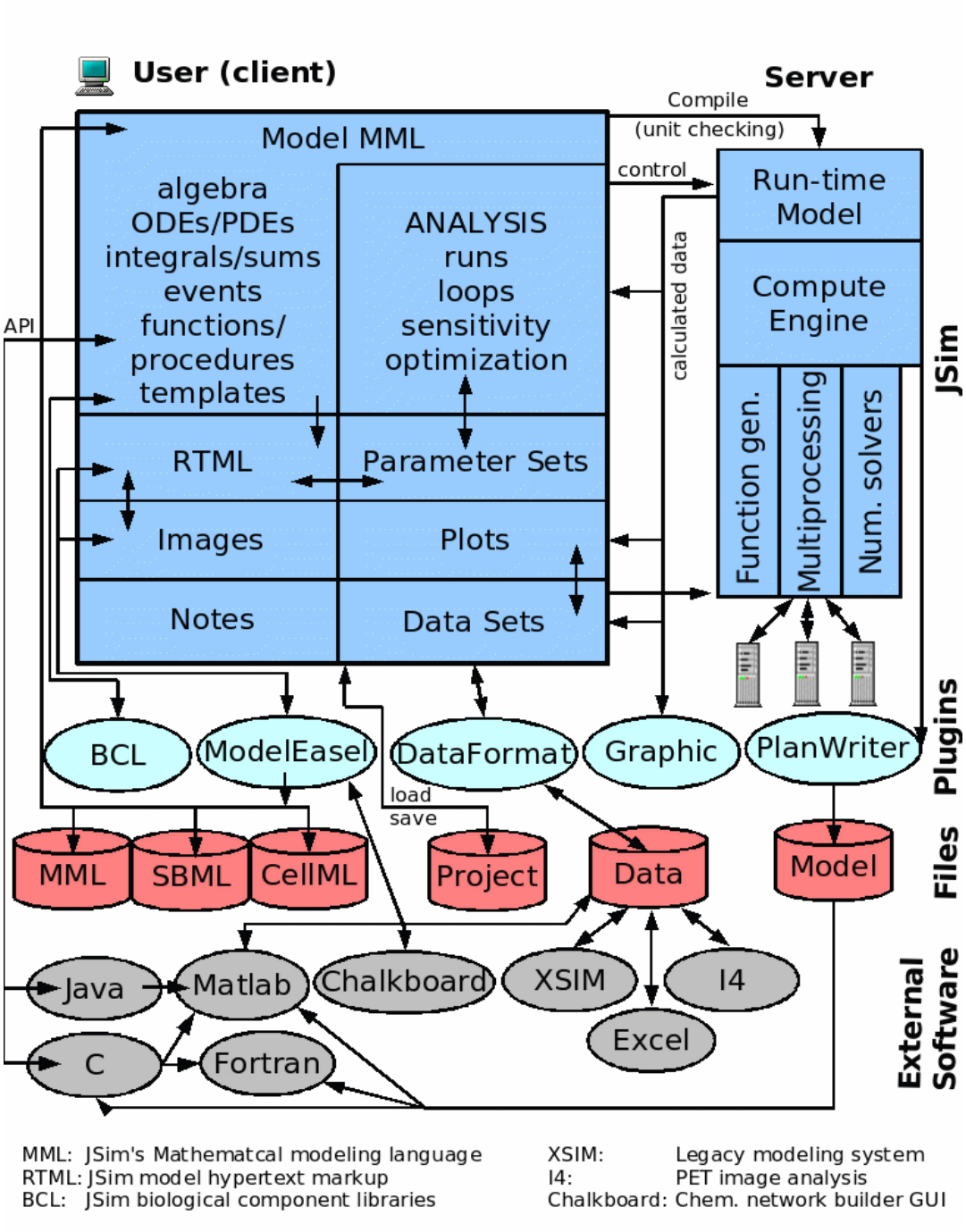
- Τα μοντέλα του JSim αποτελούνται από ένα σύνολο διαφορικών εξισώσεων , γραμμικών εξισώσεων, ολοκληρωμάτων, αθροισμάτων, διακριτών καταστάσεων και ακολουθιακού κώδικα τα οποία επιλύει.
- Ο μεταγλωττιστής του JSim μπορεί αυτόματα να εισάγει συντελεστές μετατροπής για τις συμβατικές μονάδες μέτρησης φυσικών μεγεθών καθώς επίσης και να εντοπίσει και να απορρίψει αδόκιμες εξισώσεις μονάδων.
- Η αναπαράσταση των μοντέλων στο JSim γίνεται με μία δικιά του ευανάγνωστη (text-based) γλώσσα που την ονομάζει MML(Mathematical Modeling Language), η οποία αποτελείται κυρίως από μαθηματικά σύμβολα και γενικότερα ότι χρειάζεται για την αναπαράσταση μαθηματικών μοντέλων. Η MML είναι έτσι κατασκευασμένη ώστε ο χρήστης να μπορεί να αναμιγνύει μαθηματικά, διακριτές καταστάσεις και ακολουθιακό κώδικα όπως τον βολεύει. Το JSim υποστηρίζει πολλαπλά πεδία ορισμού ή ανεξάρτητες μεταβλητές(π.χ. χρόνο,χώρο). Οι μεταβλητές στην MML μπορεί να διαφέρουν χρησιμοποιώντας όλους τους πιθανούς συνδυασμούς των πεδίων ορισμών που έχουν ορισθεί. Ο μεταγλωττιστής που χρησιμοποιεί η γλώσσα MML κάνει εκτενή έλεγχο για να επιβεβαιώσει ότι ένα μοντέλο δεν έχει ούτε ‘’υπο-ορισθεί’’ ούτε ‘’υπέρ-ορισθεί’’ και ότι τα πεδία ορισμού των μεταβλητών συμφωνούν με την χρήση τους μέσα στο μοντέλο.

- Επίσης υπάρχει η δυνατότητα για περαιτέρω μαθηματικές διατυπώσεις διακριτών γεγονότων με τη χρήση συναρτήσεων γραμμένων σε java,C,Fortran τις οποίες μπορούμε να καλέσουμε στο μοντέλο μας.
- Το γραφικό του περιβάλλον επιτρέπει στο χρήστη να χειρίζεται παραπάνω από ένα μοντέλα ταυτόχρονα, να μεταβάλει τις παραμέτρους τους, να τρέχει τα μοντέλα αυτά και να λαμβάνει τα γραφήματα που παράγονται.
- Όσον αφορά τα δεδομένα των μοντέλων αυτά μπορούν τροφοδοτηθούν με διάφορους τρόπους ακόμη και μετά από υπερσύνδεσή του με άλλα προγράμματα.
- Τέλος το JSim περιλαμβάνει αρκετά εργαλεία επίλυσης διαφορικών εξισώσεων, γραμμικών και μη γραμμικών εξισώσεων καθώς και βελτιστοποιητή παραμέτρων.

Επιπλέον χαρακτηριστικά του JSim που μπορούμε να αναφέρουμε είναι τα εξής:

- Η Run Time Markup Language(RTML) που περιέχει και επιτρέπει στον χρήστη να αναπτύξει πιο πολύπλοκα interfaces συνδυάζοντας πολλές σελίδες μοντέλων, διαγραμμάτων και υπερσυνδέσεων.
- Το jsbatch, το οποίο είναι ένα command-line εργαλείο που δίνει πρόσβαση στο χρήστη στην υπολογιστική μηχανή του JSim για επιμέρους επεξεργασία.
- Το jsfim το οποίο είναι ένα εργαλείο για να κατασκευάζει ο χρήστης παραμετρικές εικόνες χρησιμοποιώντας το region-of-interest(ROI) των δεδομένων και της υπολογιστικής μηχανής του JSim.
- Υπάρχει επίσης η δυνατότητα του JSim Remote Server που επιτρέπει τους μαθηματικούς υπολογισμούς να γίνονται σε έναν ισχυρό server από ότι σε έναν απλό υπολογιστή. Ο server μπορεί να έχει εφαρμογή και στο διαδίκτυο.
- Οι τελευταίες εκδόσεις του JSim υποστηρίζουν πολυεπεξεργασία, δίνοντας την δυνατότητα να χρησιμοποιεί ο χρήστης πολλαπλές μονάδες επεξεργασίας για ταχύτερους υπολογισμούς.

Συνοπτικά η αρχιτεκτονική του Jsim μπορεί να παρουσιαστεί με την παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 22.Αρχιτεκτονική του JSim

Συμπερασματικά λοιπόν το JSim χρησιμοποιείται κυρίως για να λύνει συστήματα μαθηματικών εξισώσεων. Τα μοντέλα που χρησιμοποιείς είναι μια

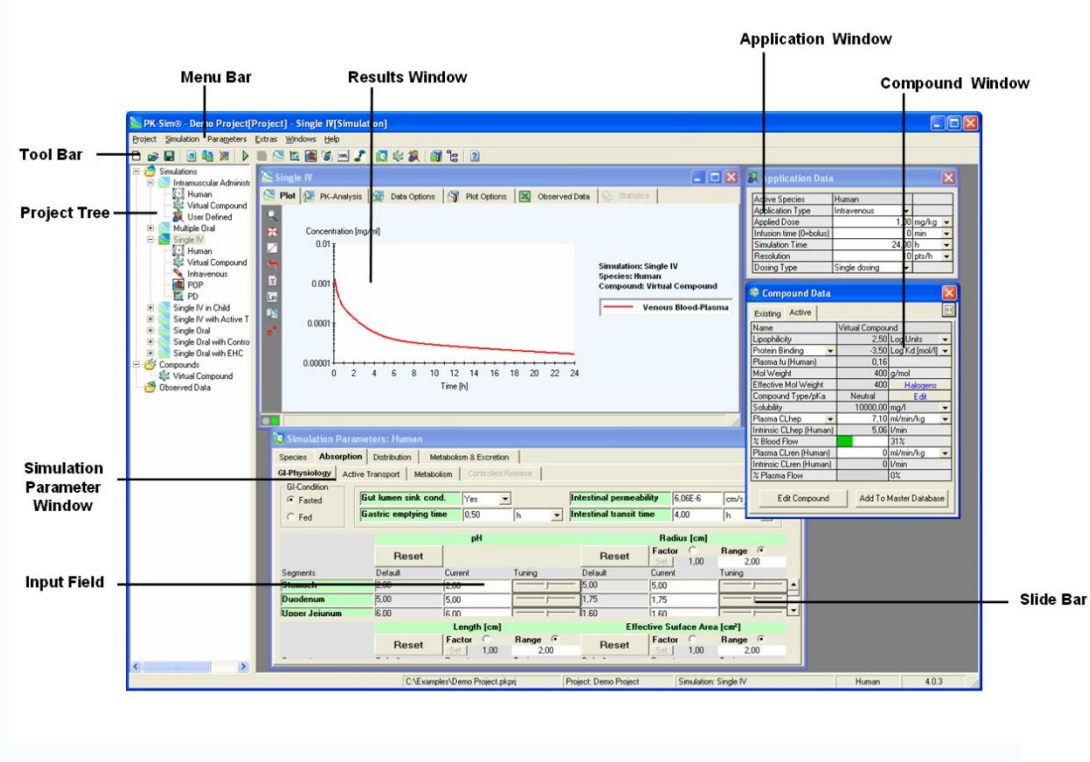
σειρά διαφορικών εξισώσεων τις οποίες επιλύνει. Εμφανίζει έτσι μια αδυναμία στο να αναπαραστήσουμε τα τμήματα όπως εμείς θέλουμε . Από κει και πέρα προσφέρει αρκετές δυνατότητες για παραμετρική ανάλυση και για βελτιστοποίηση των παραμέτρων μας. Το γραφικό περιβάλλον που προσφέρει το κάνει φιλικό προς το χρήστη για αλλαγές των τιμών των παραμέτρων και για απεικόνιση των αποτελεσμάτων.

4.2.2 PK-SIM

Το PK-Sim είναι ένα εργαλείο για υπολογισμό και συλλογή προκλινικών και κλινικών αποτελεσμάτων πάνω σε τομείς όπως απορρόφηση, διανομή, μεταβολισμό και απόκριση(ADME) ,των κύριων τομέων όπως περιγράψαμε νωρίτερα, που μελετά η φαρμακοκινητική.

- Επιτρέπει την απευθείας κατασκευή υψηλής ακρίβειας, φυσιολογικής βάσης, μοντέλων, με την ενσωμάτωση πειραματικών δεδομένων τόσο εντός όσο και εκτός οργανισμού(in-vivo, in-vitro) με σκοπό να καταλάβουμε τις κύριες φαρμακοκινητικές διαδικασίες .
- Το Pk-Sim έχει έτοιμους προσομοιωτές για φαρμακοκινητική μελέτη για απλή ή πολλαπλή ενδοφλέβια ή στοματική λήψη ουσιών από διάφορα είδη θηλαστικών όπως π.χ. ποντίκια, γάτες, σκύλοι, πίθηκοι, άνθρωποι κ.α. Είναι απαραίτητο να ορισθούν οι διάφορες παράμετροι για φυσιολογικές ιδιότητες(όγκος οργάνων, ποσοστό ροής αίματος κτλ) καθώς επίσης και συγκεκριμένες τιμές δεδομένων όπως λιποφιλία, μοριακό βάρος, διαλυτότητα, ηπατική και ρινική καθαρότητα κ.α.
- Παρέχεται δυνατότητα εξαγωγής πινάκων με ph versus διαλυτότητα.
- Φυσιολογική προσομοίωση της γαστρεντερικής μεταφοράς και απορρόφησης.
- Παρέχεται επίσης βάση δεδομένων με πληροφορίες φυσιολογικού περιεχομένου που εξαρτώνται κυρίως από την ηλικία, το φύλο και τα γενετικά χαρακτηριστικά κάθε φυλής.
- Υπάρχει ακόμη και ανάλογη βάση δεδομένων για αρκετά είδη ζώων.
- Δυνατότητα εξαγωγής καμπυλών συγκέντρωσης για ελάχιστο, μέγιστο και μέση τιμή καθώς επίσης και ανάλογες για την πυκνότητα.

- Μπορούμε ακόμη να εξάγουμε γραφικές παραστάσεις κατανομής για τις διάφορες φαρμακοκινητικές παραμέτρους..
- Τέλος υπάρχει και ένα δυνατό γραφικό πακέτο το οποίο συνοδεύει το πρόγραμμα και δίνει τη δυνατότητα στο χρήστη να λάβει τις γραφικές παραστάσεις των αποτελεσμάτων του, τα στατιστικά στοιχεία των φαρμακοκινητικών παραμέτρων καθώς και την κατανομή των παραμέτρων αυτών



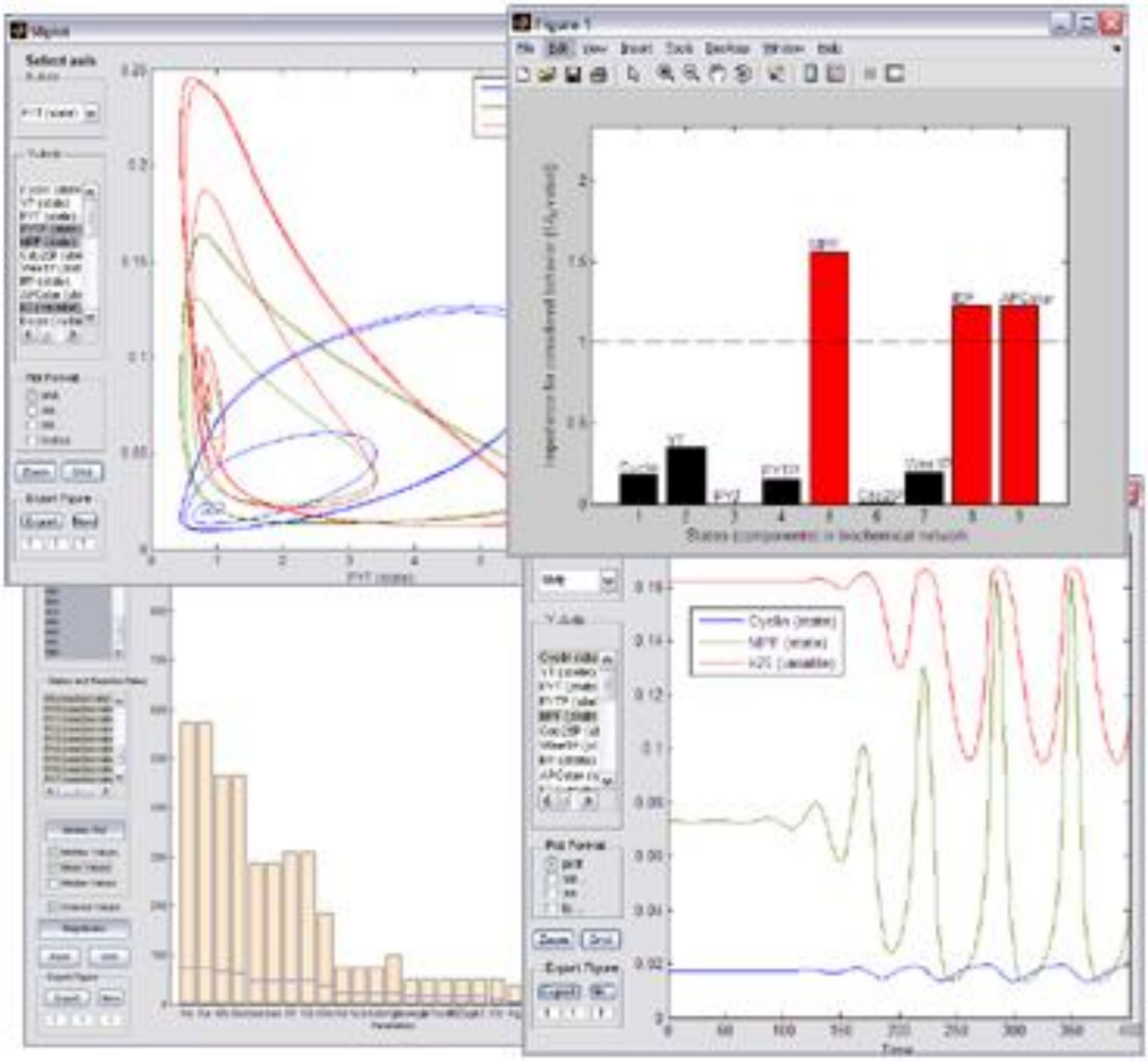
Εικόνα 23. Το περιβάλλον του Pk-Sim

Το Pk-Sim είναι αρκετά κοντινό σε αυτό που θέλουμε. Είναι φτιαγμένο για φαρμακοκινητική μελέτη. Ωστόσο μας περιορίζει στην κατασκευή των διαφόρων τμημάτων όπως εμείς θέλουμε καθώς ακολουθεί συγκεκριμένο μοντέλο που έχει να κάνει με τη μελέτη διαφόρων οργάνων των θηλαστικών. Αναφέρονται συχνά στα κείμενα που αφορούν το PK-Sim συγκεκριμένες λειτουργίες που μελετά όπως absorption, distribution, metabolism κ.α. Όσον αφορά την παραμετρική ανάλυση και την απεικόνιση των αποτελεσμάτων είναι επαρκές για τις ανάγκες μας.

4.2.3 Systems Biology Toolbox 2

Το System Biology Toolbox 2 για Matlab είναι ένα περιβάλλον στο οποίο μπορούμε να χτίσουμε μοντέλα βιολογικών συστημάτων και να κάνουμε πειράματα σαν να είμαστε σε κάποιο κανονικό βιολογικό εργαστήριο. Το SBT2 προσφέρει μία ποικιλία εξειδικευμένων εργαλείων ανάλυσης τα οποία σε συνδυασμό με τις συναρτήσεις της matlab και με μία high-level scripting γλώσσα μας επιτρέπουν να φτιάξουμε τα δικά μας μοντέλα.

- Το SBT2 υποστηρίζει την γλώσσα SBML για τον ορισμό των μοντέλων (όπως φαίνεται στις εικόνες). Έτσι μπορούμε να ορίσουμε τις διάφορες διαφορικές και βιοχημικές εξισώσεις.
- Εναλλακτικά μπορούμε να ορίσουμε διαφορικές εξισώσεις, αρχικές καταστάσεις, μεταβλητές και αντιδράσεις χρησιμοποιώντας διανυσματική σύνταξη (vectorized).
- Όσον αφορά τα δεδομένα για αυτά μπορούμε να έχουμε είτε Excel format είτε χωρισμένα με κόμμα (csv format).
- Ο προσομοιωτής μας δίνει την δυνατότητα τόσο για ντετερμινιστική όσο και για στοχαστική ανάλυση, με τη χρήση διαφόρων εργαλείων όπως:
- Ανάλυση σταθερής κατάστασης
- Στοιχειομετρία
- Ανάλυση παραμέτρων ευαισθησίας
- Διακλαδωτική ανάλυση(bifurcation)
- Εντοπισμός μηχανισμών που οδηγούν σε πολύπλοκες συμπεριφορές.
- Στατιστική ανάλυση
- Ολικοί και τοπικοί αλγόριθμοι βελτιστοποίησης.



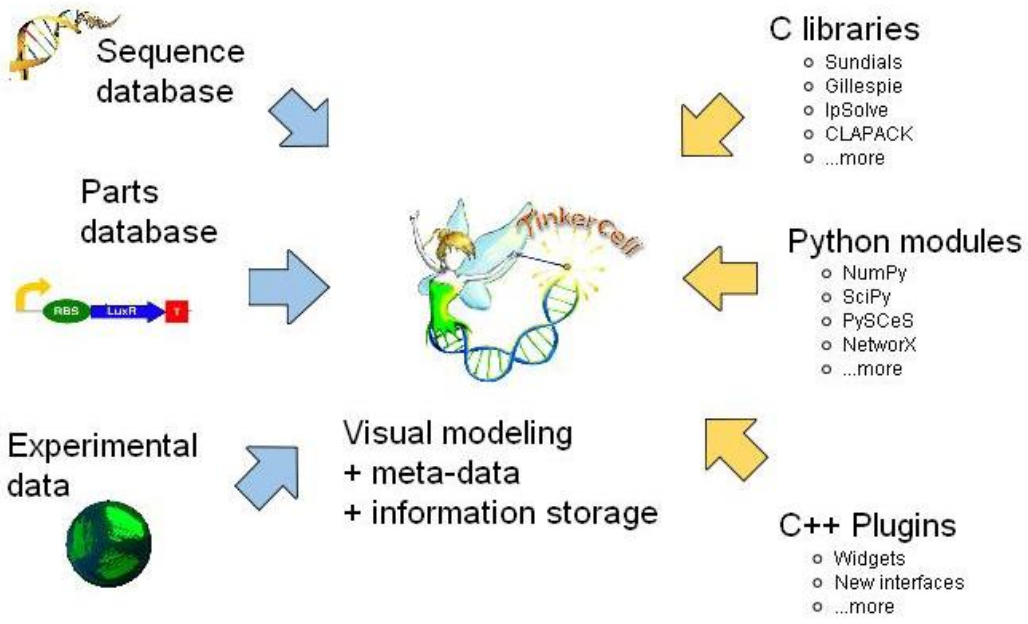
Εικόνα 24 System Biology Toolbox 2

Το System Biology Toolbox 2 είναι πολύ κοντά σε αυτό που θέλουμε καθώς χρησιμοποιεί σύνταξη μοντέλων όπως αυτή της SBML και με τον ορισμό διαφορικών εξισώσεων μπορούμε να ορίσουμε το μοντέλο μας. Ωστόσο αποτελεί στην ουσία add-on της MATLAB καθώς την χρησιμοποιεί για την επίλυση των μαθηματικών μοντέλων. Όσον αφορά την παραμετρική ανάλυση και την απεικόνιση των αποτελεσμάτων είναι επαρκές για τις ανάγκες μας.

4.2.4 TinkerCell

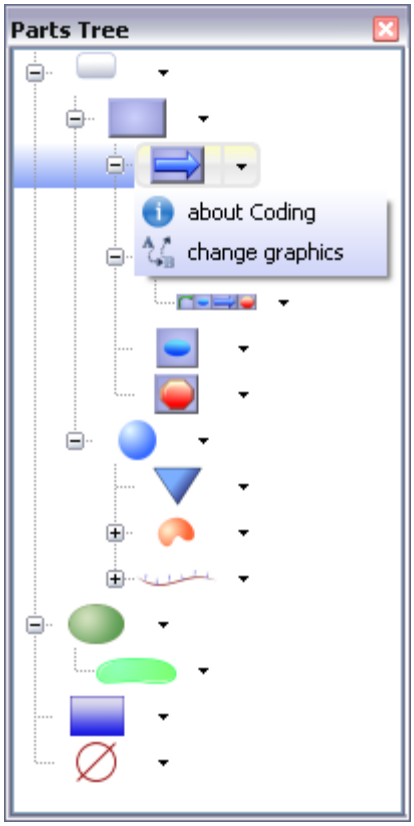
Το TinkerCell είναι ένα CAD(computer-aided design) εργαλείο για συνθετική βιολογία. Το TinkerCell χρησιμοποιείται για σχεδιασμό βιολογικών δικτύων, προσομοίωση και ανάλυση τους καθώς και για συνθετική βιολογία(χρήση βιολογικών τμημάτων(parts)). Κύρια χαρακτηριστικά του TinkerCell συνοψίζονται ως εξής:

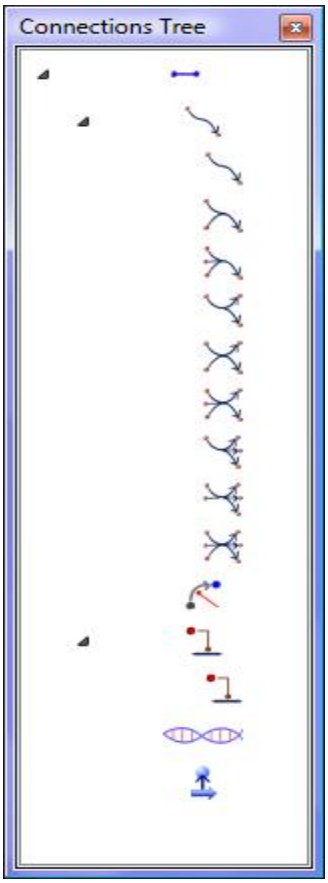
- Παραμετροποιήσιμη ιεραρχία των βιολογικών τμημάτων.
- Ορισμός διαφόρων ιδιοτήτων που χαρακτηρίζουν εκτενώς το κάθε βιολογικό τμήμα.
- Υπάρχει η δυνατότητα για multi-threaded προσομοιώσεις με τη χρήση της C.
- Παρέχεται επίσης πρόγραμμα σχεδίασης για τον σχεδιασμό των βιολογικών γραφημάτων.
- Υποστηρίζεται και η χρήση αρχείων python.
- Υποστηρίζει τόσο ντετερμινιστική όσο και στοχαστική προσομοίωση.
- Ανάλυση σταθερής κατάστασης.
- Αυτόματη παραγωγή ενδιάμεσων βημάτων σε πολύπλοκες αντιδράσεις
- Υποστηρίζει ακόμη γραμμικό προγραμματισμό καθώς και ανάλυση των διαφόρων ροών στο μοντέλο.
- Υπάρχει επίσης η δυνατότητα για διακλαδωτική ανάλυση, δομική ανάλυση καθώς και ανάλυση των παραμέτρων ευαισθησίας.
- Επίσης μπορούμε να εξάγουμε πλήθος στατιστικών στοιχείων για το μοντέλο μας.
- Η μοντελοποίηση μπορεί να γίνει με το γραφικό περιβάλλον αλλά υποστηρίζονται επίσης script-model κατασκευή.
- Το interface του προγραμματισμού γίνεται μέσω python.
- Όσον αφορά την επεκτασιμότητα της εφαρμογής αυτής υπάρχουν πολλά plugin σε C++ καθώς επίσης και interface για C και python.



Εικόνα 25 TinkerCell modeling

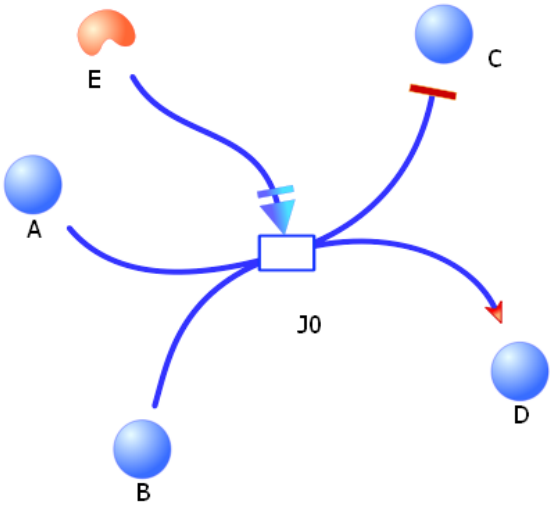
- Κατά την κατασκευή των μοντέλων ορίζεις αρχικά την ιεραρχία των τμημάτων. Κάθε τμήμα έχει ένα μοναδικό σύνολο ιδιοτήτων και μία συγκεκριμένη γραφική αναπαράσταση. Οι ιδιότητες αυτές χαρακτηρίζουν το τμήμα. Τα τμήματα αυτά χωρίζονται σε τρεις κύριες κατηγορίες: τα parts, τα compartments και τα modules. Τα “parts” αναπαριστούν μόρια όπως πρωτεΐνες,RNA κτλ. Τα “compartments” αναπαριστούν αντικείμενα με όγκο τα οποία μπορεί να περιέχουν άλλα αντικείμενα. Η κατηγορία αυτή μπορεί να περιλαμβάνει κυτταρικές περιοχές όπως μιτοχόνδρια για παράδειγμα. Η Τρίτη κατηγορία τα “modules” αναπαριστούν υπο-μοντέλα τα οποία μπορούν να συνδεθούν για την κατασκευή μεγαλύτερων μοντέλων.
- Στη συνέχεια ορίζουμε τις συνδέσεις που ορίζουν τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων τμημάτων που προαναφέραμε. Ο ορισμός αυτός γίνεται με την χρήση ενός συνόλου συνδέσεων που παρέχει το πρόγραμμα(όπως φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί).





Εικόνα 26. Δέντρο τμημάτων TinkerCell *Εικόνα 27. Δέντρο συνδέσεων TinkerCell*

- Μία ολοκληρωμένη αναπαράσταση των τμημάτων και των συνδέσεων μπορεί να είναι η ακόλουθη.



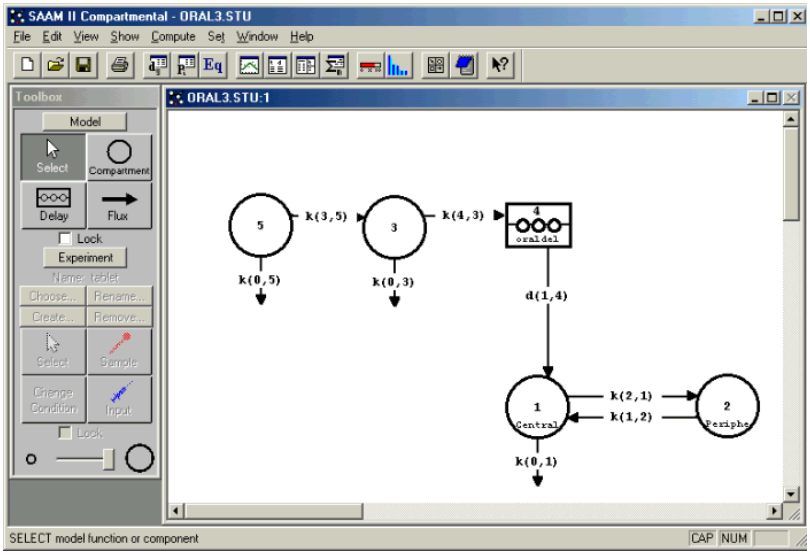
Εικόνα 28.Ολοκληρωμένη αναπαράσταση τμημάτων και συνδέσεων

- Το γραφικό του περιβάλλον βοηθά τον χρήστη να κατασκευάσει το μοντέλο καθώς και τις σχέσεις που συνδέουν τα διάφορα τμήματα . Υπάρχουν επίσης και τα προγράμματα C και python που εφοδιάζουν την εφαρμογή με όλες τις λειτουργίες που είναι διαθέσιμες στο ‘’function’’ παράθυρο.

Το TinkerCell είναι φτιαγμένο κυρίως για μελέτες πάνω στη σύνθεση διαφόρων μοντέλων και εξομοίωσής τους πριν την κατασκευή τους. Για μελέτες πάνω στη σύνθεση του DNA και διάφορα τέτοιου είδους θέματα. Ωστόσο μπορούμε να φτιάξουμε και μοντέλα σαν το δικό μας καθώς μας προσφέρει τη δυνατότητα της διαμερισματικής μοντελοποίησης. Για τις διάφορες απλές λειτουργίες φαίνεται να έχει έτοιμα connections αλλά για πιο σύνθετες διεργασίες που τυχόν δεν περιλαμβάνονται στο πακέτο δεν αναφέρεται πουθενά δυνατότητα δημιουργίας δικών σου διαφορικών εξισώσεων. Όσον αφορά την παραμετρική ανάλυση και την απεικόνιση των αποτελεσμάτων είναι επαρκές για τις ανάγκες μας.

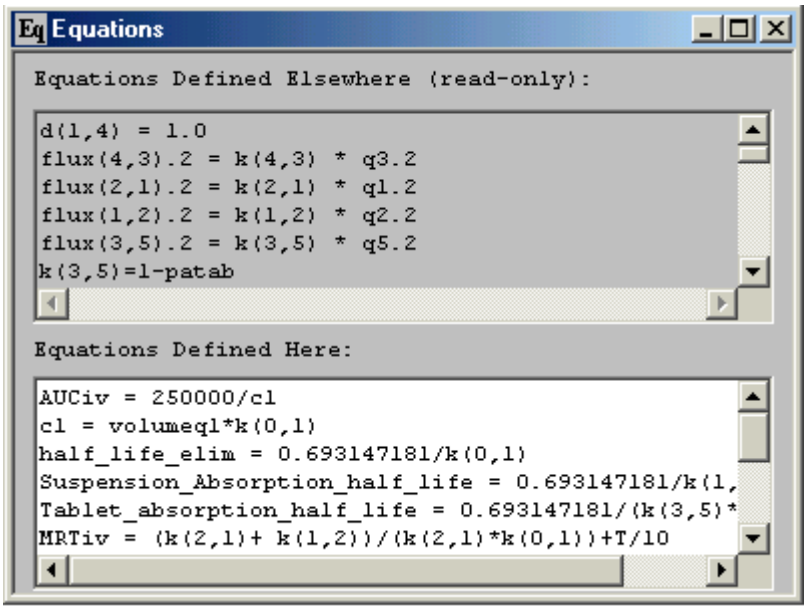
4.2.5 SAAM II

Το SAAM II είναι μία εφαρμογή που μας επιτρέπει τη γρήγορη κατασκευή μοντέλων (point and click). Επικεντρώνεται στην εύκολη κατασκευή σύνθετων μοντέλων και πειραματικών πρωτοκόλλων χωρίς την χρήση προγραμματισμού ή ψευδοκώδικα.



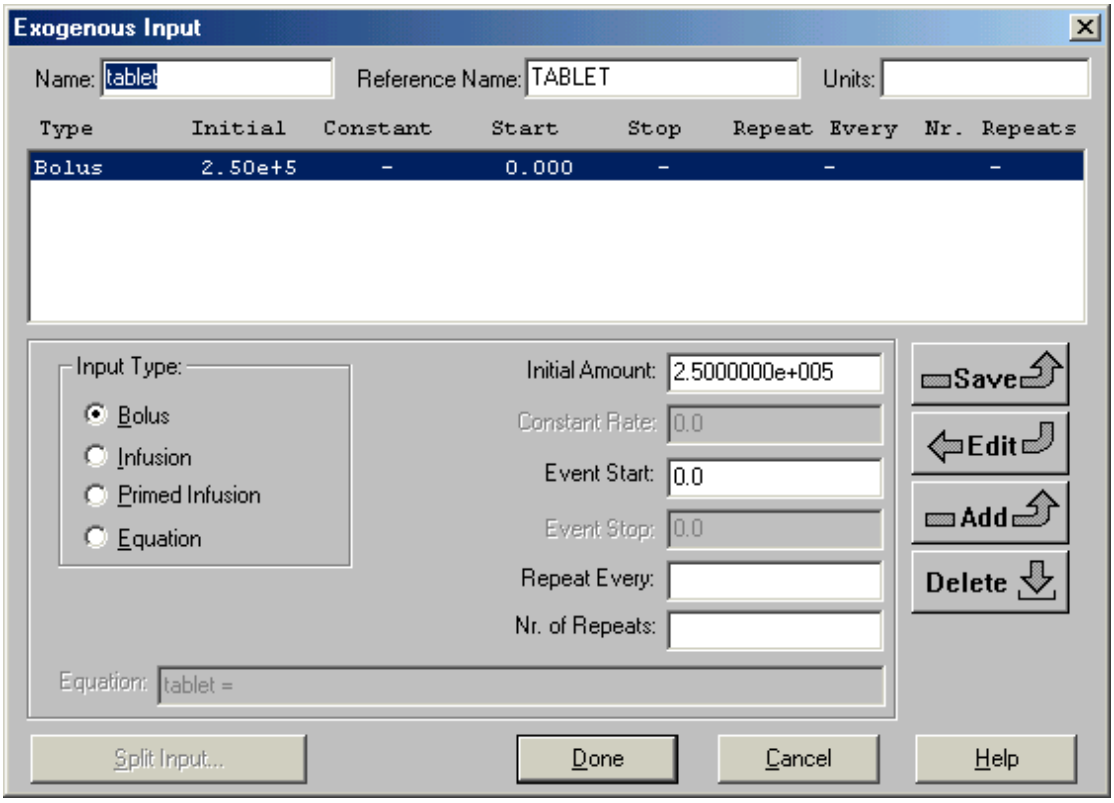
Εικόνα 29. Περιβάλλον SAAM II

- Τις εξισώσεις τις βγάζει αυτόματα από τη δομή του μοντέλου, δίνοντας παράλληλα τη δυνατότητα στο χρήστη για περαιτέρω εξισώσεις.



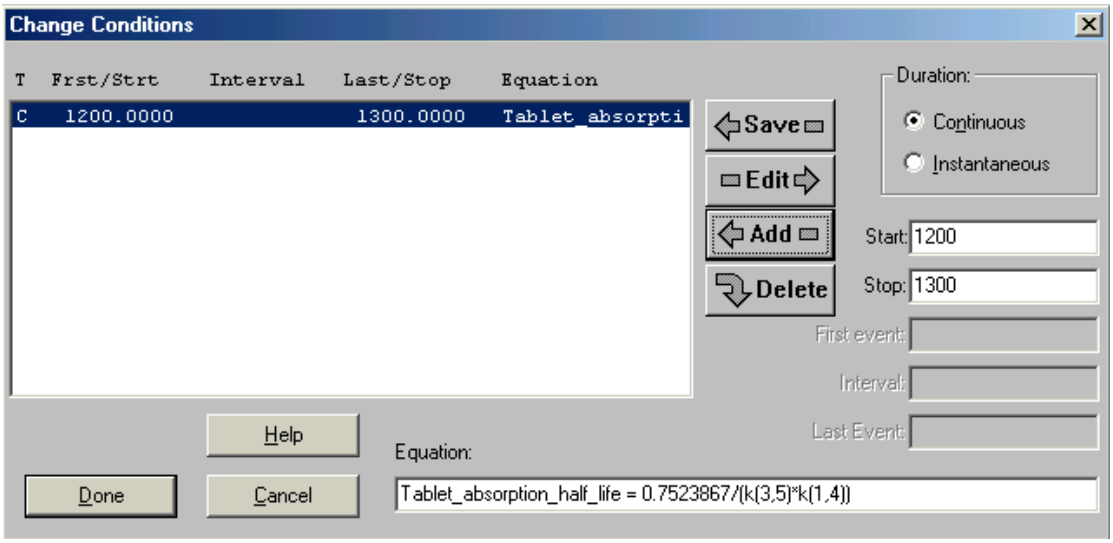
Εικόνα 30.SAAM II Εξισώσεις

- Παρέχεται η δυνατότητα ευέλικτων τρόπων εισόδου στο μοντέλο όπως σταθερή διείσδυση, αρχική διείσδυση, εξίσωση και σε μαζική μορφή.



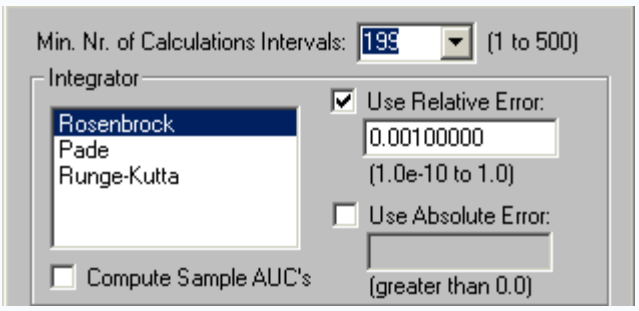
Εικόνα 31.Είσοδος δεδομένων SAAM II

- Οι συνθήκες αλλαγής των δεδομένων μπορούν εύκολά να ορισθούν από το χρήστη.



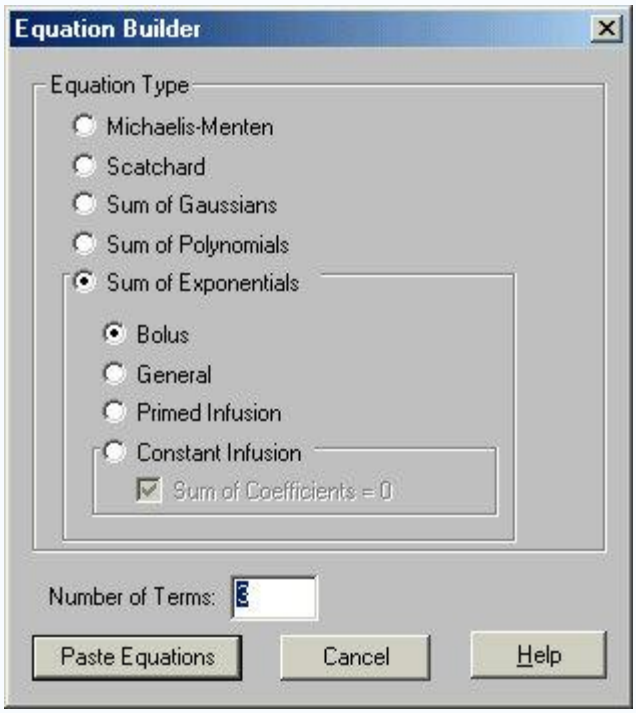
Εικόνα 32.Αλλαγή δεδομένων SAAM II

- Ο χρήστης μπορεί να επιλέξει οποιοδήποτε από τους τρεις διαφορικούς λύτες (differential equation integrators).



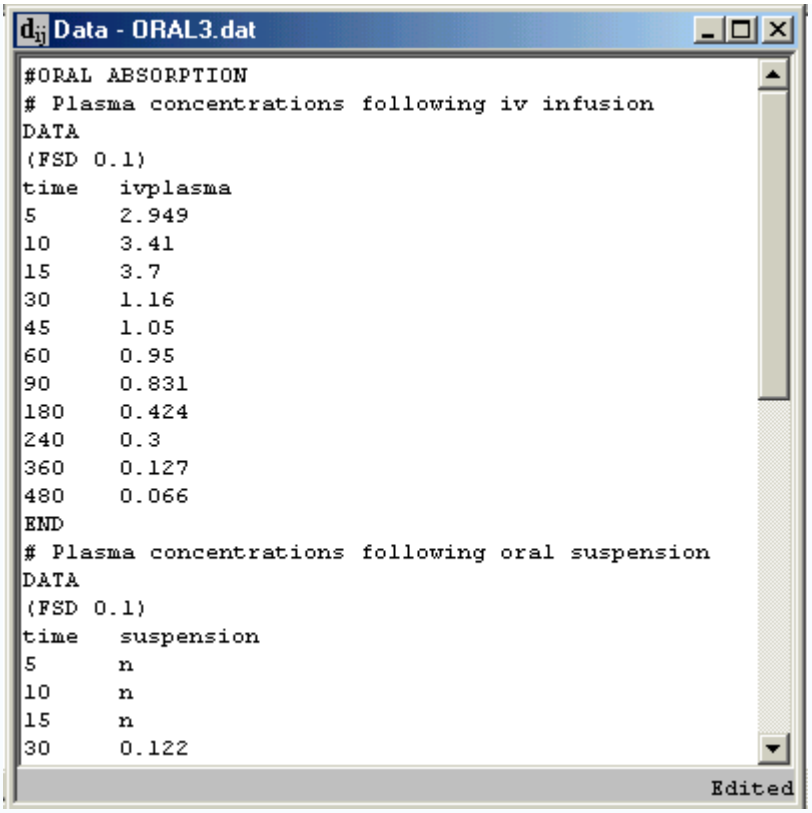
Εικόνα 33.Επιλογή διαφορικού λύτη SAAM II

- Ο χρήστης μπορεί να ορίσει αριθμητικά μοντέλα απευθείας με την χρήση ενός συνόλου αλγεβρικών εξισώσεων. Οι εξισώσεις που βγάζει μόνο του το πρόγραμμα είναι μία επιλογή από ένα σύνολο έτοιμων εξισώσεων που έχει το σύστημα από αρχής ορισμένες.



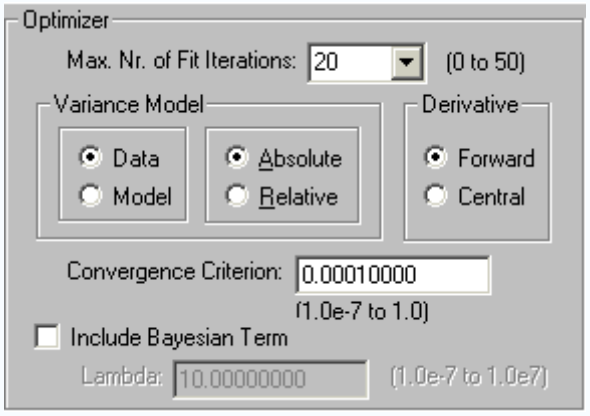
Εικόνα 34.Κατασκευή εξισώσεων SAAM II

- Τα δεδομένα μπορούμε να τα βάλουμε απευθείας ή μέσω άλλης εφαρμογής.



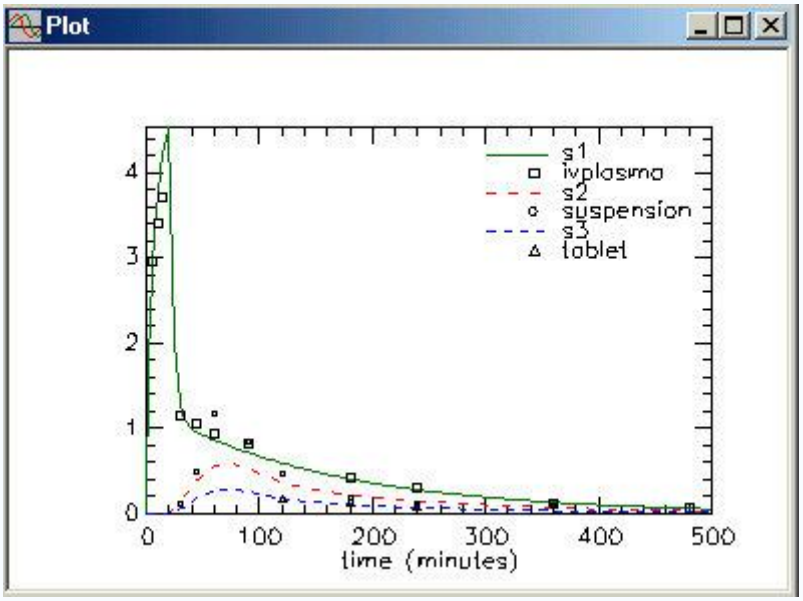
Εικόνα 35.Εισαγωγή δεδομένων SAAM II

- Περιλαμβάνει επίσης βελτιστοποιητή παραμέτρων.



Εικόνα 36.Βελτιστοποίηση παραμέτρων SAAM II

- Τα αποτελέσματα μπορούν είτε να αναπαρασταθούν με γραφικές παραστάσεις είτε να κρατηθούν σε πίνακες. Μπορούν επίσης να διοχετευτούν σε άλλες εφαρμογές.



Table

time	s1	ivplasma	s2	suspension
0.000	0.000	-	0.000	-
5.000	2.802	2.949	4.11403e-005	-
10.000	3.762	3.410	1.54238e-003	-
15.000	4.218	3.700	1.04000e-002	-
20.000	4.532	-	3.49240e-002	-
20.000	4.532	-	3.49240e-002	-
30.000	1.292	1.160	0.146	0.122
45.000	0.954	1.050	0.392	0.486
60.000	0.864	0.950	0.557	1.185
75.000	0.787	-	0.583	-
90.000	0.717	0.831	0.524	0.834
105.000	0.653	-	0.443	-
120.000	0.595	-	0.373	0.466
140.101	0.525	-	0.303	-
160.050	0.464	-	0.257	-
180.000	0.410	0.424	0.223	0.178
200.101	0.362	-	0.195	-
220.050	0.319	-	0.172	-
240.000	0.282	0.300	0.152	0.114

Εικόνα 37.Αποτελέσματα στο SAAM II

Το SAAMS II αποτελεί μία εύχρηστη εφαρμογή για απλά βιολογικά μοντέλα η οποία ωστόσο μας περιορίζει στην αναπαράσταση πολυεπίπεδων κυτταρικών μοντέλων όπως το δικό μας. Η παραμετρική ανάλυση που μας προσφέρει κρίνεται επαρκής όπως επίσης και ο χειρισμός των αποτελεσμάτων.

4.2.6 E-CELL

Το E-cell είναι μια πλατφόρμα ανάπτυξης βιολογικών μοντέλων που χρησιμοποιείται κυρίως για προσομοίωση και εξαγωγή καμπυλών συγκεντρώσεως διαφόρων βιολογικών λειτουργιών.

- Η κατασκευή του μοντέλου γίνεται με τη χρήση του E-cell editor, που συνοδεύει την εφαρμογή, και επιτρέπει στο χρήστη να σχεδιάσει σε γραφικό περιβάλλον.
- Εναλλακτικά υποστηρίζεται η χρήση της SBML γλώσσας η οποία επιτρέπει στο χρήστη να κατασκευάσει τα κομμάτια του μοντέλου του σε μία xml-based γλώσσα
- Οι διάφορες διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στη λειτουργία του μοντέλου είναι γραμμένες σε κώδικα C. Επίσης μας δίδεται η

δυνατότητα για κατασκευή δικών μας συναρτήσεων με τη χρήση της γλώσσας C.

- Η προσομοίωση γίνεται με τη χρήση ενός ή παραπάνω stepper που παρέχει η πλατφόρμα.
- Παρέχεται επίσης η δυνατότητα εξαγωγής των γραφικών παραστάσεων που αντιπροσωπεύουν τα αποτελέσματα της προσομοίωσης

Το E-cell αποτελεί την πλατφόρμα που ταιριάζει περισσότερο στις απαιτήσεις μας όσον αφορά την διαμερισματική μοντελοποίηση. Ωστόσο αντιμετωπίζει δυσκολίες όσον αφορά την ευχρηστία της εφαρμογής κατά την διαδικασία της προσομοίωσης. Έτσι λοιπόν αποφασίσαμε να διατηρήσουμε ως πυρήνα της εφαρμογής μας το E-cell το οποίο όμως πλαισιώσαμε με δικό μας interface.

4.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΟΞΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗ ΠΛΑΤΦΟΡΜΑ E-CELL

4.3.1 Εισαγωγή

Αρχικά μελετήσαμε και αναλύσαμε την βιολογική και μαθηματική προσέγγιση του μοντέλου του καρκίνου της μήτρας. Καταφέραμε και μοντελοποιήσαμε τις διάφορες βιολογικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο και σκοπός μας είναι να βρούμε την κατάλληλη εφαρμογή που θα μας βοηθήσει να μελετήσουμε σε βάθος τα αποτελέσματα που προκύπτουν ανάλογα με τα αρχικά δεδομένα και τις διάφορες ποσότητες οξικού οξέος που τυχόν θα διοχετεύσουμε. Στο προηγούμενο κεφάλαιο προσπαθήσαμε να κάνουμε μία έρευνα πάνω στα προγράμματα για διαμερισματική μοντελοποίηση, για να διαπιστώσουμε ποιο μας ταιριάζει για την δική μας εφαρμογή. Τελικά , αφού κανένα από τα υπάρχοντα προγράμματα δεν μας ικανοποιεί πλήρως αποφασίσαμε να προχωρήσουμε στην κατασκευή μιας δική μας εφαρμογής που να ταιριάζει σε αυτό που θέλουμε.

Η βάση της εφαρμογής μας είναι το E-Cell. Το E-Cell είναι ένας εξομοιωτής για διάφορα κυτταρικά φαινόμενα. Εμείς χρησιμοποιήσαμε κάποια μέρη του και μέσω του δικού μας interface το προσαρμόσαμε στις ανάγκες μας. Τα αποτελέσματα που παράγουμε, τα αναπαριστούμε μέσω μιας άλλης ελεύθερης εφαρμογής που βρήκαμε στο διαδίκτυο, του gnuplot , το οποίο χειριζόμαστε από την εφαρμογή μας. Στη συνέχεια του κεφαλαίου ακολουθεί αναλυτική περιγραφή τόσο του E-Cell όσο και των υπολοίπων τμημάτων της εφαρμογής μας

4.3.2 ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ E-CELL

Το πρώτο βήμα, αφού έχουμε βγάλει τις μαθηματικές συναρτήσεις που διέπουν το μοντέλο, είναι να κατασκευάσουμε το αρχείο .EML το οποίο αποτελεί την αναπαράσταση του μοντέλου μας στο E-Cell. Αυτό μπορεί να γίνει με δύο τρόπους. Μπορούμε είτε να φτιάξουμε το μοντέλο μας με τη βοήθεια του γραφικού περιβάλλοντος που υπάρχει στο E-Cell , είτε να αναπαραστήσουμε το μοντέλο μας με τη χρήση μιας XML-based γλώσσας που χρησιμοποιεί το E-Cell και στη συνέχεια να μετατρέψουμε το .EM αρχείο που προκύπτει σε .EML με τη χρήση του toolancher που υπάρχει στο πακέτο του E-Cell. Όποιον από τους δύο τρόπους χρησιμοποιήσουμε είναι το ίδιο. Στη συνέχεια θα αναλύσουμε τα διάφορα αντικείμενα(object) που χρησιμοποιούμε για την κατασκευή του μοντέλου καθώς και τις ιδιότητες αυτών.

4.3.2.1ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΑ ΤΟΥ E-CELL

Το E-Cell είναι ένα πλήρως αντικειμενοστραφής προσομοιωτής μοντέλων. Πράγμα που σημαίνει ότι είναι ουσιαστικά ένα σύνολο αντικειμένων ενωμένα μεταξύ τους. Τα αντικείμενα έχουν διάφορες ιδιότητες που καθορίζουν τα χαρακτηριστικά τους (όπως η σταθερά αντίδρασης αν το αντικείμενο αναπαριστά μία χημική αντίδραση) .Επίσης καθορίζονται και οι σχέσεις μεταξύ των αντικειμένων.

Τύποι Αντικειμένων

Ένα μοντέλο στο E-Cell αποτελείται από τα ακόλουθα αντικείμενα:

- Συνήθως παραπάνω από μία οντότητα(Entity)
- Ένα ή περισσότερα Stepper αντικείμενα.

Τα αντικείμενα ‘’οντότητες’’ καθορίζουμε την δομή του μοντέλου και τα αναπαριστώμενα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα σε αυτό (όπως χημικές αντιδράσεις). Τα Stepper αντικείμενα ορίζουν συγκεκριμένους αλγορίθμους προσομοίωσης.

Αντικείμενα Οντότητες(Entities)

Η κλάση ‘’οντότητα’’ έχει τρεις υποκλάσεις:

Μεταβλητή

Αυτή η κλάση αντικειμένου αναπαριστά σταθερές μεταβλητές. Ένα αντικείμενο Μεταβλητής παίρνει πραγματική τιμή. Το σύνολο των τιμών όλων των αντικειμένων Μεταβλητών σε ένα μοντέλο καθορίζει την κατάσταση του μοντέλου ανά πάσα στιγμή.

Διαδικασία

Αυτή η κλάση αντικειμένου αναπαριστά τα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα σε ένα μοντέλο και οδηγούν στην μεταβολή των τιμών των Μεταβλητών. Οι τιμές των Μεταβλητών μπορούν να μεταβάλλονται είτε με διακριτό είτε συνεχή τρόπο.

Σύστημα

Αυτή η κλάση αντικειμένου ορίζει την ολική δομή του μοντέλου. Ένα αντικείμενο ‘’σύστημα’’ μπορεί να περιέχει και τις τρεις υποκλάσεις που μόλις περιγράψαμε. Ένα σύστημα μπορεί να περιέχει άλλο σύστημα καθώς και πλήθος δενδρικών δομών.

Stepper Αντικείμενα

Κάθε μοντέλο πρέπει να έχει τουλάχιστον ένα αντικείμενο Stepper. Κάθε διαδικασία και κάθε σύστημα πρέπει να είναι συνδεδεμένα με ένα αντικείμενο Stepper στο ίδιο μοντέλο.

Το Stepper είναι μία κλάση που ορίζει ένα συγκεκριμένο αλγόριθμο προσομοίωσης. Αν το μοντέλο έχει παραπάνω από ένα αντικείμενο Stepper το σύστημα εμπίπτει σε μία multi-Stepper προσομοίωση. Εκτός από τις λίστες των διαδικασιών και των αντικειμένων συστήματος ένα Stepper έχει και μία λίστα Μεταβλητών που μπορεί να διαβαστεί ή να εγγράφει από τα αντικείμενα των διαδικασιών του. Έχει επίσης το time step interval που ουσιαστικά ορίζει τον χρόνο ενός βήματος κατά την προσομοίωση και είναι ένας θετικός πραγματικός αριθμός. Το σύστημα τακτοποιεί τα αντικείμενα stepper σύμφωνα με την τιμή αυτή, και τα ενημερώνει στον κατάλληλο χρόνο.

Όταν καλείται από το σύστημα, ένα αντικείμενο stepper ομαδοποιεί τις τιμές των μεταβλητών που σχετίζονται με αυτό για την συγκεκριμένη χρονική στιγμή, καλεί όσα αντικείμενα διαδικασίας είναι συνδεδεμένα με αυτό με τη σειρά που έχει καθοριστεί από τον αλγόριθμο και ορίζει το επόμενο σταμάτημα του χρόνου(time step interval).

Ιδιότητες των Αντικειμένων

Κάθε αντικείμενο είτε stepper είτε οντότητα έχει διάφορες ιδιότητες. Η ιδιότητα είναι χαρακτηριστικό του συγκεκριμένου αντικειμένου που συσχετίζεται με το όνομά του. Η τιμή του μπορεί είτε να εγγραφεί είτε να διαβαστεί από το αντικείμενο.

Τύποι Ιδιοτήτων Αντικειμένων

Κάθε τιμή ιδιότητας έχει έναν τύπο, ο οποίος είναι ένας από τους ακόλουθους.

Πραγματικός αριθμός

(π.χ. 3,33e+10 , 1.0)

Ακέραιος αριθμός

(π.χ. 3 , 100)

Αλφαριθμητικός

Το αλφαριθμητικό έχει δύο τύπους: με εισαγωγικά και χωρίς εισαγωγικά. Ένα αλφαριθμητικό με εισαγωγικά μπορεί να περιέχει οποιονδήποτε ASCII χαρακτήρα εκτός από το χαρακτήρα του εισαγωγικού. Τα εισαγωγικά

μπορούν να παραλειφθούν εάν το αλφαριθμητικό έχει τη μορφή ενός έγκυρου αναγνωριστή αντικειμένου (stepper ID, Entity ID). Εάν το αλφαριθμητικό έχει τριπλά εισαγωγικά(‘’ ‘ , ‘’ ‘’ ‘’) , μπορεί να περιέχει χαρακτήρα που ορίζει αλλαγή γραμμής.

Λίστα

Κάθε λίστα μπορεί να περιέχει πραγματικές, ακέραιες και αλφαριθμητικές τιμές. Μία λίστα μπορεί επίσης να περιέχει άλλες λίστες, πράγμα που σημαίνει ότι μία λίστα μπορεί να είναι εμφωλευμένη. Μία λίστα πρέπει να περιβάλλεται από αγκύλες ([ ]) , και τα στοιχεία της πρέπει να διαχωρίζονται από ένα χαρακτήρα κενού.

ΜΟΝΑΔΕΣ

Για τον πυρήνα του προσομοιωτή του E-Cell έχει αποφασιστεί να χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες μονάδες μέτρησης για τα ζωτικά μεγέθη του μοντέλου μας. Κατά τον προγραμματισμό μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε οποιεσδήποτε μονάδες αλλά θα πρέπει να τις μετατρέψουμε πριν την εκτέλεση της προσομοίωσης. Οι μονάδες που χρησιμοποιούνται από το E-Cell είναι οι ακόλουθες:

Χρόνος - s (δευτερόλεπτα)

Όγκος – L (Λίτρα)

Μοριακή Συγκέντρωση (MolarConc) - M (mol) ανά L (λίτρο)

Αριθμός Συγκέντρωσης (NumberConc) – Αριθμός ανά L (λίτρο)

Αφού κάναμε μία σύντομη περιγραφή των βασικών χαρακτηριστικών ενός μοντέλου στο E-Cell θα προχωρήσουμε στην αναλυτική περιγραφή της κατασκευής του δικού μας μοντέλου με τη χρήση του E-cell editor.

4.3.2.2 E-CELL EDITOR

Η δομή της κατασκευής ενός μοντέλου που ακολουθείται έχει συνήθως την παρακάτω μορφή:

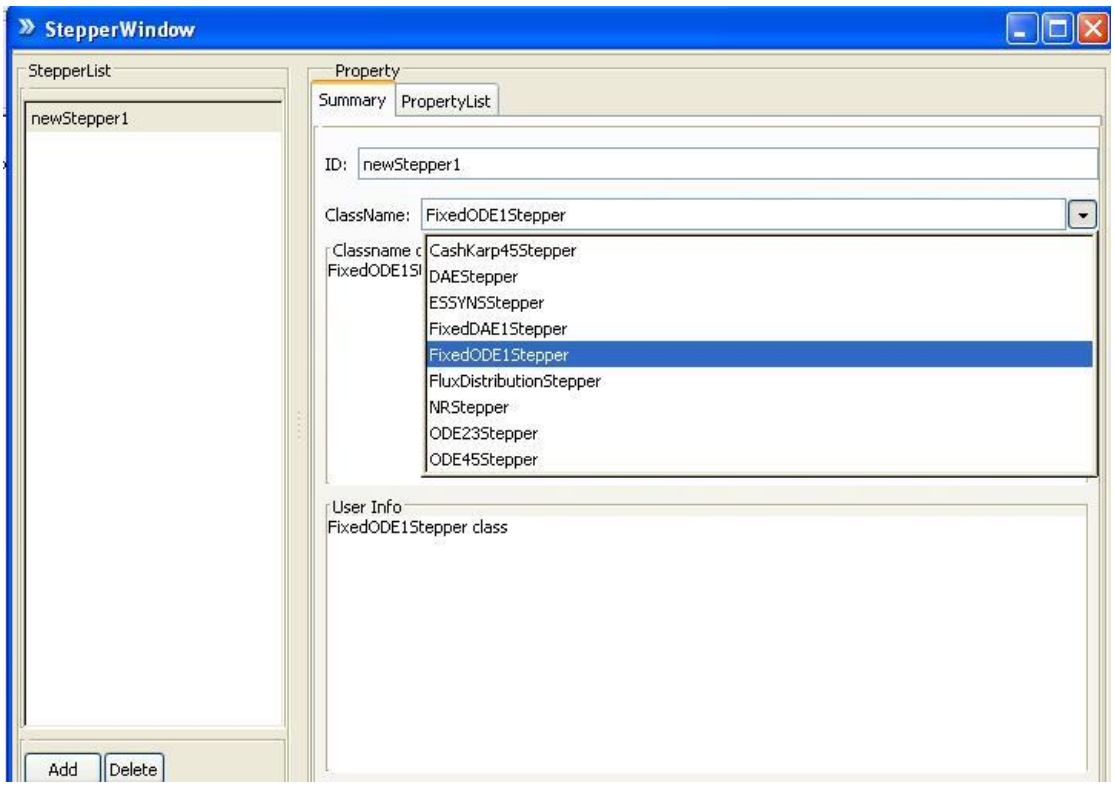
- Στοιχεία Υψηλού Επιπέδου
- Συστήματα
- Κατασκευή του Δέντρου Συστημάτων

- Ορισμός των Όγκων των Συστημάτων
- Μεταβλητές και Διαδικασίες
- Σύνδεση των Οντοτήτων με τα αντικείμενα Stepper
- Σύνδεση των Μεταβλητών με τις Διαδικασίες

Στοιχεία Υψηλού Επιπέδου

Το πρώτο πράγμα που ορίζουμε κατά την κατασκευή ενός μοντέλου είναι ένα ή περισσότερα Stepper αντικείμενα. Αυτές οι δηλώσεις αποτελούν τα Στοιχεία Υψηλού Επιπέδου.

Στο μοντέλο μας επιλέξαμε την κλάση FixedODE1Stepper καθώς είχαμε να χειριστούμε διαφορικές εξισώσεις και αυτό ήταν το κατάλληλο αντικείμενο Stepper.



Εικόνα 38 Επιλογή stepper

Συστήματα

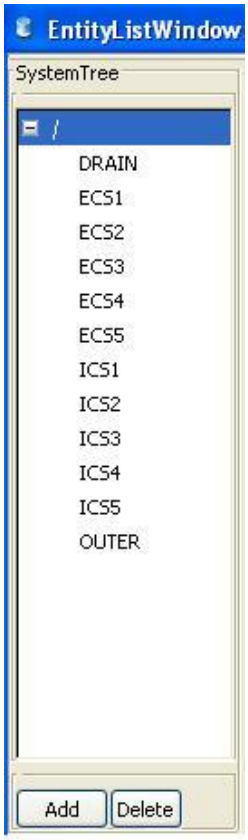
Το μοντέλο μας αρχικά έχει ένα Σύστημα με SystemPath '/' . Αυτό το Σύστημα ονομάζεται αρχικό Σύστημα(root) του μοντέλου. Η κλάση root System είναι πάντα system, χωρίς να παίζει ρόλο τι κλάση ορίζουμε εμείς. Αυτό συμβαίνει επειδή ο προσομοιωτής δημιουργεί το root system μόλις ξεκινάει, και πριν

εμείς να φορτώσουμε κάποιο αρχείο μοντέλου. Πράγμα που σημαίνει ότι η δήλωση αυτή δεν δημιουργεί ουσιαστικά το αντικείμενο root system όταν φορτώνουμε το .EML αρχείο αλλά απλώς θέτει τιμές στις ιδιότητές του. Αυτό έχει σαν συνέπεια το όνομα της κλάσης που ορίζεται στο αρχείο .EML να αγνοείται. Το αρχείο του μοντέλου πρέπει να έχει πάντα τη δήλωση του root system ακόμη και αν δεν έχει καμία ιδιότητα να ορίσει.

Κατασκευή του Δέντρου Συστημάτων

Αν το μοντέλο έχει παραπάνω από ένα αντικείμενο Συστήματος , πρέπει να έχει τη μορφή δέντρου που ξεκινά από το root system. Φυσικά ένα Σύστημα μπορεί να έχει ακαθόριστο αριθμό υποσυστημάτων .

Στο δικό μας μοντέλο παριστάνουμε με αντικείμενα συστήματος κάθε εσωκυττάριο (ICS) και κάθε εξωκυττάριο (ECS) χώρο που έχουμε σε κάθε επίπεδο κυττάρων. Επίσης έχουμε και δύο ακόμη αντικείμενα συστήματος τα οποία αναπαριστούν το Drain (στο οποίο καταλήγουν οι ουσίες περνώντας από το τελευταίο κυτταρικό επίπεδο) και τον εξωτερικό χώρο στον οποίο υπάρχει η ουσία που θα διοχετεύσουμε στο πρώτο κυτταρικό επίπεδο.

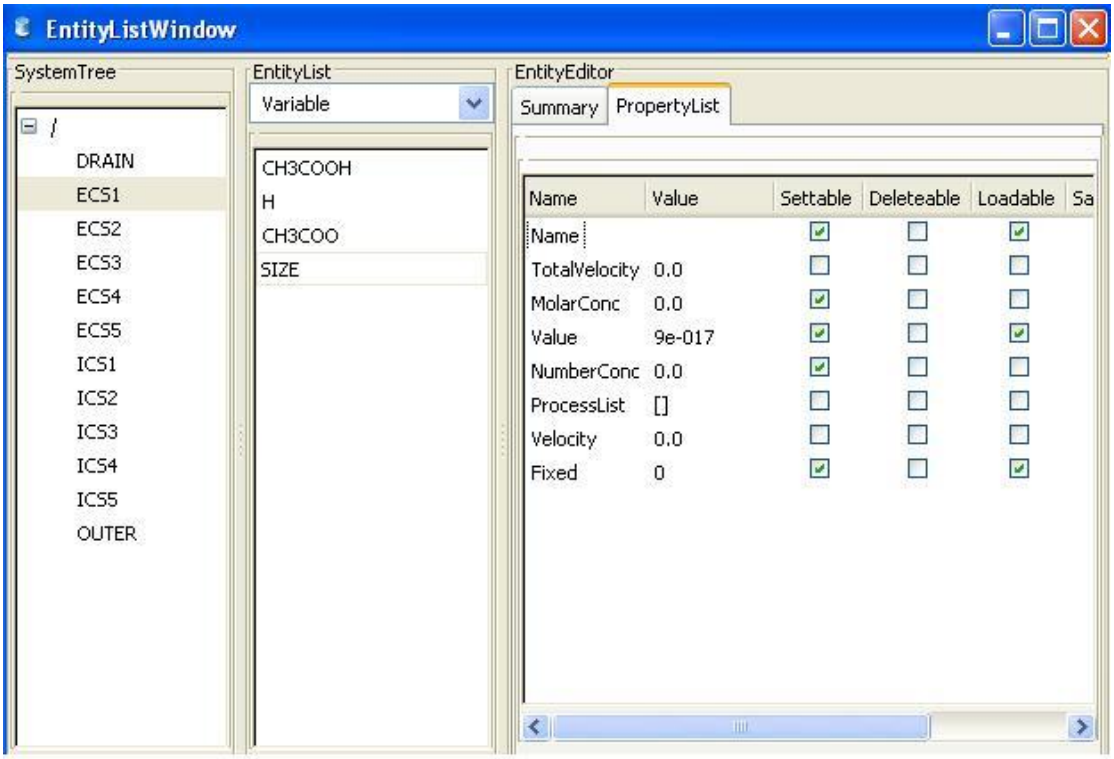


Εικόνα 39 Δέντρο οντοτήτων

Ορισμός των Όγκων των Συστημάτων

Αν θέλουμε να ορίσουμε το μέγεθος ενός Συστήματος, δημιουργούμε μία μεταβλητή με ID ‘size’ .Εάν το Σύστημα αναπαριστά ένα τρισδιάστατο κομμάτι, το size σημαίνει όγκος του κομματιού αυτού. Η μονάδα του όγκου είναι το [L] (λίτρο). Εάν το Σύστημα δεν έχει μεταβλητή size, τότε χρησιμοποιεί την τιμή size του υπερσυστήματος στο οποίο περιέχεται. Το root system πάντα πρέπει να έχει μεταβλητή size.

Στο μοντέλο μας σε κάθε αντικείμενο συστήματος έχουμε ορίσει την μεταβλητή Size όπως φαίνεται στην εικόνα. Αρχικά θέτουμε μία τιμή η οποία όμως αλλάζει από την παραμετροποίηση του μοντέλου μέσω του interface.

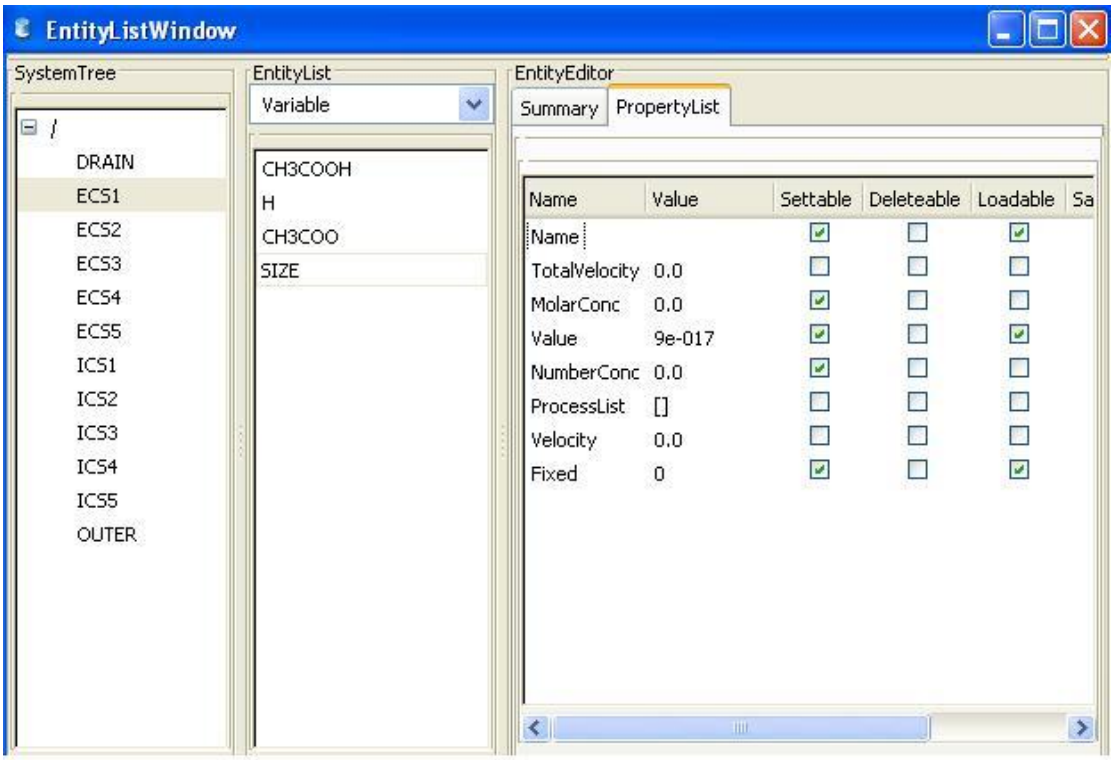


Εικόνα 40 Ορισμός όγκου οντότητας

Μεταβλητές και Διαδικασίες

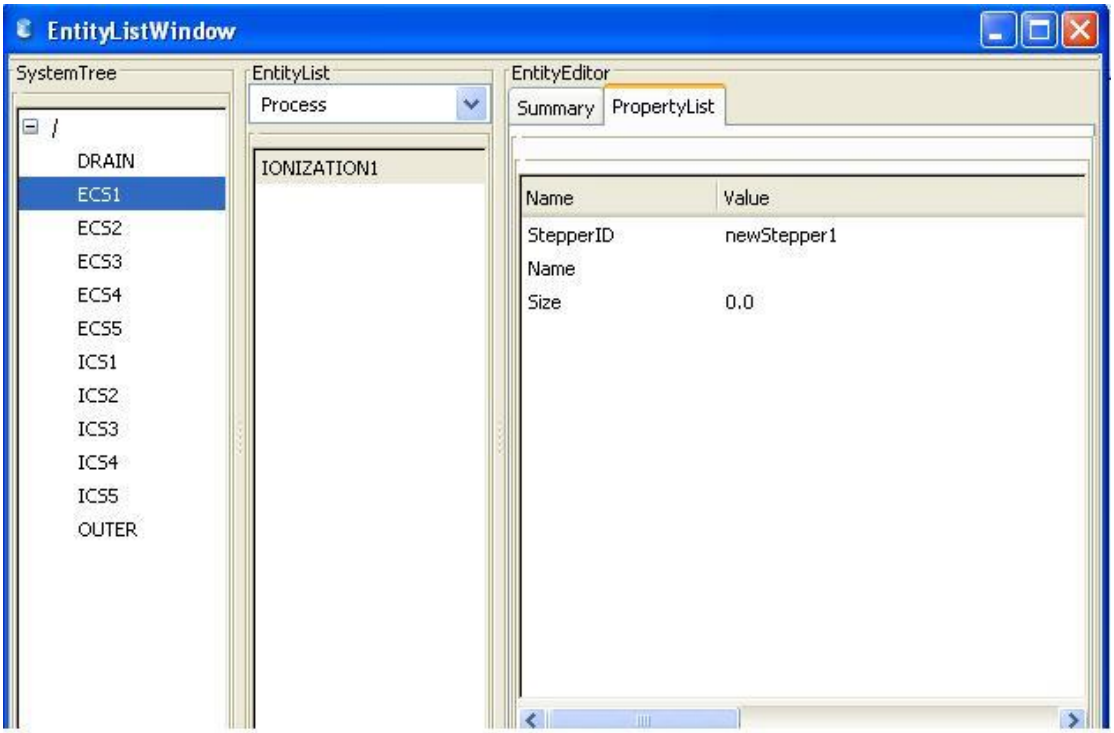
Κάθε δήλωση Συστήματος έχει κανένα, ένα ή πολλά αντικείμενα Μεταβλητών και Διαδικασιών επιπλέον από τις ιδιότητές του.

Στο δικό μας μοντέλο σε κάθε αντικείμενο συστήματος έχουμε τα αντικείμενα Μεταβλητών που αντιπροσωπεύουν το Οξικό οξύ (CH_3COOH), τα ιόντα υδρογόνου H, το όξινα ιόντα (CHCOO) και τον όγκο (Size).



Εικόνα 41 Μεταβλητές στο E-Cell

Αλλάζοντας τη μεσαία στήλη(EntityList) , όπως φαίνεται στην εικόνα, από Variable σε Process μπορούμε να δούμε τα αντικείμενα διαδικασιών που έχουμε στο συγκεκριμένο αντικείμενο Συστήματος. Στο συγκεκριμένο αντικείμενο συστήματος, που αναπαριστά τον εξωκυττάριο χώρο του πρώτου κυτταρικού επιπέδου, βλέπουμε πως υπάρχει μόνο η διαδικασία του Ιονισμού.

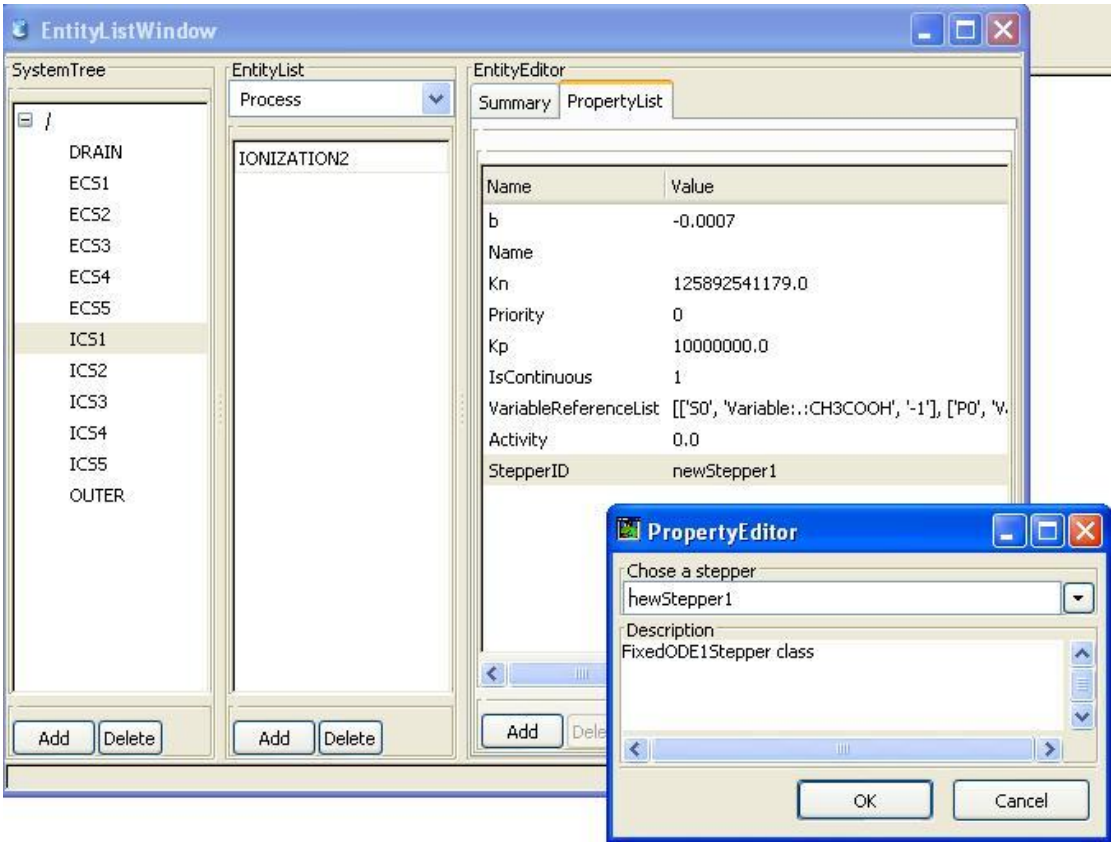


Εικόνα 42 Διαδικασίες στο E-Cell

Σύνδεση των Οντοτήτων με τα αντικείμενα Stepper

Κάθε αντικείμενο Μεταβλητής και Διαδικασίας στο μοντέλο πρέπει να συνδεθεί με ένα Stepper θέτοντας τιμή στην ιδιότητα StepperID. Εάν η ιδιότητα StepperID μιας Διαδικασίας παραληφθεί, παίρνει αυτόματα την τιμή του υπερσυστήματος (του Συστήματος στο οποίο ανήκει) . Η StepperID ενός Συστήματος δεν μπορεί να παραληφθεί. Η σύνδεση των Μεταβλητών με τα Stepper γίνεται αυτόματα από το Σύστημα κατά την δημιουργία των μεταβλητών.

Εμείς έχοντας ένα μοναδικό Stepper, όπως ορίσαμε στο ξεκίνημα, το συνδέουμε με όλα τα αντικείμενα διαδικασίας όπως φαίνεται στην εικόνα.



Εικόνα 43 Σύνδεση διαδικασιών με stepper στο E-Cell

Σύνδεση των Μεταβλητών με τις Διαδικασίες

Μία Διαδικασία αλλάζει τιμές μίας ή περισσοτέρων Μεταβλητών σύμφωνα με συγκεκριμένες διαδικασίες, όπως διάφοροι φυσικοί και χημικοί νόμοι. Πάνω σε ποιες μεταβλητές δρουν οι Διαδικασίες δεν μπορεί να ορισθεί κατά τον προγραμματισμό της Διαδικασίας αλλά θα πρέπει να ορισθεί από αυτό που φτιάχνει το μοντέλο όταν η Διαδικασία παίρνει μέρος στην προσομοίωση. Η VariableReferenceList ιδιότητα κάθε Διαδικασίας τη συσχετίζει με μία ή περισσότερες μεταβλητές πάνω στις οποίες δρα. Η VariableReferenceList ορίζεται συνήθως με τα ακόλουθα τέσσερα στοιχεία:

[*reference_name, FullID, coefficient, accessor_flag*].

Τα δύο τελευταία πεδία μπορούν να παραληφθούν.

Αυτά τα στοιχεία αντιπροσωπεύουν τα παρακάτω:

Reference name

Το πεδίο αυτό δίνει ένα τοπικό όνομα της Μεταβλητής μέσα στη Διαδικασία. Το όνομα αυτό πρέπει να δίνεται οπωσδήποτε ακόμη και αν η διαδικασία δεν το χρησιμοποιήσει καθόλου. Οι κανόνες στους οποίους πρέπει να υπακούει το όνομα είναι οι ίδιοι με το EntityID που περιγράψαμε παραπάνω.

FullID

Αυτό το FullID ορίζει την Μεταβλητή στην οποία δείχνει αυτή αναφορά μεταβλητής που έχουμε.

Variable:/CELL:S0 ,εάν η Μεταβλητή υπάρχει στο System /CELL.

Coefficient (προαιρετικό)

Αυτός ο συντελεστής είναι ένας ακέραιος αριθμός που ορίζει το βάρος της σύνδεσης μεταξύ της Διαδικασίας και της Μεταβλητής. Εάν αυτή η τιμή είναι μη μηδενική, τότε αυτή η αναφορά Μεταβλητής ονομάζεται μεταβαλλόμενη (mutator) Variable Reference, και η Διαδικασία μπορεί να αλλάξει την τιμή της Μεταβλητής. Εάν η τιμή είναι μηδέν, η αναφορά μεταβλητής αυτή δεν είναι μεταβαλλόμενη (mutator) και η Διαδικασία δεν μπορεί να αλλάξει την τιμή της Μεταβλητής. Αν η Διαδικασία αντιπροσωπεύει μία χημική αντίδραση αυτή η τιμή μεταφράζεται συνήθως από την Διαδικασία ως στοιχειομετρική σταθερά.

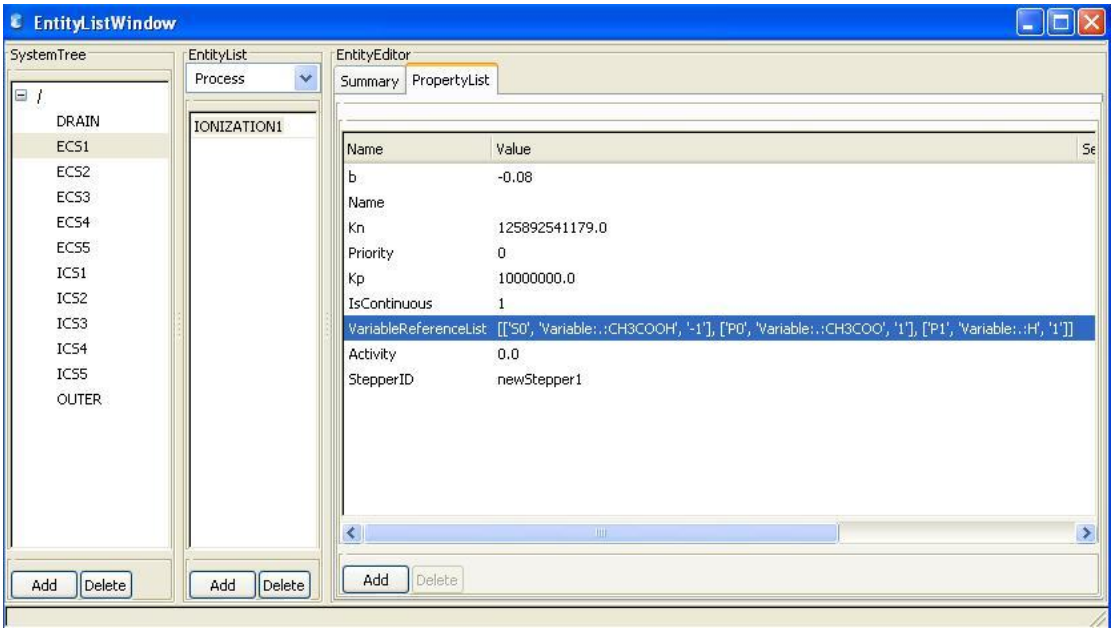
Εάν παραληφθεί στο πεδίο αυτό το σύστημα θέτει το μηδέν.

isAccessor flag (προαιρετικό)

Αυτή είναι μία δυαδική σημαία η οποία παίρνει τιμή είτε 1 είτε 0. Αν η τιμή της είναι 0, δείχνει ότι η συμπεριφορά της Διαδικασίας δεν επηρεάζεται από την Μεταβλητή. Πράγμα που σημαίνει ότι η Διαδικασία δεν διαβάζει ποτέ την τιμή της Μεταβλητής αυτής. Η Διαδικασία μπορεί είτε να αλλάζει είτε όχι την τιμή της Μεταβλητής αυτής ανεξάρτητα από την υπάρχουσα τιμή της. Η τιμή η οποία ορίζεται αν την παραλείψουμε είναι το 1.

Ακολουθώντας τους παραπάνω κανόνες συνδέουμε και εμείς σε κάθε αντικείμενο διαδικασίας όλα τα αντικείμενα Μεταβλητών με τα οποία σχετίζεται. π.χ. Στην εικόνα φαίνεται η VariableReferenceList για την διαδικασία του ιονισμού στον εξωκυττάριο χώρο του πρώτου κυτταρικού

επιπέδου. Βλέπουμε ότι ορίζονται οι μεταβλητές CH_3COOH , CH_3COO και H με συντελεστές -1,1 και 1 αντίστοιχα. Με το μείον δείχνουμε ότι μειώνεται η συγκέντρωση του οξικού οξέος ενώ με το θετικό πρόσημο στα άλλα δύο αυξάνεται ισόποσα η συγκέντρωσή τους.

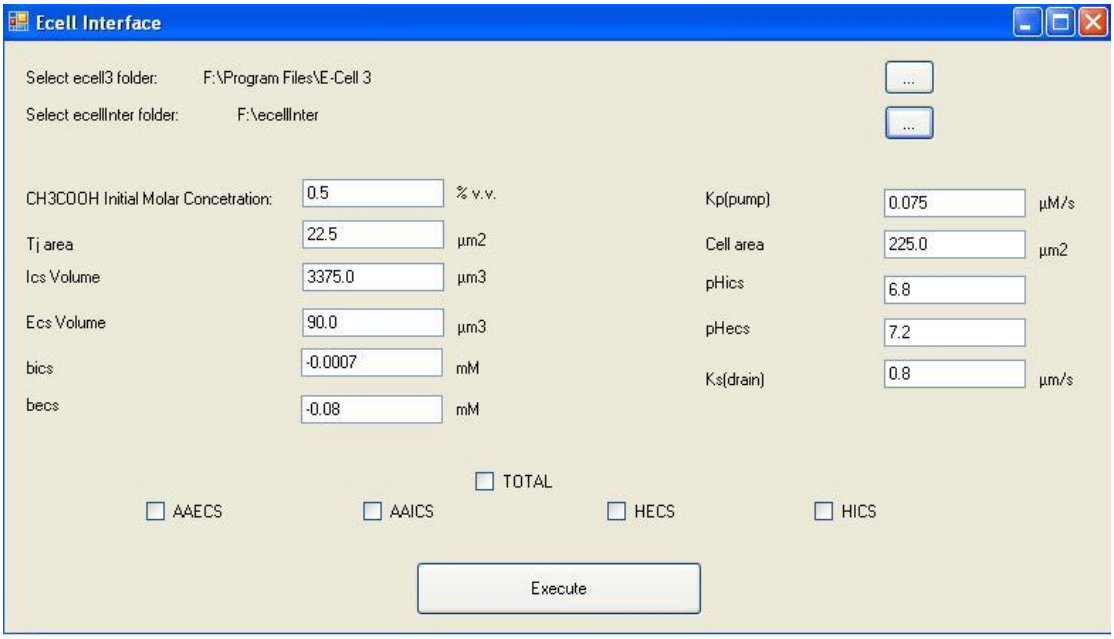


Εικόνα 44 Σύνδεση μεταβλητών με τις διαδικασίες στο E-Cell

Ακολουθώντας τα παραπάνω βήματα κατασκευάσαμε τα .eml αρχεία για 1,5,10 επίπεδα κυττάρων στα οποία αναπαριστούμε τα αντίστοιχα μοντέλα μας και τα οποία θα υποβάλουμε σε περαιτέρω πειραματισμούς .

4.3.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ

Στη συνέχεια προχωρήσαμε στην κατασκευή του interface της εφαρμογής μας , με τη χρήση της visual C# .

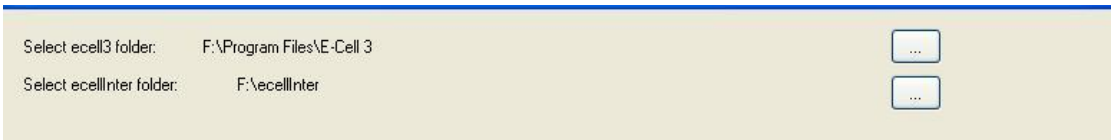


Εικόνα 45 Το interface της εφαρμογής μας

Σκοπός μας ήταν να εκμεταλλευτούμε τις δυνατότητες του E-Cell και να το προσαρμόσουμε στις ανάγκες του μοντέλου μας. Αυτό επιτεύχθηκε με το interface που δημιουργήσαμε και από το οποίο ελέγχουμε τόσο τις παραμέτρους που μας ενδιαφέρουν όσο και την απεικόνιση των αποτελεσμάτων. Για την τελευταία, ψάξαμε στο διαδίκτυο για κάποιο ελεύθερο πρόγραμμα το οποίο θα μπορούσε να μας φανεί χρήσιμο στην γραφική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων και τελικώς χρησιμοποιήσαμε το gnuplot. Για την διασύνδεση του interface που φτιάξαμε με τα μοντέλα του E-Cell χρησιμοποιούμε κάποια python script που φτιάξαμε και τα οποία καλούνται από το interface.

4.3.3.1Ανάλυση του Interface

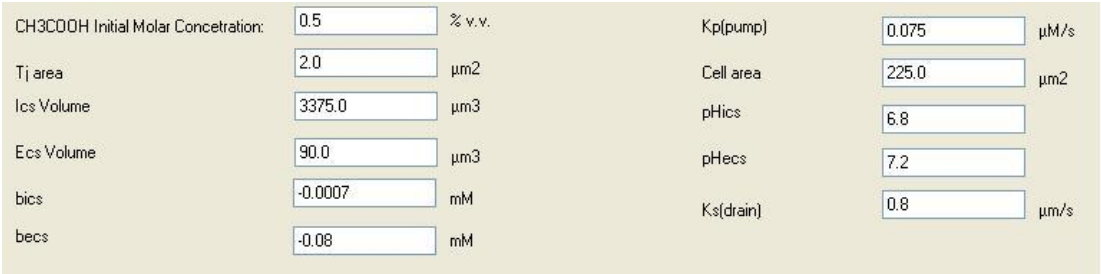
Paths



Εικόνα 46 Ορισμός των paths στην εφαρμογής μας

Στο πάνω μέρος της εικόνας διακρίνουμε τα δύο paths τα οποία λαμβάνουμε από το χρήστη και μας βοηθούν στην διασύνδεση με τα μοντέλα που κατασκευάσαμε στο E-Cell. Στο πρώτο ορίζουμε το path του E-Cell και στο δεύτερο το path του interface μας ,στο οποίο τοποθετούνται κατά την εγκατάσταση αυτόματα τόσο τα python scripts όσο και το gnuplot.

Αριθμητικοί Παράμετροι



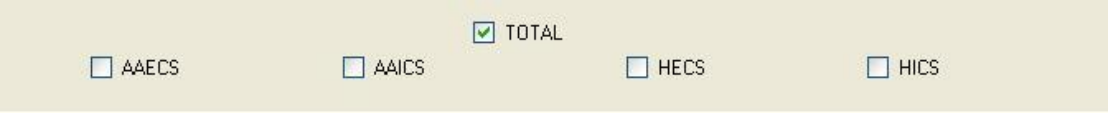
Εικόνα 47 Ορισμός των αριθητικών παραμέτρων στην εφαρμογής μας

Στη συνέχεια ακολουθούν οι παράμετροι που έχουμε τη δυνατότητα να αλλάξουμε στα μοντέλα που δημιουργήσαμε:

- Το CH_3COOH Initial Molar Concentration, αναφέρεται στην αρχική συγκέντρωση του οξικού οξέος που θέλουμε να διοχετεύσουμε στο μοντέλο μας.
- Το Tj area, αναφέρεται στην επιφάνεια των tight junctions. Στη βιβλιογραφία η επιφάνεια αυτή για ένα φυσιολογικό τετραγωνικό επιθήλιο είναι 0.45 μm2. Ωστόσο, αυτή η τιμή ενδέχεται να μεταβάλλεται σύμφωνα με την αντοχή των tight junction.
- Στη συνέχεια έχουμε το Ics Volume, το οποίο αναπαριστά τον όγκο του εσωκυττάριου χώρου. Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι το νεοπλαστικό τμήμα του επιθηλίου τείνει να ομογενοποιηθεί, υιοθετούμε ότι ο όγκος , τόσο ο εσωκυττάριος όσο και ο εξωκυττάριος παραμένουν σταθεροί στα διάφορα επίπεδα του CIN.
- Ομοίως ακολουθεί το Ecs Volume , που αναπαριστά τον όγκο του εξωκυττάριου χώρου του κυττάρου.
- Στη συνέχεια ακολουθούν το bics και becs που αναφέρονται στις τιμές του buffering στον εσωκυττάριο και στον εξωκυττάριο χώρο αντίστοιχα.

- Ακολουθεί η τιμή του kp(pump), η οποία αναφέρεται στην αποβολή πρωτονίων από τον εσωκυττάριο χώρο.
- Κατόπιν έχουμε την cell area, που αναπαριστά την επιφάνεια του κυττάρου μεταξύ του εσωκυττάριου κα του εξωκυττάριου χώρου.
- Στη συνέχεια έχουμε τις τιμές για το αρχικό ph τόσο στον εσωκυττάριο όσο και στον εξωκυττάριο χώρο(pHics και pHecs) αντίστοιχα.
- Τέλος έχουμε το Ks(drain) ,που αναφέρεται στην τιμή διάχυσης από το τελευταίο κυτταρικό επίπεδο στο drain.

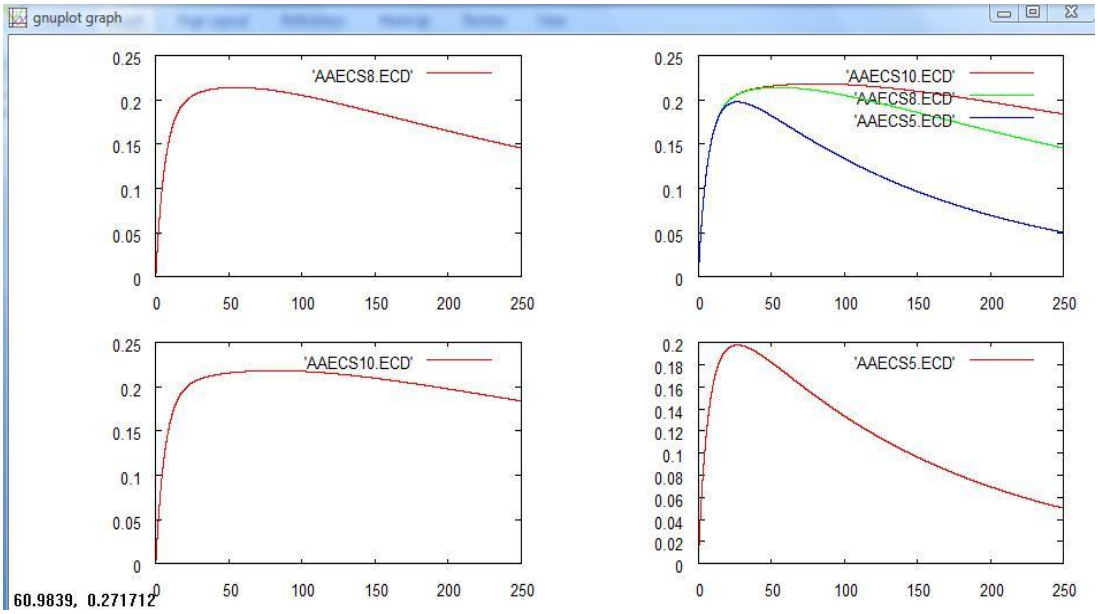
Παρουσίαση γραφικών παραστάσεων



Εικόνα 48 Επιλογή των γραφικών αποτελεσμάτων στην εφαρμογής μας

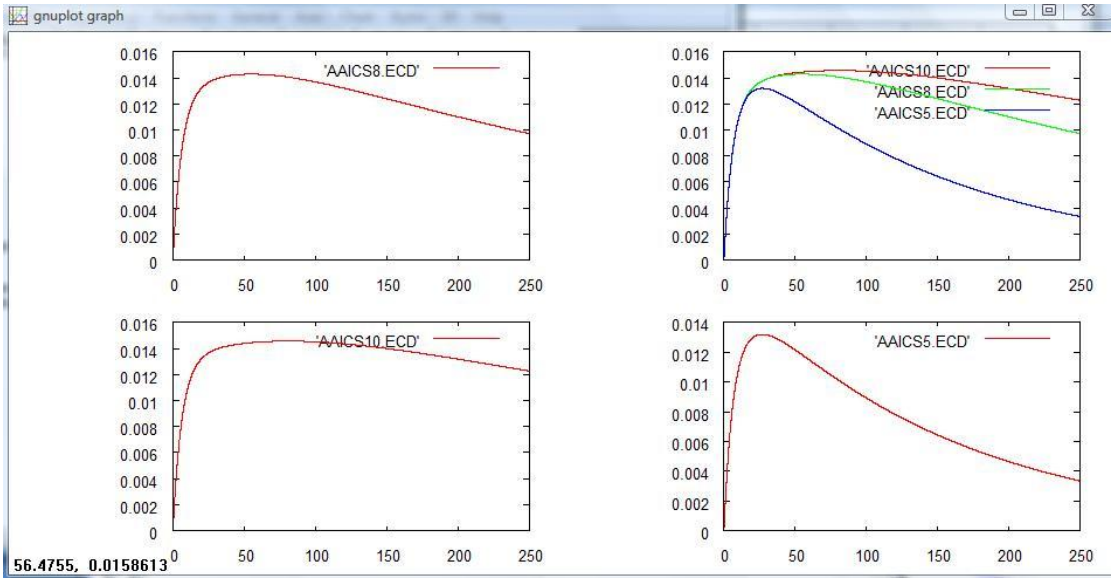
Στο κάτω μέρος της οθόνης φαίνονται πέντε checkboxes με τα οποία μπορούμε να διαλέξουμε ποια αποτελέσματα μας ενδιαφέρει να προβληθούν στην οθόνη. Έχουμε τις εξής επιλογές:

- **AAECS**. Με αυτήν την επιλογή παρουσιάζονται οι γραφικές που αφορούν την συγκέντρωση του οξικού οξέος στον εξωκυττάριο χώρο. Παρουσιάζονται τέσσερις γραφικές,μία για κάθε μοντέλο ξεχωριστά(5-8-10) και μία και των τριών μαζί.



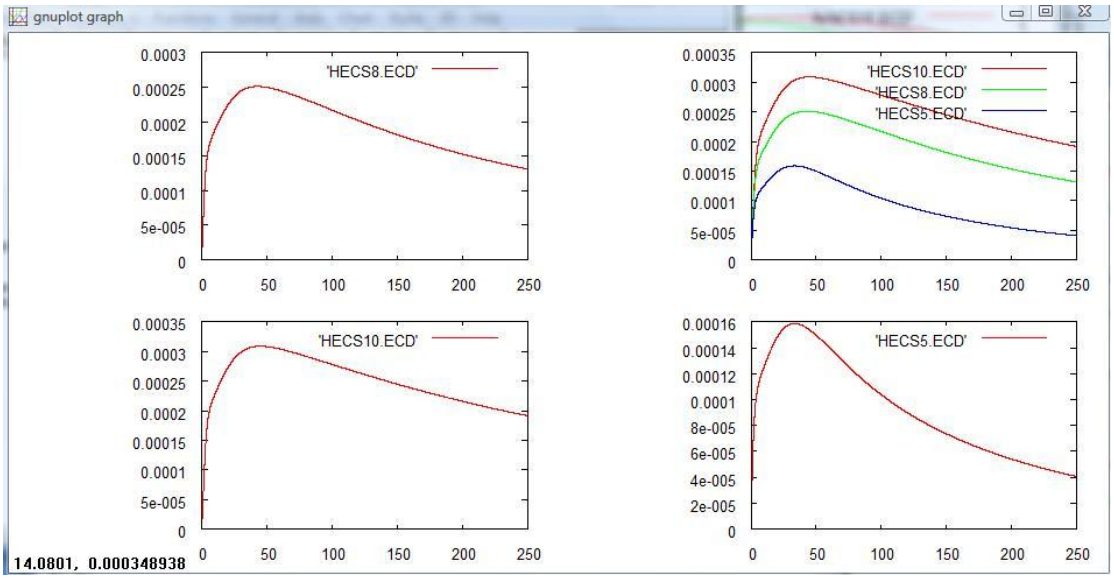
Εικόνα 49 Γραφική παράσταση του AAecs

- **AAICS**. Με αυτήν την επιλογή παρουσιάζονται οι γραφικές που αφορούν την συγκέντρωση του οξικού οξέος στον εσωκυττάριο χώρο. Ομοίως παρουσιάζονται τέσσερις γραφικές, μία για κάθε μοντέλο ξεχωριστά(5-8-10) και μία και των τριών μαζί.



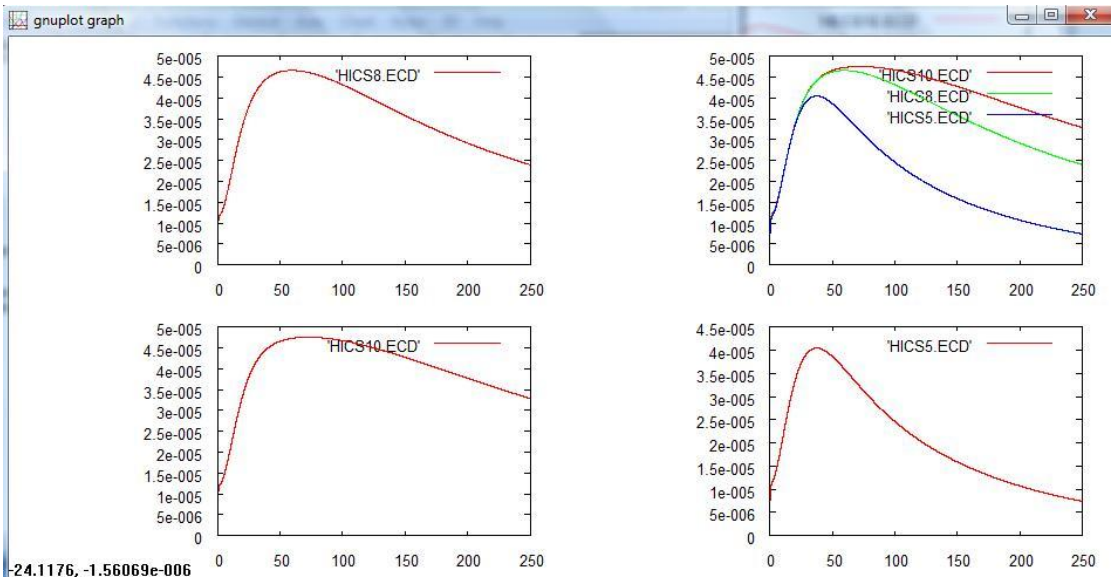
Εικόνα 50 Γραφική παράσταση του AAics

- **HECS**. Με αυτήν την επιλογή παρουσιάζονται οι γραφικές που αφορούν την συγκέντρωση του Η στον εξωκυττάριο χώρο. Ομοίως παρουσιάζονται τέσσερις γραφικές, μία για κάθε μοντέλο ξεχωριστά(5-8-10) και μία και των τριών μαζί.



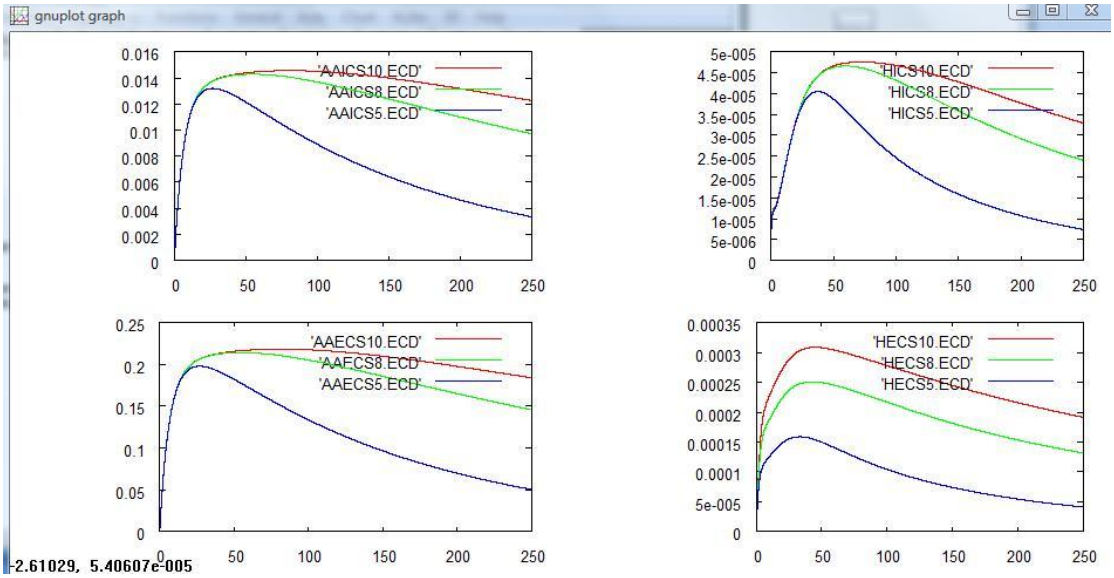
Εικόνα 51 Γραφική παράσταση του Hecs

- **HICS**. Με αυτήν την επιλογή παρουσιάζονται οι γραφικές που αφορούν την συγκέντρωση του Η στον εσωκυττάριο χώρο. Ομοίως παρουσιάζονται τέσσερις γραφικές, μία για κάθε μοντέλο ξεχωριστά(5-8-10) και μία και των τριών μαζί.



Εικόνα 52 Γραφική παράσταση του Hics

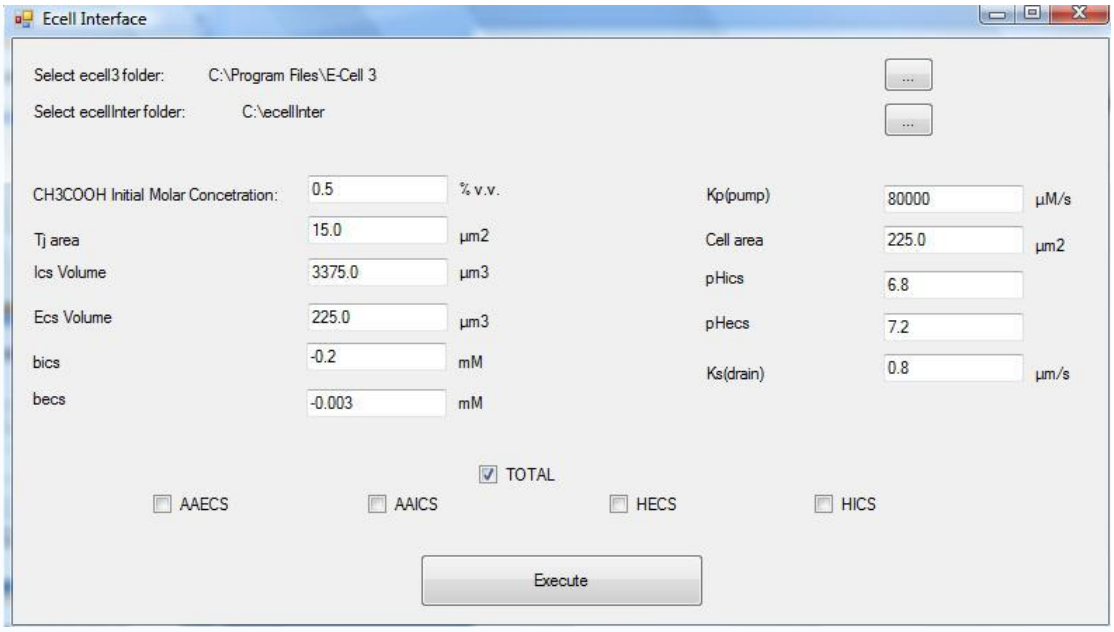
- **TOTAL**. Με αυτήν την επιλογή παρουσιάζονται οι συνολικές γραφικές που αφορούν την συγκεντρώσεις τόσο στον εξωκυττάριο όσο και στον εσωκυττάριο χώρο



Εικόνα 53 Γραφική παράσταση του Total

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ECELLINTER

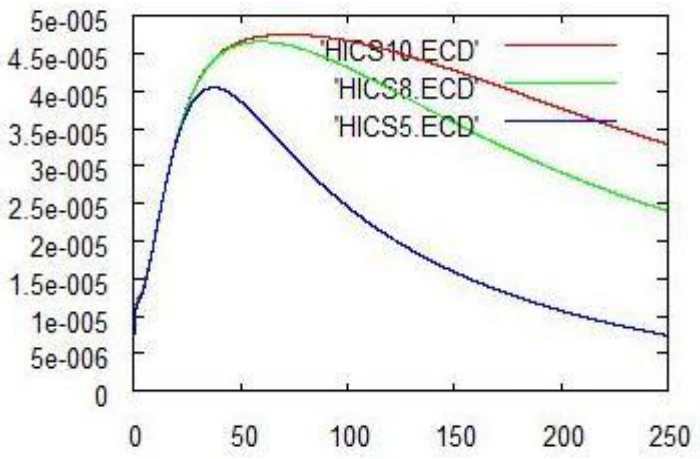
Αρχικά μελετήσαμε την βιολογική πλευρά του προβλήματος και καταλήξαμε στο μαθηματικό μοντέλο που προσεγγίζει το θέμα μας. Στη συνέχεια κατασκευάσαμε την εφαρμογή, όπως περιγράψαμε στα προηγούμενα και στο παρόν κεφάλαιο θα προσπαθήσουμε να παρουσιάσουμε τα αποτελέσματα που μας δίνει η εφαρμογή και πως αυτά επηρεάζονται από την μεταβολή κάποιων ζωτικών παραμέτρων που δίνουμε στο πρόγραμμα. Για το σκοπό αυτό τρέξαμε αρκετές φορές το πρόγραμμα παίρνοντας ένα σύνολο γραφικών παραστάσεων που θα παρουσιάσουμε στη συνέχεια.



Εικόνα 54 Το αρχικό interface της εφαρμογής

5.1 Αριθμός κυτταρικών επιπέδων.

Αρχικά παρουσιάζουμε τις γραφικές παραστάσεις που απεικονίζουν τις διαφορές μεταξύ των σταδίων δυσπλασίας . Παρουσιάζουμε τις καμπύλες για n=5 , n=8 και n=10 (όπου n αντιπροσωπεύει τα επίπεδα των κυττάρων).



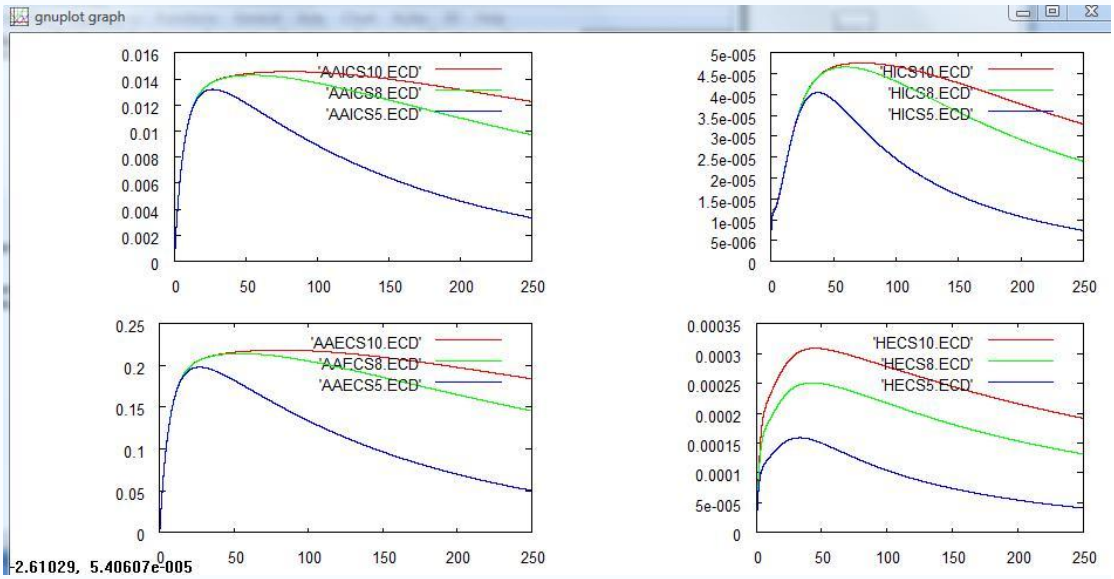
Εικόνα 55 Γραφική παράσταση του Hics για διάφορα n

Παρατηρώντας τις καμπύλες βλέπουμε ότι όσο αυξάνουμε τον αριθμό των επιπέδων, έχουμε αύξηση των ακραίων τιμών, η κλίση ανόδου παραμένει σταθερή ενώ η εξασθένιση μειώνεται. Επίσης παρατηρούμε ότι η μορφή της εξασθένησης της καμπύλης πλησιάζει την εκθετική μορφή. Παρατηρούμε επίσης πως η αύξηση αυτή είναι πιο απότομη πηγαίνοντας από τον n=5 στο n=8 και μικρότερη πηγαίνοντας από το n=8 στο n=10. Τέλος όσον αφορά την διαφορά αρχικής και τελικής τιμής βλέπουμε πως όσο μεγαλώνει το n τόσο αυξάνει και αυτή.

5.2 Διάχυση Tj

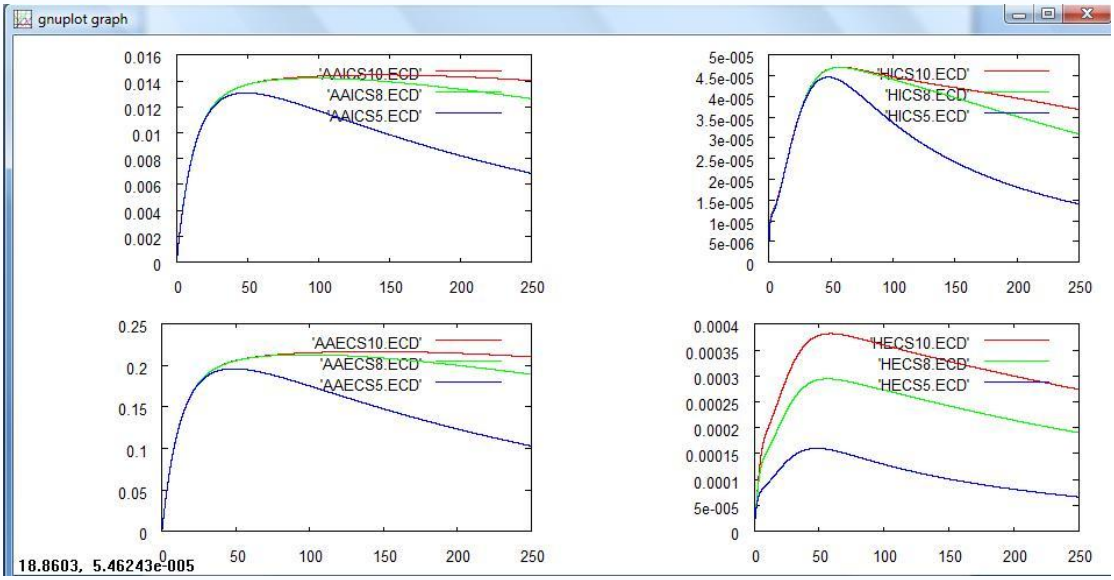
Θέλοντας να μελετήσουμε την επίδραση που έχει στο μοντέλο μας κάποια μεταβολή στο ρυθμό διάχυσης μεταξύ των κυτταρικών επιπέδων μειώσαμε το Tjarea από το Tjarea=15.0 στο Tjarea=8.0.

Tjarea=15.0



Εικόνα 56 Γραφική παράσταση για Tjarea=15.0

Tjarea=8.0



Εικόνα 57 Γραφική παράσταση για Tjarea=8.0

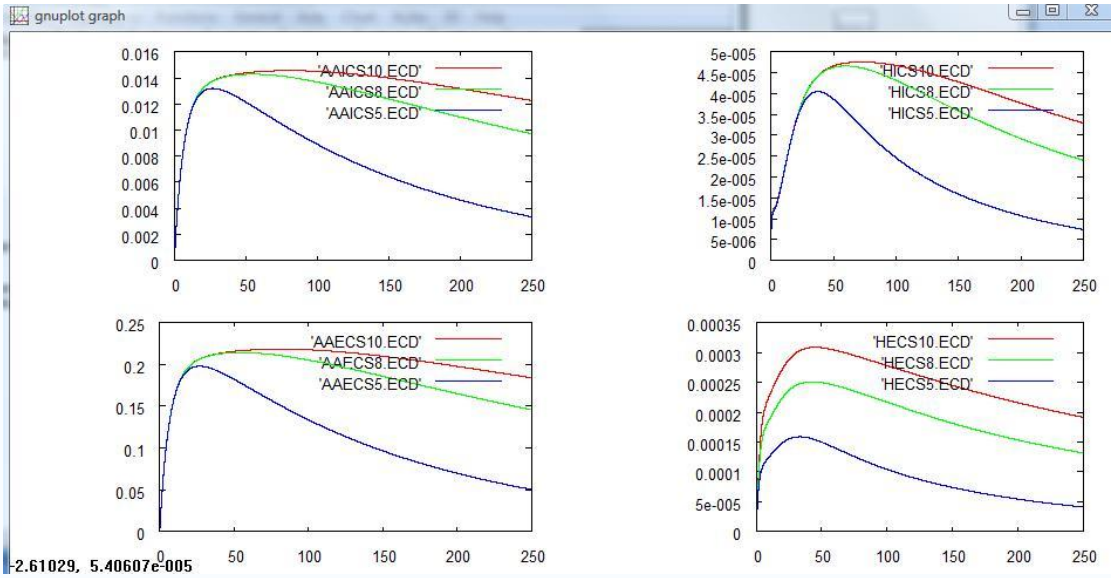
Παρατηρώντας τις δύο γραφικές που απεικονίζουν τις συγκεντρώσεις των ΑΑ και Η τόσο στον εσωκυττάριο χώρο όσο και στον εξωκυττάριο, βλέπουμε ότι αυτό που ουσιαστικά μεταβάλλεται είναι ο χρόνος που εξελίσσεται το

φαινόμενο.Οι ακραίες τιμές των πλατών βλέπουμε ότι παραμένουν σταθερές. Αντίθετα τόσο η κλίση ανόδου όσο και η κλίση καθόδου βλέπουμε ότι μειώνονται όσο μειώνουμε το Tjarea. Επίσης παρατηρούμε πως αυξάνει η διαφορά μεταξύ αρχικής και τελικής τιμής ,γεγονός φυσιολογικό λόγο της μικρότερης κλίσης καθόδου που έχουμε Έτσι λοιπόν καταλήγουμε ότι ο ρυθμός διάχυσης αποτελεί τον χρονικό ρυθμιστή για την εξέλιξη του φαινομένου.

5.3 Buffering

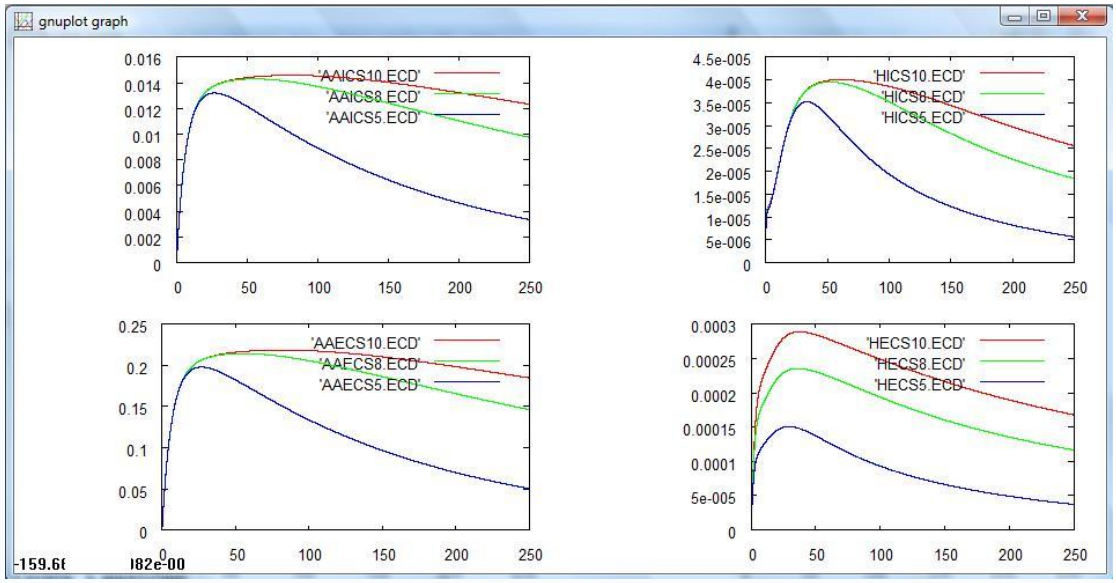
Το φαινόμενο του buffering είναι η διαδικασία που τείνει να ελαχιστοποιήσει τυχόν αλλαγές στο pH.

Στην παρακάτω εικόνα βλέπουμε τις γραφικές παραστάσεις με τις αρχικές τιμές buffering bics=-0.2 και becs=-0.003.



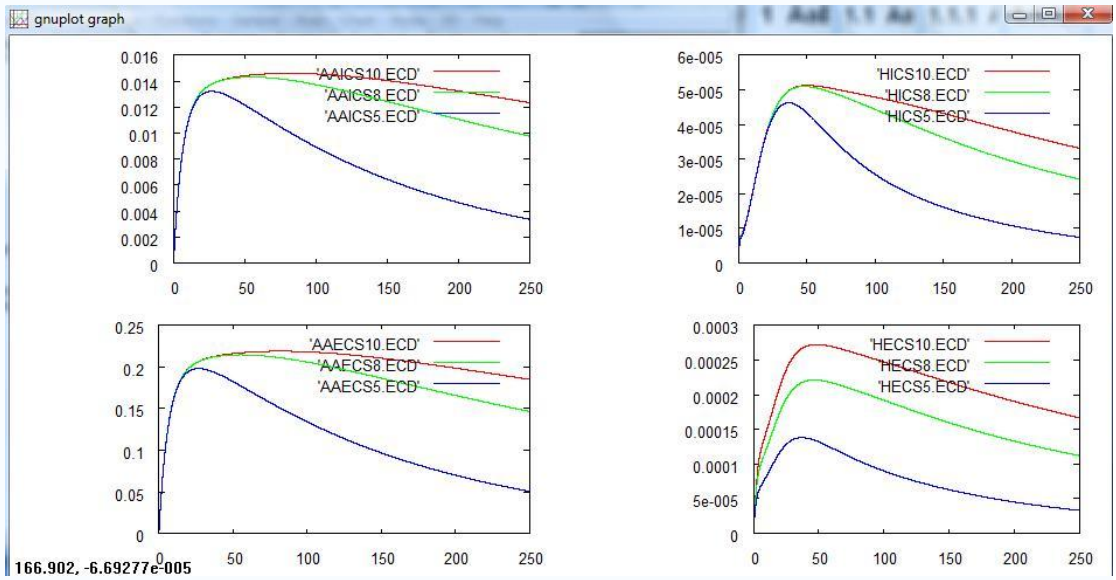
Εικόνα 58 Γραφική παράσταση με bics=0.2 και becs=0.003

Στη συνέχεια θέτουμε bics=-0.1 και becs=-0.003.



Εικόνα 59 Γραφική παράσταση με bics=0.1

Επίσης παρουσιάζουμε και για bics=-0.2 και becs=-0.001.



Εικόνα 60 Γραφική παράσταση με buffering για becs=-0.001

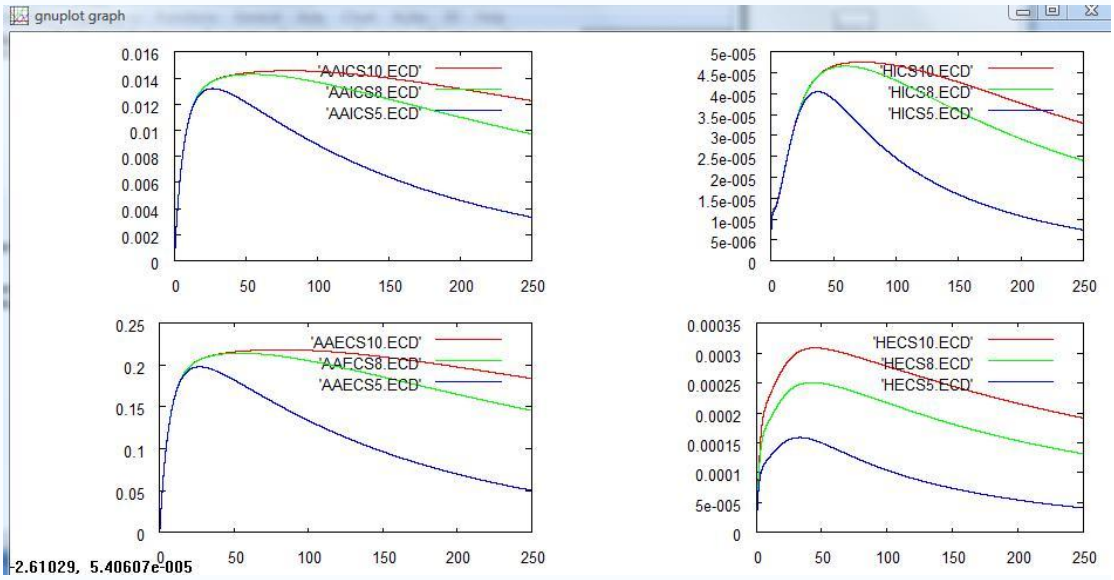
Παρατηρώντας τις γραφικές παραστάσεις βλέπουμε πως η παρουσία του buffering επηρεάζει αισθητά τις καμπύλες συγκέντρωσης του Η ενώ οι μεταβολές στις αντίστοιχες του ΑΑ είναι πολύ μικρές. Αυτό το γεγονός οφείλεται στην έμμεση σχέση που έχει η συγκέντρωση του ΑΑ με το buffering μέσω του ιονισμού ενώ το Η έχει άμεση σχέση με αυτό. Επίσης παρατηρούμε

πως ανάλογα με τις τιμές που θέτουμε για το bics και το becs επηρεάζονται αντίστοιχα και οι συγκεντρώσεις εσωκυττάριου ή εξωκυττάριου χώρου. Παρατηρούμε ότι η αύξηση του bics προκαλεί μείωση της ακραίας τιμής του πλάτους και ομοίως μείωση της διαφοράς αρχικής και τελικής τιμής. Επίσης εμφανίζει και μία μικρή μείωση στις κλίσεις ανόδου και καθόδου.Ίδιες είναι και οι παρατηρήσεις μας όσον αφορά την μεταβολή του becs.

5.4 Αποβολή πρωτονίων (Pumping)

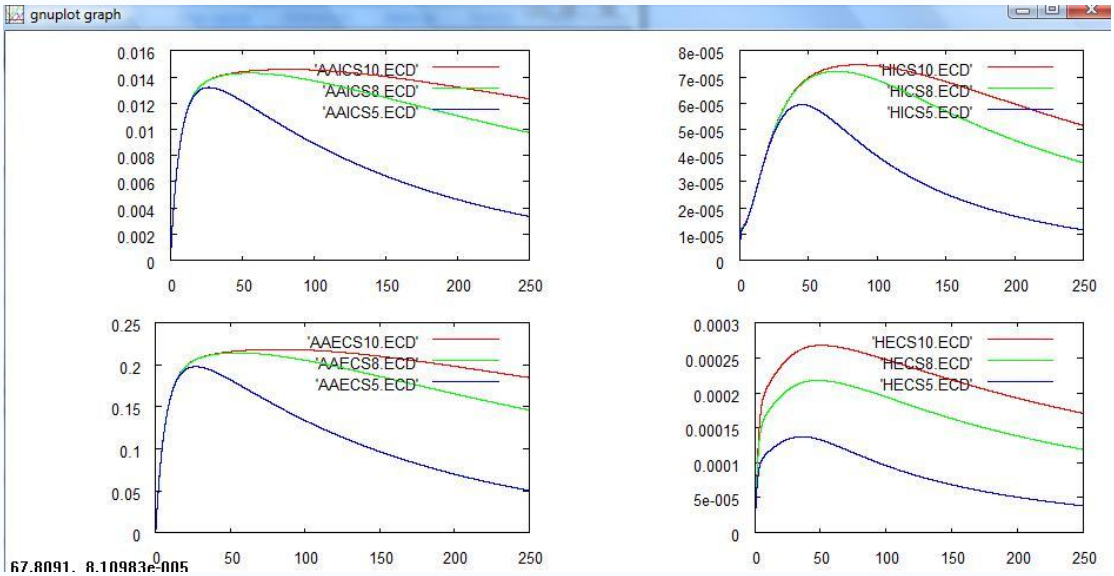
Μία άλλη παράμετρο που παρουσιάζουμε παρακάτω είναι η Kp(pumping). Παραθέτουμε τις δύο γραφικές για Kp=80000 μM/sec και Kp=40000 μM/sec. Για μικρότερες διαφορές στις τιμές, δεν ήταν ευδιάκριτες οι μεταβολές.

Kp=80000 μM/sec



Εικόνα 61 Γραφική παράσταση αποβολής πρωτονίων για Kp=80000

Kp=40000 μM/sec



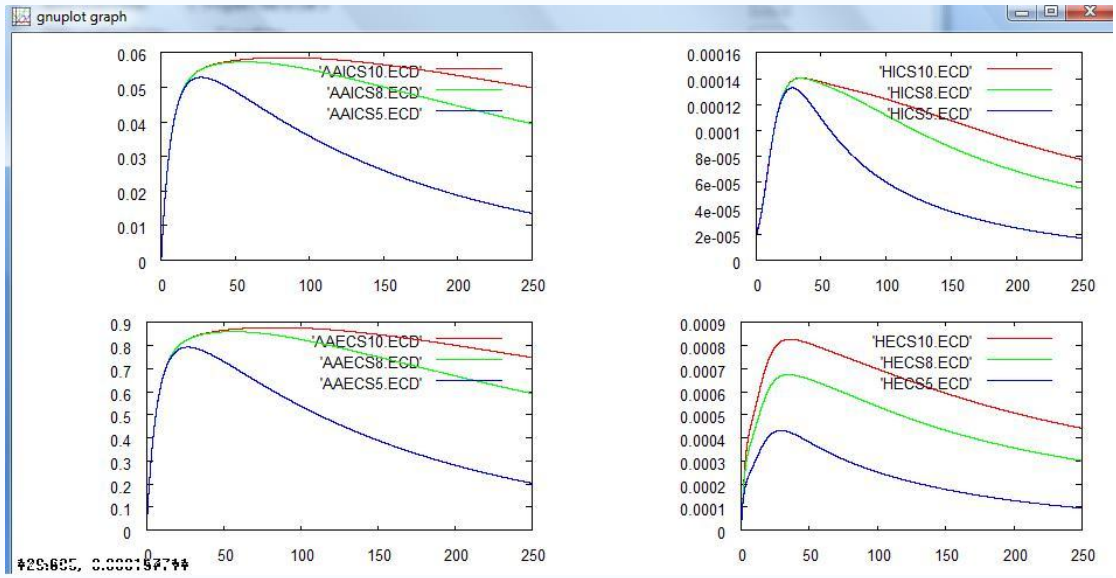
Εικόνα 62 Γραφική παράσταση αποβολής πρωτονίων για Kp=40000

Παρατηρώντας τις καμπύλες διακρίνουμε όπως αναμέναμε την επιρροή της αλλαγής που κάναμε στο Kp τόσο στην αύξηση των ακραίων τιμών του πλάτους όσο και στην αύξηση της κλίσης που παρουσιάζει η εξασθένιση της καμπύλης.Επίσης παρατηρούμε ότι η διαφορά αρχικής και τελικής τιμής μειώνεται όπως είναι λογικό από την αύξηση της κλίσης καθόδου.

5.5 Αρχική συγκέντρωση

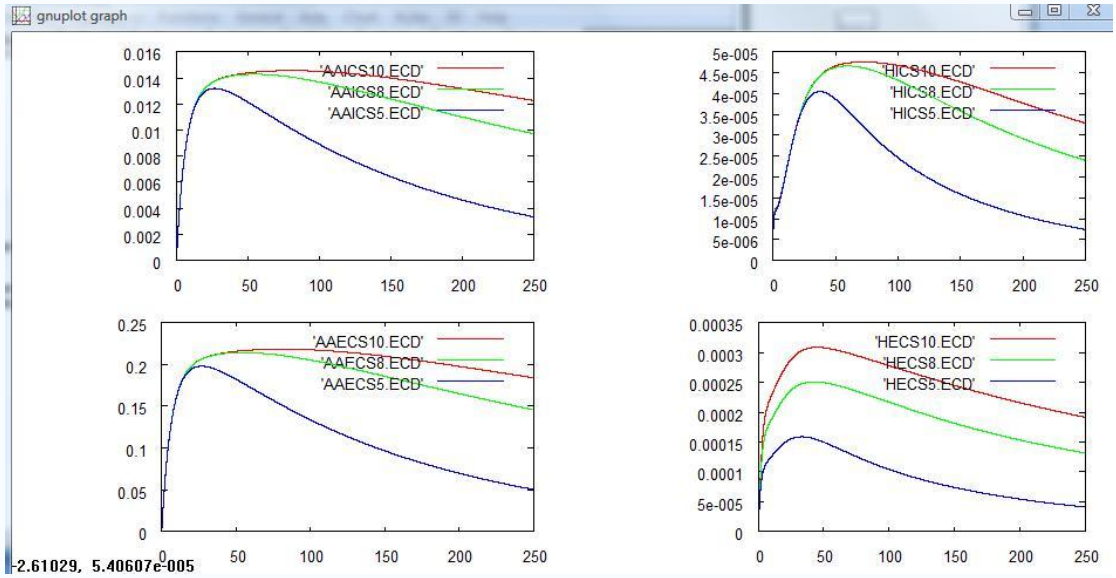
Ο πιο προφανής παράγοντας που επηρεάζει τις γραφικές παραστάσεις είναι η αρχική συγκέντρωση οξικού οξέος που εισέρχεται στα κύτταρα. Παραθέτουμε τις γραφικές για AA=2.0 v/v και AA=0.5 v/v.

AA=2.0



Εικόνα 63 Γραφική παράσταση για συγκέντρωση 2 v/v

AA=0.5



Εικόνα 64 Γραφική παράσταση για συγκέντρωση 0.5 v/v

Παρατηρώντας τις καμπύλες βλέπουμε ,όπως είναι φυσικό, διακρίνουμε αύξηση των ακραίων τιμών του πλάτους των συγκεντρώσεων ανάλογη με την αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης.Επίσης διακρίνουμε μικρή αύξηση στις

κλίσεις τόσο ανόδου όσο και καθόδου καθώς και μείωση της τελικής διαφοράς αρχικής και τελικής τιμής.

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει εξελιχθεί στην πιο συχνή αιτία θανάτου για τις γυναίκες στις αναπτυσσόμενες χώρες και τρίτη κατά σειρά αντίστοιχα για όλη την υφήλιο. Από το γεγονός αυτό καταλαβαίνουμε την σημασία που μπορεί να έχει κάθε προσπάθεια για έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση της ασθένειας. Όσο περνούν τα χρόνια επιτυγχάνονται όλο και καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την ακρίβεια και την ευαισθησία των διαγνώσεων. Σε αυτό έχει συμβάλλει αρκετά η ανάπτυξη των οπτικών τεχνικών διάγνωσης όπως αυτή που πραγματευόμαστε στην παρούσα εργασία.

Στα πρώτα κεφάλαια παρουσιάσαμε το φαινόμενο κατά το οποίο το οξικό οξύ αντιδρά χημικά με τις δυσπλαστικές περιοχές του καρκινικού επιθηλίου (acetowhitening). Κάναμε μία παρουσίαση των δομικών και λειτουργικών χαρακτηριστικών των επιθηλίων που συμμετέχουν στην φυσικοχημική αυτή διαδικασία. Αναλύσαμε επίσης το μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει τη διαδικασία, σύμφωνα με τις υπάρχουσες γνώσεις και πληροφορίες που μας παρείχαν όλα τα άτομα του εργαστηρίου που έχουν ασχοληθεί κατά καιρούς με την μελέτη του συγκεκριμένου φαινομένου. Στη συνέχεια κάνοντας μία εκτενή έρευνα, τόσο στο διαδίκτυο όσο και σε άλλα ακαδημαϊκά ιδρύματα του εξωτερικού, καταλήξαμε στο συμπέρασμα πως υπάρχει αδυναμία στην διαμερισματική μοντελοποίηση του φαινομένου που ερευνούμε με την χρήση κάποιας υπάρχουσας πλατφόρμας κατασκευής και προσομοίωσης βιολογικών μοντέλων, ωστόσο η πλατφόρμα e-cell παρουσιάζει στοιχεία πολύ κοντά σε αυτό που θέλουμε. Το e-cell αποτελεί μία πλατφόρμα την οποία μπορούμε να επεξεργαστούμε και να προσαρμόσουμε στα δεδομένα του προαναφερθέντος βιοφυσικού προβλήματος διάχυσης ενός βιολογικού δείκτη εντός επιθηλιακών ιστών. Επιπλέον, ως open-source εργαλείο μας προσφέρει τη δυνατότητα παραιτέρω βελτιώσεων του πυρήνα καθώς/ή και τη συνεργασία με άλλους ερευνητές που ασχολούνται με το αντικείμενο της διαμερισματικής μοντελοποίησης. Ως εκ τούτου προχωρήσαμε στην υλοποίηση ενός γραφικού περιβάλλοντος για την πλατφόρμα e-cell το οποίο ανταποκρίνεται στις ανάγκες ενός τέτοιου προβλήματος. Στη συνέχεια

χρησιμοποιώντας τις τιμές που είχαμε για τις διάφορες παραμέτρους παίρνοντας μια σειρά αποτελεσμάτων σχετικών με το πως μεταβάλλονται οι καμπύλες των συγκεντρώσεων μετά την εισροή μιας συγκεκριμένης ποσότητας οξικού οξέος στο επιθήλιο.

Εκπονώντας την ανωτέρω εργασία επιβεβαιώσαμε για ακόμη μία φορά την ορθότητα του μοντέλου που αφορά το φαινόμενο του acetowhitening . Μελετώντας τα αποτελέσματα συμπεράναμε πως το φαινόμενο του acetowhitening καθορίζεται κυρίως από την καμπύλη συγκέντρωσης των πρωτονίων στον εσωκυττάριο χώρο. Η ανάλυση ευαισθησίας του μοντέλου μέσω των γραφικών παραστάσεων που προέκυψαν ανέδειξαν τις εξαρτήσεις της καμπύλης συγκέντρωσης πρωτονίων από τις παραμέτρους. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση των ακραίων τιμών των συγκεντρώσεων όσο προχωρούν τα στάδια του CIN,όσο μειώνονται οι συντελεστές εξωκυτταρικού και εσωκυτταρικού buffering καθώς και όσο μεγαλώνει ο ρυθμός αποβολής πρωτονίων. Επίσης παρατηρείται πως η κλίση καθόδου αυξάνεται όσο αυξάνει το στάδιο του CIN , όσο αυξάνει το Tjarea και όσο αυξάνει ο ρυθμός αποβολής πρωτονίων. Μικρές μεταβολές παρατηρήσαμε στις μεταβολές των συντελεστών του buffering. Η κλίση ανόδου των καμπυλών αυξάνει , όσο αυξάνει το Tjarea, όσο αυξάνει ο ρυθμός αποβολής πρωτονίων. Τέλος, όλα τα ανωτέρω επιρρεάζονται επίσης από την αρχική συγκέντρωση οξικού οξέος που εισέρχεται στο κύτταρο.

Όσον αφορά μελλοντικές εργασίες που μπορούμε να κάνουμε πάνω στο θέμα σαφώς και μπορούν να είναι αρκετές και προς διάφορες κατευθύνσεις. Πρώτον μπορούμε να ερευνήσουμε βαθύτερα τα χαρακτηριστικά του φαινομένου με σκοπό να αποκτήσουμε καλύτερη γνώση πάνω στην αλληλεπίδραση των ιστών με σκοπό την γενίκευση του συγκεκριμένου μοντέλου. Επίσης μπορούμε μελετώντας εκτενέστερα, από βιολογικής πλευράς , να βρούμε ακριβέστερες τιμές για τις παραμέτρους του μοντέλου μας που θα μας οδηγήσουν σε πιο ακριβή αποτελέσματα. Όσον αφορά την εφαρμογή, αυτή μπορεί να παραμετροποιηθεί έτσι ώστε να αποτελεί ένα γενικό πρότυπο για μεγαλύτερη γκάμα προβλημάτων το οποίο θα προσαρμόζει κατάλληλα ο χρήστης.Θα μπορούσαμε να προχωρήσουμε σε χρήση τυχόν βελτιώσεων που υπάρχουν σε νέες εκδόσεις του e-cell καθώς επίσης να προχωρήσουμε και στην δημιουργία εφαρμογής ανεξάρτητης από

την πλατφόρμα του e-cell με σκοπό μια stand alone μοντελοποίηση. Στα επόμενα χρόνια αυτό το πάντρεμα της βιολογίας και του Η/Υ μόνο ευεργετικά αποτελέσματα θα έχει για την ανθρωπότητα και με τα βήματα που θα γίνουν προς αυτή την κατεύθυνση θα σωθούν πολλές ανθρώπινες ζωές.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

[1] Georgios Papoutsoglou Master Thesis 'Modeling of epithelial transport phenomena related with the acetowhitening optical characteristics: Potential for the in-vivo diagnosis of cervical neoplasia'

[2] Antonis Potirakis Master Thesis 'Biophysical Modeling of Dynamical Optical Phenomena Induced by Diagnostic Biomarkers in living tissues:Application in Non-Intrusive Diagnostics of precancerous lesions.

[3] 'Modern Analytical Chemistry' David Harvey De Pauw University.

[4] 'Molecular cell Biology 5TH Edition.

[5] 'E-cell Simulation Environment Version 3.1.105 User's Manual, Koichi Takahashi, Nathan Addy.

[6] **http://en.wikipedia.org**

[7] **http://nsr.bioeng.washighton.edu**

[8] 'E-cell Basics' An introductory tutorial for modeling using the E-cell software.

[9]' Stochastic-Deterministic Hybrid modeling'

[10] 'Simulation of chemically Reacting Systems' ,Hu Bin

[11] 'E-Cell python process manual'

[12] 'Modeling on the E-cell system', Takeshi Sakurada Institute for Advanced Biosciences Keio University

[13] 'A practical Introduction to SBML' , Maria J. Schilstra, Andrew Finney, Michael Hucka University of Hertfordshire

[14] 'SBML and CellML Standard XML-based markup languages for models of biochemical systems, ' Maria j Schilstra

[15] ' Modeling the E.coli cell:The need for computing,cooperation and consortia', Barry L. Wanner, Andrew Finney, Michael Hucka

[16] **http://www.copasi.org**.

[17] **http://contraintes.inria.fr/BIOCHAM/DOC/biocham.html**

[18] **www.bionessie.org**

[19] **http://www.tbi.univie.ac.at/~raim/odeSolver/**

[20] **http://cbbl.imim.es:8080/ByoDyn**

[21] **www.celldesigner.org**

[22] www.cellillustrator.com

[23] www.gepasi.org

*[24] nsr.bioeng.washington.edu/**jsim**/*

[25] ieeexplore.ieee.org/iel5/

[26] www.systems-biology.com/products/pk-sim.html

[27] www.sbtoolbox2.org

[28] www.tinkercell.com

*[29] **xcellerator**.info*

[30] www.primordion.com/Xholon/

*[31] depts.washington.edu/**saam2**/**saamII**/index.html*