

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ
ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ

ΣΟΥΛΗ ΜΑΡΙΑ
Φυσικός εφαρμογών Ε.Μ.Π.

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΕΩΡΓΑΚΙΛΑΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ, ΕΠ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε.Μ.Π.

ΑΘΗΝΑ 2016

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία έγινε στα πλαίσια της γενικότερης έρευνας των χαρακτηριστικών και των λειτουργιών των βιολογικών υλικών, και ειδικότερα στην προσπάθεια χρήσης των μετρήσιμων φυσικών μεγεθών της Επιστήμης των Υλικών για την δημιουργία νέων διαγνωστικών εργαλείων.

Πιο συγκεκριμένα, στην εργασία μελετώνται ομάδες ιστών που είναι υγιείς, καρκινικοί ή έχουν εκτεθεί σε ιοντίζουσα ή μη ιοντίζουσα ακτινοβολία. Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκε η μέθοδος της Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας Εναλλασσομένου Πεδίου (Dielectric Relaxation Spectroscopy, DRS), συνοδευόμενη συμπληρωματικά και επιλεκτικώς από μετρήσεις ισόθερμης αφυδάτωσης σε ισορροπία (Equilibrium water desorption isotherms, EDI) , στο εργαστήριο Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας του Τομέα Φυσικής, της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών, του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Όσο αφορά τους βιολογικούς ιστούς, η εκτομή τους έγινε από

- την ερευνητική ομάδα Ηλεκτρομαγνητικής Βιολογίας του τομέα Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ),
- την ομάδα Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ (Καθ. Β. Γοργούλης),
- το διαγνωστικό κέντρο «Ηχοδιαγνωστική Τομογραφία»,
- το Εργαστήριο Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού και Γήρανσης του Ινστιτούτου Βιολογίας του ΕΚΕΦΕ “Δημόκριτος”

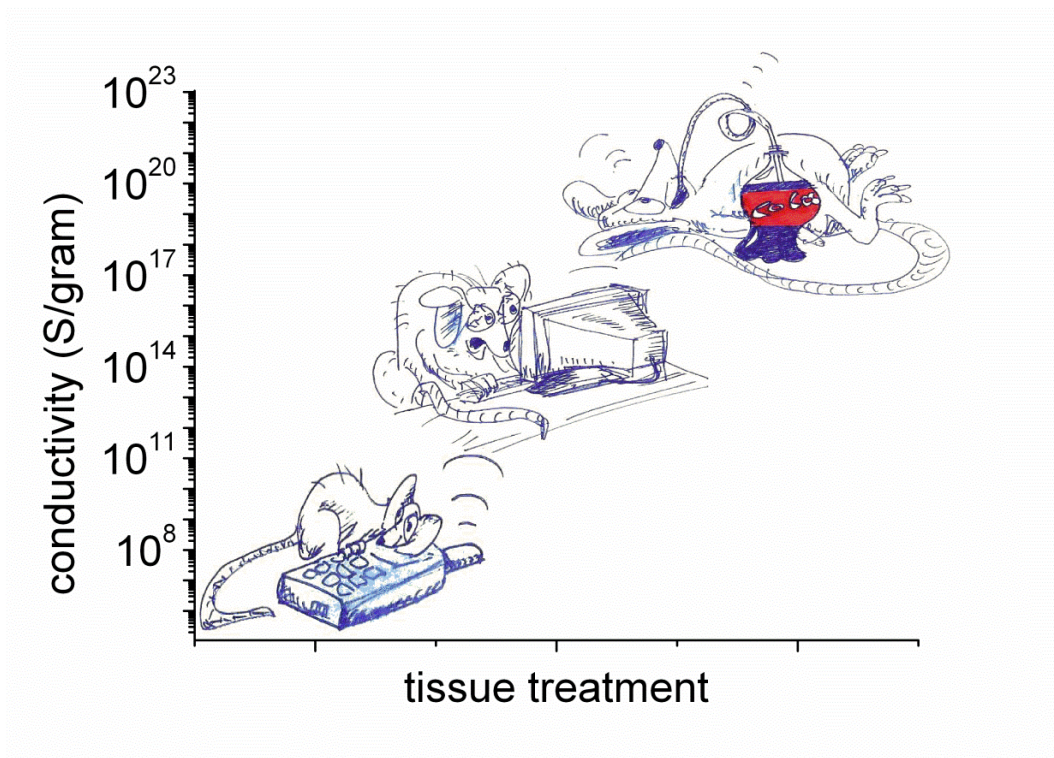
Με την ολοκλήρωση της εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της εργασίας, Επίκ. καθηγητή Αλέξανδρο Γεωργακίλα, που με εμπιστεύτηκε και με καθοδήγησε καθ’ όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής εργασίας. Άνοιξε για μένα πόρτες σε άλλα επιστημονικά πεδία και με καθοδήγησε στο να σκέφτομαι «έξω από το κουτί», βοηθώντας με να γνωρίσω καλύτερα την Επιστήμη, αλλά και τους εξαιρετικούς ανθρώπους της.

Δε θα μπορούσα φυσικά να παραλείψω την ομάδα Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας [1], που με υποστήριξε και με βοήθησε σε καθημερινή βάση και σε κάθε στάδιο της εργασίας μου. Θερμές ευχαριστίες στον Δρ. Παναγιώτη Κλώνο για την αμέριστη βοήθεια, την τεχνογνωσία και το εξαιρετικό κλίμα συνεργασίας, καθώς επίσης και τον καθηγητή Απόστολο Κυρίτση, για τις χρήσιμες παρατηρήσεις επί των αποτελεσμάτων και τις συμβουλές στην καθιέρωση του πρωτοκόλλου μέτρησης.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους φορείς που αναφέρθηκαν παραπάνω και συγκεκριμένα τον καθηγητή Λουκά Μαργαρίτη, τη Δρ. Αδαμαντία Φραγκοπούλου (Κυτταρική Βιολογία, ΕΚΠΑ), τον υπεύθυνο του Εργαστηρίου Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού και Γήρανσης, Δρ. Δημήτρη Κλέτσα, και τον Δρ. Παύλο Ζουμπούλη, γιατρό και διευθυντή της «Ηχοδιαγνωστικής Τομογραφίας», για την καλή διάθεση και την άψογη συνεργασία όσο αφορά την απόκτηση και μεταφορά ιστών.

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω την ομάδα Ιστολογίας και Εμβριολογίας (ΕΚΠΑ) και συγκεκριμένα τον καθηγητή Βασίλη Γοργούλη, τον Δρ. Γιάννη Πατέρα και τους νέους λαμπρούς επιστήμονες Πλάτωνα Σελεμενάκη, Γεράσιμο Πολάκη και Ειρήνη Σφυρόερα, που άνοιξαν το εργαστήριό τους και με βοήθησαν ουσιαστικά και με μεγάλη προθυμία και με την παροχή ιστών, αλλά και τη μύησή μου στις τεχνικές που χρησιμοποιούν. Θερμές ευχαριστίες στους υποψήφιους διδάκτορες Ηλία Γάτο και Γιάννη Μαθιουδάκη, για την καθοριστική παροχή πληροφοριών, την οργάνωση των πειραμάτων και το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια και τους φίλους μου, που αποτελούν πάντα πηγή δύναμης, κινήτρων και αντικινήτρων!



designed by Dr Panagiotis Klonos

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο : ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ-ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο : ΘΕΩΡΙΑ ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ	16
2.1 ΣΤΑΤΙΚΟ ΠΕΔΙΟ ΣΤΗΝ ΥΛΗ	19
2.2 ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΟ ΠΕΔΙΟ ΣΤΗΝ ΥΛΗ	20
2.3 ΧΡΟΝΟΣ ΧΑΛΑΡΩΣΗΣ/ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ	21
2.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο : ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ.....	23
3.1 ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΟΥ ΠΕΔΙΟΥ (DRS)	23
3.2 Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ DRS.....	25
3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ DRS	28
3.4 ΙΣΟΘΕΡΜΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ ΣΕ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ (Equilibrium water desorption isotherm, EDI).....	31
3.5 Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ EDI.....	31
3.6 ΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑ	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο : ΙΣΤΟΙ	35
4.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ: ΑΠΟ ΤΟ DNA ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΚΑΙ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ	35
4.2 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΩΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	38
4.3 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ	41
4.4 ΤΟ ΝΕΡΟ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ	42
4.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ	42
4.5.1 Παρεγκεφαλίδα αρουραίου.....	42
4.5.2 Δέρμα αρουραίου	43
4.5.3 Πνεύμονες (ανθρώπινοι).....	44
4.5.4 Προστάτης αδένας (ανθρώπινος).....	45
4.6 ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	46
4.7 ΑΚΤΙΒΟΛΙΑ.....	47
4.7.1 ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΒΟΛΙΑ	48
4.7.2 ΜΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΒΟΛΙΑ.....	50
4.8 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΚΩΔΙΚΕΣ ΟΝΟΜΑΣΙΕΣ.....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	57
ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΑΡΤΥΡΑ (CONTROL).....	57
EDI ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ.....	60

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ (RAT CEREBELLUM).....	63
ΓΗΡΑΝΣΗ	69
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ (γ-ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΣΕ RAT SKIN).....	70
ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	71
ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ.....	73
ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ	74
ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ.....	79
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	83
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	87
ABSTRACT	89
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	91

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εισαγωγή της μεθόδου της Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας Εναλλασσομένου Πεδίου (Dielectric Relaxation Spectroscopy - DRS) στη μελέτη της δομής των βιολογικών ιστών και αποτελεί μια πρώτη προσπάθεια καθιέρωσης ενός πρωτοκόλλου για τη μέτρηση ιστών από την ομάδα Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας του ΕΜΠ. Απώτερος στόχος είναι η ενδεχόμενη μελλοντική χρήση της μεθόδου ως εργαλείο διάγνωσης κυτταρικών αλλοιώσεων και δομικών αλλαγών των ιστών, που προκαλούνται από ακτινοβολήση ή ανάπτυξη καρκίνου.

Στην κατεύθυνση αυτή, μελετήθηκαν ιστοί αρουραίων και ανθρώπων, υγιών και καταπονημένων, είτε από το ίδιο ζώο είτε από το αντίστοιχο control (ζώο που εκτρέφεται υπό πανομοιότυπες συνθήκες, χωρίς όμως να υποστεί «καταπόνηση»). Πιο συγκεκριμένα, καταγράφηκε το σήμα με στόχο να ανιχνευθούν τυχόν διαφορές στα φάσματα

- παρεγκεφαλίδας (cerebellum) αρουραίων που έχουν εκτεθεί σε ολόσωμη μη ιοντίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κινητής τηλεφωνίας,
- δέρματος αρουραίων (rat skin) που έχουν εκτεθεί σε ολόσωμη ιοντίζουσα ακτινοβολία (γ-ακτινοβολία)
- πνεύμονα ανθρώπων (human lung) με διαγνωσμένη μορφή καρκίνου διαφορετικών σταδίων και βαθμού διαφοροποίησης
- προστάτη ανθρώπων (human prostate) με διαφορετικούς βαθμούς κακοήθειας.

Για τους ιστούς αρουραίων υπήρχε διαθέσιμος ιστός από άλλο υγιές ζώο που γεννήθηκε και αναπτύχθηκε σε πανομοιότυπες συνθήκες πλην της ακτινοβολήσης, ενώ για τους ανθρώπινους ιστούς λήφθηκαν επιπλέον ιστοτεμάχια από ιστό που είναι απομακρυσμένος από τη βλάβη.

Όσον αφορά τη Βιοηθική προσέγγιση του όλου εγχειρήματος, τα πειραματόζωα θανατώθηκαν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν σε άλλης φύσεως πειράματα άλλων εργαστηρίων και οι ιστοί που παραλήφθηκαν ενδεχομένως να απορρίπτονταν σε άλλη περίπτωση. Τα ιστοτεμάχια ανθρώπινου πνεύμονα προέρχονται από παλαιότερες βιοψίες σε ασθενείς και δεν αποκτήθηκαν εσκεμμένα για τις ανάγκες των πειραμάτων αυτής της εργασίας. Τέλος τα ιστοτεμάχια ανθρώπινου προστάτη, προέρχονται από βιοψίες που έγιναν για ιατρικούς λόγους και μετά από τη σύμφωνη γνώμη ιατρού και ασθενούς. Σε όλες τις περιπτώσεις ακολουθήθηκαν οι κανόνες Βιοηθικής και τα κατάλληλα πρωτόκολλα θανάτωσης ζώων και λήψης ιστών.

Η μελέτη των διηλεκτρικών ιδιοτήτων των βιολογικών ιστών ανήκει τόσο στη βασική, όσο και στην εφαρμοσμένη έρευνα. Οι θεωρητικές πτυχές και τα κύρια συμπεράσματα για το θέμα αυτό έχουν ευρέως επανεξεταστεί [2-7]. Οι Foster και Schwan (1980) προβληματίστηκαν σχετικά με την ιστορική προοπτική που παρέχουν τα πάνω από 100 χρόνια ενδιαφέροντος για τις ηλεκτρικές ιδιότητες των ιστών, και έκαναν μια ανασκόπηση στις βασικές έννοιες των διηλεκτρικών φαινομένων των βιολογικών υλικών και την ερμηνεία τους από την άποψη των αλληλεπιδράσεων σε κυτταρικό επίπεδο [3]. Οι Pethig και Kell (1987) κάλυψαν παρόμοια εδάφη και παρείχαν μια επισκόπηση των θεωριών σχεδιασμένη για να εξηγήσει τις διηλεκτρικές ιδιότητες σύμφωνα με τις υποκείμενες μοριακές διαδικασίες [5]. Κοινό στοιχείο σε όλες τις εργασίες είναι η εκτενής παρουσίαση των διηλεκτρικών ιδιοτήτων των ιστών που επιλέγονται για να την συγκέντρωσή τους σε πίνακες. Πιο εκτενείς βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις γράφηκαν από τους Geddes και Baker (1967) [8], οι οποίοι συνόψισαν τις πρώιμες αναφορές της ειδικής αντίστασης, τους Stuchly και Stuchly (1980) [9], που κατέγραψαν αναλυτικά τις διηλεκτρικές ιδιότητες ιστών σε συχνότητες από 10 kHz ως 10 GHz, και ο Duck (1990), που προσέθεσε πιο πρόσφατα αποτελέσματα [10]. Μεγάλο ερευνητικό έργο έχει επιτελέσει οι C. Gabriel et al (1996), συγκρίνοντας παλιότερα αποτελέσματα με νέα, μελετώντας μεγαλύτερες συχνότητες [7, 11, 12] και τροφοδοτώντας μέχρι πρόσφατα πληροφορίες για τις διηλεκτρικές παραμέτρους [13].

Πολλές μελέτες δημοσιεύθηκαν αναφορικά με τη διαφοροποίηση των διηλεκτρικών ιδιοτήτων των ιστών υπό ορισμένες συνθήκες καταπόνησης: ακτινοβολία, μηχανική καταπόνηση και διάφορα ήδη παθήσεων. Ενδεικτικά, έχει μελετηθεί η διηλεκτρική συμπεριφορά των πνευμόνων κατά τη διάρκεια πνευμονικού οιδήματος [14], ο κερατοειδής χιτώνας του οφθαλμού υπό συνθήκες υποθερμίας [15], η αντίδραση της κερατίνης στη γ-ακτινοβολία [16] και οι ιδιότητες υγιών, κακοηθών και κυρωτικών ιστών ήπατος [17].

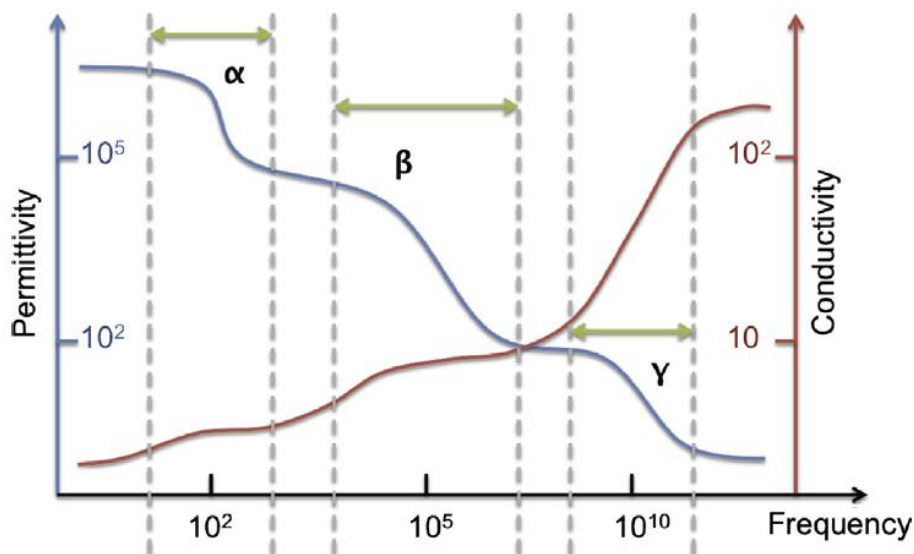
Επιπροσθέτως, έχουν γίνει μεγάλες προσπάθειες προσδιορισμού των διηλεκτρικών ιδιοτήτων διαφόρων ειδών καρκινικού ιστού. Ενδιαφέρουσες μελέτες έχουν παρουσιαστεί σχετικά με τον καρκίνο του μαστού [18-20], αλλά και τον καρκίνο του προστάτη [21-23] από διάφορες ερευνητικές ομάδες ανά τον κόσμο, χωρίς ωστόσο κάποια ομόφωνη απάντηση για το αν ένας όγκος επηρεάζει με συγκεκριμένο τρόπο (αύξηση/ μείωση) τα διηλεκτρικά μεγέθη. Συγκεκριμένα, γίνεται ενδελεχής αναφορά στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού, που είναι το συχνότερα διαγνωσμένο είδος καρκίνου μεταξύ των γυναικών και η δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες (American Cancer Society). Σε αυτήν την περίπτωση φαίνεται ότι το λίπος είναι λιγότερο αγωγίμο από τον κυρίως ιστό και από το ιναδένωμα (fibroadenoma), διαφορά που καταγράφεται ξεκάθαρα από μια διηλεκτρική μέτρηση. Το κατεξοχήν καρκίνωμα παρουσιάζει ακόμη

μεγαλύτερες τιμές διηλεκτρικών μεγεθών, σε αντίθεση με τον φυσιολογικό ιστό, όπου οι τιμές υποδιπλασιάζονται [24].

Σε μελέτες του ήπατος και διαφόρων παθήσεων του με παρόμοιες μεθόδους σε μεγαλύτερες συχνότητες, καταδεικνύεται η αύξηση των διηλεκτρικών μεγεθών με την ύπαρξη κακοήθειας [17]. Αποτελέσματα για τον πνεύμονα δείχνουν πως η αύξηση του αέρα (εισπνοή) προκαλεί πτώση των ϵ' και σ' , ενώ η αύξηση του νερού (οίδημα ή όγκος) αυξάνει το $\tan\delta$, χωρίς να λαμβάνει υπόψη τον αέρα που περιέχεται.

Οι διάφορες αυτές μελέτες προέρχονται από μετρήσεις με διαφορετικές μεθόδους διηλεκτρικής φασματοσκοπίας, σε διαφορετικές συχνότητες και θερμοκρασίες, υπό διαφορετικές συνθήκες (in vivo ή ex vivo) και τεχνικές (σημαντική διαφοροποίηση στα είδη ηλεκτροδίων που χρησιμοποιούνται), πράγμα που δυσκολεύει ιδιαίτερα τη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Από τις πιο αξιόπιστες, κρίνοντας από τη συχνότητα που αναφέρονται, είναι εκείνες της ομάδας C. Gabriel et al, με τις οποίες συγκρίνονται κυρίως τα όσα προέκυψαν στην παρούσα εργασία.

Αυτό που σίγουρα ισχύει, διότι επιβεβαιώνεται από όλους, είναι η ποιοτική εικόνα του φάσματος κυττάρων και ιστών, ανεξάρτητα της προέλευσής τους (εικόνα 1). Η σύνθετη διηλεκτρική επιδεκτικότητα των βιολογικών κυττάρων εμφανίζει διακριτές περιοχές (dispersions) με αντίστοιχες διακυμάνσεις συχνότητας, διηλεκτρικής επιδεκτικότητας και αγωγιμότητας [25, 26]. Οι περιοχές αυτές εντοπίζονται σε πολλές μελέτες και είναι οι ακόλουθες:



Εικόνα 1. Το φάσμα του πραγματικού μέρους της διηλεκτρικής συνάρτησης (permittivity, αριστερός άξονας), ϵ' , και της αγωγιμότητας (conductivity, δεξιός άξονας), σ , συναρτήσεως της συχνότητας του παρεχομένου ηλεκτρικού πεδίου βιολογικών κυττάρων [26]. Στο διάγραμμα εντοπίζονται ποιοτικά οι περιοχές συχνοτήτων καταγραφής των α -, β - και γ - dispersions.

- α- dispersions: σχετίζονται με τη διάχυση ιόντων, επομένως συνδέονται με το δυναμικό των κυτταρικών μεμβρανών [27], το ενδοπλασματικό δίκτυο [28], τους χασμοσυνδέσμους (υδρόφιλοι δίαυλοι που γεφυρώνουν το διακυτταρικό χώρο μεταξύ των γειτονικών κυττάρων) [29], και τη μετακίνηση ανταγωνιστικών ιόντων στον περιβάλλοντα χώρο των φορτισμένων μεμβρανών [30] .
- β- dispersions: οφείλονται στην πόλωση διεπιφανειών κατά μήκος των πλασματικών μεμβρανών των κυττάρων και τις αλληλεπιδράσεις τους με ηλεκτρολύτες που βρίσκονται στο εσωτερικό και το εξωτερικό των κυττάρων [26].
- δ- dispersions: πρωτο-χαρακτηρίστηκαν από τον Pethig το 1984 [4]. Είναι σχεδόν ανεπαίσθητοι υπο-μηχανισμοί μεταξύ των β και γ dispersions και αποδίδονται στις διπολικές ροπές μεγάλων βιομορίων, όπως οι πρωτεΐνες. Για το λόγο αυτό σχετίζονται με βιοπολυμερή [30], πρωτεΐνες [29], νερό δέσμιο στις πρωτεΐνες [29] και κυτταρικά οργανίδια [30]. Πρόκειται για τον κατεξοχήν μηχανισμό διαφοροποίησης των βιολογικών υλικών από όλες τις υπόλοιπες κατηγορίες υλικών και αποτελεί χαρακτηριστικό τους.
- γ- dispersions: πρωτο-χαρακτηρίστηκαν από τους Foster and Schwan, 1989 [29], και οφείλονται στο νερό των βιολογικών ειδών και στην παρουσία μικρών μορίων.

Η ύπαρξη των παραπάνω dispersions επιβεβαιώνεται και επιβεβαιώνει την καταλληλότητα της μεθόδου για τη διερεύνηση της μοριακής δυναμικής του συστήματος κυττάρων-νερού. Ο λόγος της επιμονής στην αλληλεπίδραση αυτή, είναι η τάση να ενισχύεται η περιεκτικότητα νερού σε ορισμένου τύπου ιστούς, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Ωστόσο, η βιβλιογραφία βρίθεται από δημοσιεύσεις σε μεγάλα τμήματα του φάσματος συχνοτήτων (κυρίως >GHz), όμως στερείται θερμοκρασιακών μελετών, σαν την παρούσα.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ-ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ

Οι διηλεκτρικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών και κυττάρων έχουν προκαλέσει το επιστημονικό ενδιαφέρον εδώ και πάνω από έναν αιώνα για διάφορους λόγους. Καθορίζουν τις οδούς της ροής του ρεύματος μέσω του σώματος και, ως εκ τούτου, είναι πολύ σημαντικές για την ανάλυση ενός ευρέος φάσματος βιοϊατρικών εφαρμογών, όπως η λειτουργική ηλεκτρική διέγερση και η διάγνωση και θεραπεία διαφόρων φυσιολογικών καταστάσεων με ασθενή ηλεκτρικά ρεύματα, υπερθερμία ραδιοσυχνότητας, ηλεκτροκαρδιογράφημα, και τη σύνθεση του σώματος.

Σε ένα πιο θεμελιώδες επίπεδο, η γνώση αυτών των ιδιοτήτων μπορεί να οδηγήσει σε μια βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων βασικών βιολογικών διεργασιών. Πράγματι, μελέτες της βιολογικής εμπέδησης (κεφάλαιο 3) έχουν δώσει σημαντικές πληροφορίες για την ηλεκτροφυσιολογία και τη βιοφυσική. Περίτρανο παράδειγμα είναι η επιβεβαίωση της ύπαρξης της κυτταρικής μεμβράνης που βασίστηκε στη διηλεκτρική μελέτη εναιωρημάτων κυττάρων.

Για να αναλυθεί η απόκριση ενός ιστού σε ηλεκτρική διέγερση, χρειαζόμαστε στοιχεία σχετικά με τις ειδική αγωγιμότητα και η σχετική διηλεκτρική επιδεκτικότητα των ιστών ή οργάνων. Μια μικροσκοπική περιγραφή της απόκρισης περιπλέκεται από την ποικιλία των σχημάτων των κυττάρων και την κατανομή τους μέσα στον ιστό, καθώς και τις διαφορετικές ιδιότητες του εξωκυτταρικού μέσου. Ως εκ τούτου, μια μακροσκοπική προσέγγιση χρησιμοποιείται πιο συχνά για να χαρακτηριστούν κατανομές πεδίου σε βιολογικά συστήματα. Επιπλέον, ακόμη και σε μακροσκοπικό επίπεδο, οι διηλεκτρικές ιδιότητες είναι περίπλοκες. Μπορούν να εξαρτώνται από τον προσανατολισμό του ιστού ως προς το εφαρμοζόμενο πεδίο (κατευθυντική ανισοτροπία), τη συχνότητα του εφαρμοζόμενου πεδίου (ο ιστός δεν είναι ούτε τέλειο διηλεκτρικό ούτε τέλειος αγωγός), ή μπορούν να είναι χρονο- και χώρο-εξαρτώμενα (π.χ. αλλαγές στην αγωγιμότητα του ιστού κατά τη διάρκεια της ηλεκτροδιαβατότητας (electroporation)).

Η διηλεκτρική φασματοσκοπία ενδέχεται να είναι ένα σπουδαίο διαγνωστικό εργαλείο, καθώς θα μπορούσε να παρέχει πληροφορίες για τη σχέση λειτουργίας-δομής κατά την ανάπτυξη νεοπλασμάτων [31]. Εφόσον μπορεί να διαχωρίσει νεοπλασματικούς ιστούς και υγιείς, θα μπορούσε να χρησιμοποιείται ως ένα *in vivo* test για το αν είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί ένας ιστός κατά το χειρουργείο [18]. Ήδη είναι μια μέθοδος που έχει αποδείξει την αξία της στη βιομηχανία συντήρησης τροφίμων, καθώς η ανίχνευση α -dispersion αποτελεί δείκτη ποιότητας και ασφάλειας για την αποθήκευση και επεξεργασία τροφίμων.

Όσο αφορά τη βασική έρευνα, η διηλεκτρική φασματοσκοπία μπορεί να λειτουργεί σαν συμπληρωματική μέθοδος για την παρακολούθηση της αγωγιμότητας κατά τη διαδικασία της

ηλεκτροδιαβατότητας, όπως προαναφέρθηκε (η μεμβράνη γίνεται ηλεκτρο-διαπερατή για τον εγκλωβισμό φαρμάκου). Επίσης έχει δυνατότητες παρακολούθησης των αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών και νερού και παροχής πληροφοριών για την οργάνωση του νερού μέσα στις ίνες πρωτεϊνών, στην επιφάνειά τους και μεταξύ των ινών [32].

Οι διηλεκτρικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών και κυττάρων έχουν ενδιαφέρον και για την ανάπτυξη θεραπευτικών ιατρικών εφαρμογών, ειδικά όταν συμπεριλαμβάνουν την έκθεσή τους σε ηλεκτρικά πεδία, όπως στην περίπτωση της ηλεκτροδιάτρησης (electroporation). Στην τεχνική αυτή βραχείς παλμοί υψηλής έντασης εφαρμόζονται στους ιστούς για την ενίσχυση της πρόσληψης μορίων, που υπό φυσιολογικές συνθήκες δε μπορούν να διαπεράσουν τις μεμβράνες, όπως υδρόφιλα φάρμακα χημειοθεραπείας [20]. Μια ακόμη θεραπευτική ιατρική εφαρμογή είναι η πρόκληση υπερθερμίας σε καρκινικούς ιστούς με διέγερση υποκινούμενη από ραδιοσυχνότητες.

Δύναται επίσης να παρέχει in vivo παρακολούθηση ιστών κατά τη διάρκεια επεμβάσεων κρυσταλλοχειρουργικής. Η έκταση της περιοχής ψύξης παρακολουθείται με τεχνικές απεικόνισης. Ωστόσο, η έκταση της ψύξης δεν ταυτίζεται αναγκαστικά με την έκταση καταστροφής του ιστού, επομένως μπορεί να αξιολογεί την αποτελεσματικότητα της κρυσταλλοχειρουργικής.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι πληροφορίες που παίρνονται από τη διηλεκτρική φασματοσκοπία για τις δυναμικές διεργασίες στο αίμα [33]. Πέραν του διαχωρισμού κυττάρων σε καρκινικά και μη [34], δύναται να γίνει προσδιορισμός της απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από το σώμα (κεφ 4.7, υπολογισμός SAR) ,καθώς και γρήγορος και ανέξοδος έλεγχος της πηκτικότητας [35] ή της αλλοίωσης του αίματος που αποθηκεύεται [36].

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι τεχνικές που μετράνε τα διηλεκτρικά μεγέθη χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην καθημερινότητα, όπως για παράδειγμα οι συσκευές ανάλυσης δείκτη μάζας που βασίζονται στην ανάλυση της βιο-εμπέδησης.

Τα τεχνικά πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η απλότητα του «ανιχνευτή», που είναι δύο μεταλλικά ηλεκτρόδια. Αυτή η απλότητα καθιστά την εφαρμογή πιο εύκολη στην πράξη, καθώς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν ηλεκτρόδια δυο μεταλλικές επιφάνειες που είναι ήδη τμήμα του εξοπλισμού (ενός χειρουργείου για παράδειγμα). Φυσικά, τα αποτελέσματα μιας μέτρησης είναι άμεσα ορατά και δεν πρόκειται για χρονοβόρα διαδικασία (αν δε χρειάζεται θερμοκρασιακός έλεγχος).

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της μεθόδου όμως, είναι ο εν δυνάμει μη-καταστροφικός και μη-παρεμβατικός χαρακτήρας της. Στην παρούσα εργασία, που έχει πρώιμο χαρακτήρα, μελετώνται τμήματα ιστών εκτός του οργανισμού. Αν προσαρμόσει κανείς στη διάταξη κατάλληλα ηλεκτρόδια,

μπορεί να παίρνει εύκολα μετρήσεις σε θερμοκρασία δωματίου από ιστούς εντός οργανισμού, που θα είναι και το πλέον χρήσιμο για διαγνώσεις.

Ωστόσο, μια μέτρηση των διηλεκτρικών ιδιοτήτων βιολογικού ιστού μπορεί να είναι πολύπλοκη εξαιτίας πολλών παραγόντων, όπως η ανομοιογένεια, η ανισοτροπία, η φυσιολογία των ιστών, η υψηλή περιεκτικότητά τους σε νερό και η πόλωση των ηλεκτροδίων. Για το λόγο αυτό χρειάζεται προσεκτικός σχεδιασμός της διαδικασίας μέτρησης.

Η ανομοιογένεια των ιστών αφορά στο γεγονός ότι αποτελούνται από κύτταρα διαφορετικών μεγεθών και λειτουργιών, διαρρέονται από αίμα και συνδέονται με το κεντρικό νευρικό σύστημα με νευρώνες. Επομένως είναι δύσκολο να ανάγει κανείς τα αποτελέσματα για τα μεμονωμένα κύτταρα στο επίπεδο ιστού. Σε πολλές περιπτώσεις υπάρχει απόκλιση στα βιβλιογραφικά δεδομένα των ηλεκτρικών ιδιοτήτων βιολογικών υλικών. Αυτό αποδίδεται στα εξής:

- Τα δείγματα πολλές φορές τεμαχίζονται, με αποτέλεσμα να έχουν διάφορες και διαφορετικές ποσότητες αγωγίμων υγρών.
- Έλλειψη τυποποίησης των τεχνικών μέτρησης διευρύνει το πεδίο τιμών των διηλεκτρικών μεγεθών.
- Η φυσιολογική λειτουργία των βιολογικών υλικών επηρεάζεται από αλλαγές εποχής, ηλικίας, προερχόμενες από κάποια νόσο, αλλά και από την ίδια τη φυσιολογική λειτουργία (πχ ο πνεύμονας περιέχει αέρα) [37].

Η ανισοτροπία έχει να κάνει με την αλλαγή των διηλεκτρικών μεγεθών σύμφωνα με την κατεύθυνση στην οποία μετράμε (πχ εγκάρσια, διαμήκη ή συνδυαστικά), όπως συμβαίνει για παράδειγμα στα οστά. Ως εκ τούτου, θα πρέπει κανείς να ελέγξει τον προσανατολισμό του εξοπλισμού του για να εξασφαλίσει σωστή σύγκριση. Η ηλεκτρική ανισοτροπία συχνά σχετίζεται με τις φυσιολογικές απαιτήσεις από τον ιστό. Τα μεγάλα οστά και τους μυς των άκρων έχουν σχεδιαστεί για να παράγουν και να υποστηρίξουν σημαντικές διαμήκεις δυνάμεις. Για παράδειγμα, οι μύες που αποτελείται από ίνες που είναι πολύ μεγάλα μεμονωμένα κύτταρα και είναι ευθυγραμμισμένες προς την κατεύθυνση της μυϊκής σύσπασης. Ηλεκτρική αγωγιμότητα κατά μήκος της ίνας είναι επομένως σημαντικά ευκολότερη από ό, τι η αγωγιμότητα μεταξύ των ινών στην εξωκυτταρική μήτρα, επειδή η εξωκυτταρική μήτρα είναι λιγότερο αγωγίμη από το κύτταρο. Ως εκ τούτου, στο μυϊκό ιστό εκδηλώνεται τυπική ανισοτροπία ηλεκτρικών ιδιοτήτων.

Επιπλέον η ανισοτροπία των ιστών εξαρτάται από τη συχνότητα. Δηλαδή, εάν η συχνότητα του ρεύματος είναι αρκετά υψηλή, οι ιδιότητες ανισοτροπίας εξαφανίζονται (ειδικά για μυϊκό ιστό). Στις υψηλότερες συχνότητες, η μετακίνηση φορτίου λαμβάνει χώρα σε μικρότερες αποστάσεις,

έτσι δομές μεγάλης κλίμακας καθίστανται λιγότερο σημαντικές και χωρητική σύζευξη μέσω των μεμβρανών γίνεται όλο και πιο σημαντική.

Οι οποιεσδήποτε αλλαγές στη φυσιολογία των ιστών θα πρέπει να εμφανίζονται αλλαγές στις ηλεκτρικές ιδιότητες του ιστού. Αυτή η αρχή έχει χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό ή την παρακολούθηση της παρουσίας διαφόρων ασθενειών ή καταστάσεων, όπως τη μετατόπιση υγρών του σώματος, τη ροή του αίματος, την καρδιακή παροχή, και τη μυϊκή δυστροφία με διάφορες διαγνωστικές τεχνικές αντίστασης, όπως αντίσταση πληθυσμογραφίας (impedance plethysmography) και καρδιογράφημα θωρακικής αντίστασης.

Οι όγκοι γενικώς έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε νερό από τα φυσιολογικά κύτταρα, λόγω της κυτταρικής νέκρωσης, αλλά και ακανόνιστη αγγείωση. Επιπλέον, μπορεί να υπάρχουν διαφορές στη δομή της μεμβράνης. Παρά το γεγονός ότι μία αυξημένη αγωγιμότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προσδιορίσει την παρουσία όγκων, οι παράμετροι που σχετίζονται με την τοποθέτηση του συνολικού διηλεκτρικού φάσματος σε ένα μοντέλο κυκλώματος μπορεί να είναι πιο αξιόπιστο [38]. Στην κλινική πρακτική, η παρουσία του δέρματος μπορεί να περιπλέξει την ερμηνεία των αλλαγών της αντίστασης στον ιστό, όπως ο μαστός [39].

Το λίπος είναι κακός αγωγός του ηλεκτρισμού σε σχέση με το νερό. Η αλλαγή στα ποσοστά νερού/λίπους έχουν αντίκτυπο στα διηλεκτρικά μεγέθη του ιστού. Αυτό το γεγονός εκμεταλλεύεται η Ανάλυση Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (Bioelectric Impedance Analysis-BIA) και το εφαρμόζει στις σύγχρονες ζυγαριές-αναλυτές μάζας που χρησιμοποιούνται στη διατροφολογία.

Σε μια πιο ακραία περίπτωση, μπορεί κανείς να υποθέσει πως ο θάνατος τους ιστού και η εκτομή του μπορεί να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στις διηλεκτρικές ιδιότητες. Ο μεταβολισμός του ιστού μειώνεται μετά την εκτομή και συνήθως πέφτει η θερμοκρασία. Αν υπάρχει συντήρηση της θερμοκρασίας και της αιμάτωσης, ο ιστός μπορεί να σταθεροποιηθεί για ένα περιορισμένο χρονικό διάστημα σε ζωντανή κατάσταση. Σε αντίθετη περίπτωση, αν σταματήσει η ροή αίματος, ο μεταβολισμός συνεχίζει να λειτουργεί με αναερόβιο τρόπο. Η όσμωση θα προκαλέσει διαστολή των κυττάρων και καταστροφή των ιστών. Κατά συνέπεια, το εξωκυτταρικό μονοπάτι μειώνεται, το οποίο τυπικά οδηγεί σε αύξηση στην εμπέδηση στις χαμηλές συχνότητες (10 kHz). Ο χρόνος εμφάνισης της αυτών των φαινομένων είναι διαφορετικός για διάφορους ιστούς. Η μειωμένη ροή του αίματος προκαλεί επίσης μεταβολές στην αντίσταση των ιστών, επειδή το αίμα είναι καλός αγωγός του ηλεκτρισμού.

Στην παρούσα εργασία, έγινε μεγάλη προσπάθεια αφενός να περιοριστούν οι τομές ιστών για την αποφυγή απώλειας υγρών, αφετέρου να γίνεται η καλύτερη εφικτή συντήρηση των ιστών μετά

την εκτομή τους. Αυτό συμπεριλαμβάνει και την άμεση μεταφορά των ιστών στο εργαστήριο με ιδιαίτερη προσοχή στη διασφάλιση της θερμοκρασίας τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο: ΘΕΩΡΙΑ ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ

Διηλεκτρικό ή μονωτής είναι ένα υλικό που αφήνει το ηλεκτρικό πεδίο να περάσει από μέσα του, αλλά δεν επιτρέπει τη διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος εντός του. Αυτό συμβαίνει γιατί οι φορείς φορτίου (ηλεκτρόνια) είναι δεσμευμένα στα άτομα, αντίθετα με τους αγωγούς, όπου είναι διαθέσιμη μια «θάλασσα» ελεύθερων ηλεκτρονίων, έτοιμων να δημιουργήσουν ηλεκτρικό ρεύμα με την κίνηση τους.

Από τη στιγμή που εφαρμόζεται ένα ηλεκτρικό πεδίο στην ύλη, ξεκινά η αλληλεπίδρασή του με τους φορείς ηλεκτρικού φορτίου του υλικού. Τα φορτία μπορεί να είναι ελεύθερα, οπότε το ηλεκτρικό πεδίο μπορεί να τα μετατοπίσει σημαντικά σε ολόκληρο τον όγκο του υλικού δημιουργώντας ροή ηλεκτρικού ρεύματος αγωγιμότητας. Εναλλακτικά, τα φορτία μπορεί να είναι δέσμια, επιτρέποντας μόνο μικρές σχετικές μεταξύ τους κινήσεις, με αποτέλεσμα την ανομοιομορφία της πυκνότητας φορτίου και τη δημιουργία πόλωσης.

Ένας τρόπος να εφαρμόσει κανείς ένα ελεγχόμενο ηλεκτρικό πεδίο σε ένα υλικό είναι να το τοποθετήσει ανάμεσα στους οπλισμούς ενός πυκνωτή. Τότε η χωρητικότητα του πυκνωτή αυξάνει κατά συντελεστή ϵ_s , που καλείται σχετική διηλεκτρική σταθερά, ενώ ως διηλεκτρική συνάρτηση ορίζεται η ποσότητα

$$\epsilon = \epsilon_s * \epsilon_o, \quad (2.1)$$

όπου ϵ_o η διηλεκτρική σταθερά του κενού ίση με $8.85*10^{-12}$ C/Nm. Αν ο κενός πυκνωτής είχε χωρητικότητα C_o , η χωρητικότητα του πυκνωτή με το διηλεκτρικό να παρεμβάλλεται των οπλισμών του είναι

$$C = \epsilon_s * C_o \quad (2.2)$$

και η σχετική διηλεκτρική σταθερά μπορεί να οριστεί ως

$$\epsilon_s = \frac{C}{C_o} \quad (2.3)$$

Ο πιο απλός και χρήσιμος πυκνωτής είναι αυτός των παράλληλων πλακών, που όταν γίνει πλήρωση του με διηλεκτρικό έχει χωρητικότητα

$$C = \epsilon_s \epsilon_o \frac{A}{d} \quad (2.4)$$

με A το εμβαδό επιφάνειας των οπλισμών και d την μεταξύ τους απόσταση. Τοποθετώντας ένα υλικό μεταξύ των οπλισμών και εφαρμόζοντας εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο, τα θετικά φορτία

ωθούνται προς την κατεύθυνση του πεδίου, ενώ τα αρνητικά προς την αντίθετη, αναπτύσσοντας πόλωση.

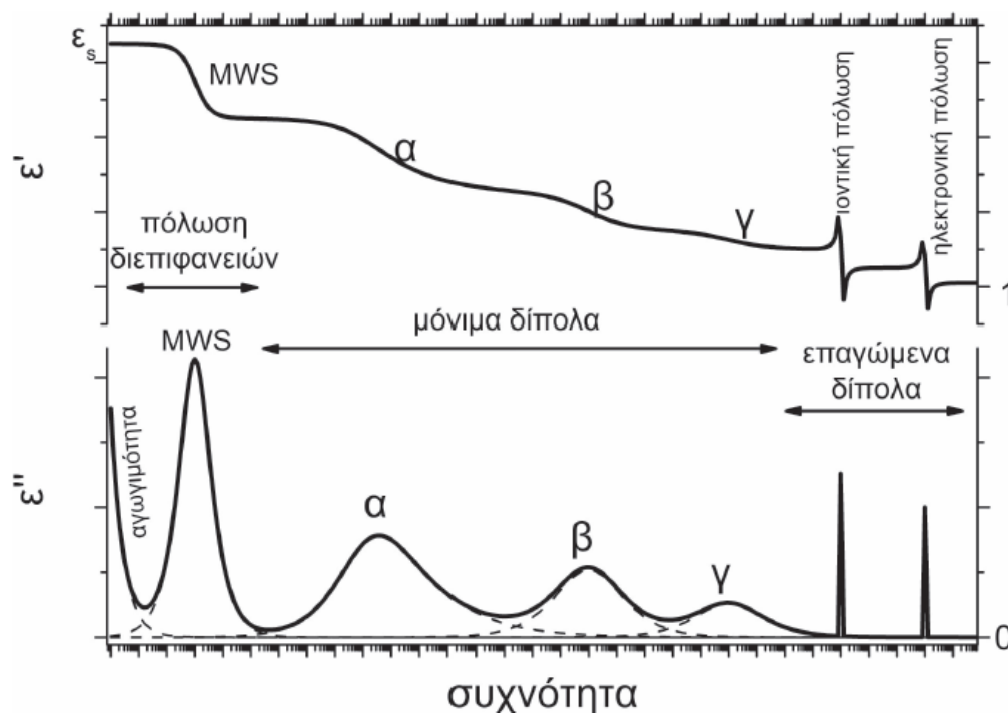
Υπάρχουν διαφορετικοί μηχανισμοί, είτε χαλάρωσης είτε συντονισμού, που συμβάλλουν στην πόλωση του υλικού, καθένas από τους οποίους εντοπίζεται γύρω από μια χαρακτηριστική συχνότητα, αντιστρόφως ανάλογη του χαρακτηριστικού χρόνου χαλάρωσης. Οι πιο συνηθισμένοι μηχανισμοί είναι:

- **Μόνιμα δίπολα**: Λόγω ανισοκατανομής φορτίου στο μόριο υπάρχουν μόνιμα δίπολα κατανεμημένα στατιστικά στο χώρο, με άθροισμα μονίμων διπολικών ροπών μηδέν σε «ηρεμία». Με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου, η κατάσταση αυτή διαταράσσεται και τα μόνιμα δίπολα προσανατολίζονται μερικώς. Ο προσανατολισμός τους περιορίζεται από τον θερμικό θόρυβο και η ευθυγράμμισή τους με το πεδίο αυξάνει με την αύξηση της έντασης του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου και όσο μειώνεται η θερμοκρασία. Ο χρόνος χαλάρωσής τους καθορίζεται από το ιξώδες.
- **Επαγόμενα δίπολα**: Δημιουργούνται από το ηλεκτρικό πεδίο και υπάρχουν όσο εφαρμόζεται. Τα επαγόμενα δίπολα δίνουν δύο είδη πόλωσης:
 - **Ηλεκτρονική πόλωση**: Το πεδίο παραμορφώνει το άτομο σπάζοντας τη σφαιρική συμμετρία του και το κέντρο του ηλεκτρονιακού νέφους μετατοπίζεται ως προς τον πυρήνα των ατόμων σχηματίζοντας δίπολα.
 - **Ιοντική πόλωση**: Σε υλικά που έχουν ιοντικούς δεσμούς, η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου μετατοπίζει το κατιονικό υποπλέγμα ως προς το ανιονικό και το μήκος των δεσμών αλλάζει. Η ιοντική χαλάρωση κυριαρχεί σε χαμηλές συχνότητες και εισάγει μόνο απώλειες στο σύστημα.
- **Φορτία χώρου-διεπιφανειών** : Πρόκειται για τους ελεύθερους φορείς φορτίου που αφήνονται να κινηθούν ελεύθερα στο υλικό υπό την επίδραση πεδίου, αλλά η πορεία τους ανακόπτεται από διάφορες διεπιφάνειες διαφορετικής αγωγιμότητας. Η παγίδευσή τους εκεί δημιουργεί κατανομές φορτίου γύρω από αυτές τις περιοχές και σχηματίζονται μεγάλα και ισχυρά δίπολα. Ανάλογα με το είδος του εμποδίου που συναντάται έχουμε:
 - **Πόλωση ηλεκτροδίων**, όπου οι φορείς παγιδεύονται στα μεταλλικά ηλεκτρόδια (δηλαδή στους οπλισμούς του πυκνωτή) και είναι πηγή προβλημάτων. Φαίνεται να υπάρχει μια πολύπλοκη εξάρτηση από τη συχνότητα, τη θερμοκρασία, το υλικό των ηλεκτροδίων και την απόστασή τους (απόσταση παράλληλων ολισμών, d , του πυκνωτή).
 - **Μηχανισμός Maxwell-Wagner-Sillars**. Στην περίπτωση αυτή τα ηλεκτρόνια προσκρούουν και παγιδεύονται σε διεπιφάνειες εντός του υλικού, που δημιουργούνται από την ανομοιογένεια του ίδιου του υλικού. Η παρατήρηση του μηχανισμού αυτού

στην καμπύλη ηλεκτρικής αγωγιμότητας δίνει πληροφορίες για τη μορφολογία του υλικού.

Το πρόβλημα είναι ότι αυτά τα δύο είδη πόλωσης εμφανίζονται ανταγωνιστικά σε γειτονικές περιοχές συχνοτήτων, με αποτέλεσμα να αλληλοεπικαλύπτονται, δυσκολεύοντας την παρατήρησή τους.

Στην εικόνα 2 φαίνονται το πραγματικό και το φανταστικό μέρος της διηλεκτρικής συνάρτησης και τοποθετούνται στο φάσμα ποιοτικά οι μηχανισμοί χαλάρωσης και συντονισμού με τη σειρά που παρατηρούνται.



Εικόνα 2. Ποιοτική αναπαράσταση της συνολικής διηλεκτρικής απόκρισης στο πεδίο συχνότητας.[40]

Η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου στην ύλη, πέραν από διάφορους τύπους πόλωσης, προκαλεί και μετατόπιση ηλεκτρικού φορτίου. Με αυτόν τον τρόπο κάνουν την εμφάνισή τους μηχανισμοί **ηλεκτρικής αγωγιμότητας** που συνεισφέρουν και αυτοί στη διηλεκτρική συνάρτηση. Συγκεκριμένα, η μακροσκοπική κίνηση των ελεύθερων φορτίων κατά μήκος ενός υλικού συνεισφέρει στην αγωγιμότητα συνεχούς, σ_{DC} . Μικρή συνεισφορά στην αγωγιμότητα δίνουν και τα ημιελεύθερα φορτία σε στατικές ή ημιστατικές συνθήκες. Οι δέσμιοι φορείς, λόγω του προσανατολισμού τους με το πεδίο, δημιουργούν την αγωγιμότητα εναλλασσόμενου, $\sigma(\omega)$, που

αντιστοιχεί στην πυκνότητα ρεύματος λόγω της κίνησης προσανατολισμού των δέσμιων φορτίων [41].

2.1 ΣΤΑΤΙΚΟ ΠΕΔΙΟ ΣΤΗΝ ΥΛΗ

Η διπολική ροπή ενός ζεύγους αντίθετων φορτίων, q , που απέχουν απόσταση d , ορίζεται ως το διάνυσμα με αρχή το κέντρο του αρνητικού φορτίου και πέρας αυτό του θετικού

$$\vec{P} = q * \vec{d} \quad (2.5)$$

Η ολική διπολική ροπή σε ένα υλικό ορίζεται ως το άθροισμα των διπολικών ροπών των μορίων του

$$\vec{P} = \sum_i \vec{p}_i \quad (2.6)$$

Εν γένει η πόλωση ενός διηλεκτρικού παρουσιάζει εξάρτηση από τη διεύθυνση μέσα στο υλικό. Υπάρχει όμως μια κατηγορία διηλεκτρικών υλικών στα οποία η πόλωση είναι ανάλογη του συνολικού εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου, \vec{E} , και δίνεται από τη γενική έκφραση

$\vec{E} = \epsilon_0 \chi_s \vec{E} = \epsilon_0 (\epsilon_s - 1) \vec{E}$, όπου χ_s η ηλεκτρική επιδεκτικότητα, ϵ_s η σχετική διηλεκτρική σταθερά του υλικού (καθαρός αριθμός για ισότροπα υλικά, τανιστής για ανισότροπα) και \vec{E} το πεδίο εντός του υλικού που ισούται με

$$\vec{E} = \vec{E}_o + \vec{E}' \quad (2.7)$$

δηλαδή με το άθροισμα του εφαρμοζόμενου εξωτερικού πεδίου E_o και του οφειλούμενου στην πόλωση του υλικού E' .

Για τη διηλεκτρική μετατόπιση D , ισχύουν

$$\vec{D} = \epsilon_0 \vec{E} + \vec{P} \quad (2.8)$$

$$\begin{aligned} &= \epsilon_0 \vec{E} + \epsilon_0 \chi_s \vec{E} = \epsilon_0 (1 + \chi_s) \vec{E} \\ &= \epsilon_0 \epsilon_s \vec{E} \end{aligned} \quad (2.9)$$

$$= \epsilon \vec{E} \quad (2.10)$$

όπου $\epsilon = \epsilon_0 (1 + \chi_s)$ η ηλεκτρική διαπερατότητα του υλικού.

2.2 ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΟ ΠΕΔΙΟ ΣΤΗΝ ΥΛΗ

Το στατικό πεδίο προκαλεί μόνιμη πόλωση στο υλικό, ενώ το εναλλασσόμενο, καθώς μεταβάλλεται με το χρόνο, αναγκάζει την πόλωση να το ακολουθεί, όχι όμως ακαριαία. Στην περίπτωση αυτή το πεδίο έχει μορφή

$$E^*(t) = E_0 e^{i\omega t} \quad (2.11)$$

και περνάμε πλέον στην ενεργό ή μιγαδική τιμή του κάθε μεγέθους, που συμβολίζεται με έναν αστερίσκο και υποδηλώνει τον δυναμικό τους χαρακτήρα στις αλλαγές συχνότητας/χρόνου. Η πόλωση παύει να έχει την ίδια διεύθυνση με το πεδίο, το ακολουθεί με καθυστέρηση, πράγμα που ομολογεί απώλεια ενέργειας. Αντίστοιχα με τις εξισώσεις στατικού πεδίου, γράφουμε

$$D^*(t) = \varepsilon_0 \varepsilon^*(\omega) E^*(t) = D_0 e^{i\omega t - \delta} \quad (2.12)$$

$$\begin{aligned} \Rightarrow \varepsilon^*(\omega) &= \frac{D_0 e^{i\omega t - \delta}}{\varepsilon_0 E^*(t)} \\ &= \frac{D_0 e^{i\omega t} e^{-\delta}}{\varepsilon_0 E_0 e^{i\omega t}} \\ &= \frac{D_0}{\varepsilon_0 E_0} e^{i\delta} \end{aligned} \quad (2.13)$$

Το $\varepsilon^*(\omega)$ είναι η ενεργός τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς και ισούται με το μιγαδικό άθροισμα

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon'(\omega) + i\varepsilon''(\omega) \quad (2.14)$$

όπου το $\varepsilon'(\omega)$ σχετίζεται με την ενέργεια που αποθηκεύεται στο υλικό και αυξάνει με την ποσότητα των προσανατολισμένων ιόντων και το $\varepsilon''(\omega)$ αναφέρεται στις ενεργειακές απώλειες και μεγιστοποιείται σε περιοχές όπου η συχνότητα του πεδίου είναι συγκρίσιμη με τις χαρακτηριστικές συχνότητες των διαφόρων μηχανισμών πόλωσης που προαναφέρθηκαν. Το δ ορίζεται μέσω της εφαπτομένης των απωλειών

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''(\omega)}{\varepsilon'(\omega)} \quad (2.15)$$

Για την αγωγιμότητα, σε αντιστοιχία με τη διηλεκτρική συνάρτηση, γράφεται το μιγαδικό άθροισμα

$$\sigma^*(\omega) = \sigma'(\omega) + i\sigma''(\omega). \quad (2.16)$$

Ισχύει επίσης

$$\sigma^*(\omega) = i\omega\varepsilon_0\varepsilon^* \quad (2.17)$$

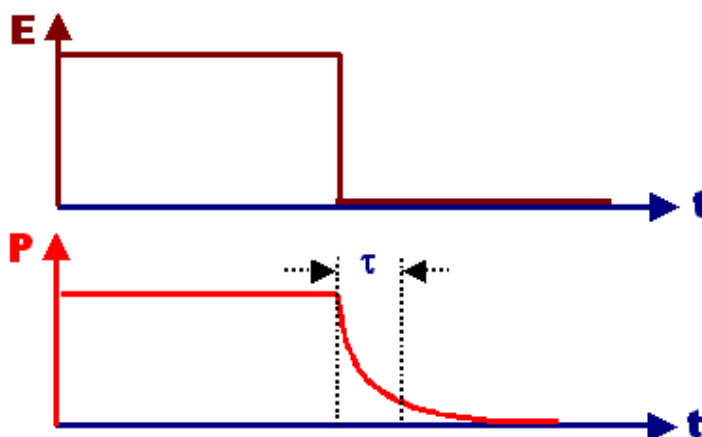
και εξισώνοντας προκύπτουν οι σχέσεις

$$\sigma'(\omega) = \omega\varepsilon_0\varepsilon''(\omega) = (2\pi f)\varepsilon_0\varepsilon''(\omega) \quad (2.18)$$

$$\sigma''(\omega) = \omega\varepsilon_0\varepsilon'(\omega) = (2\pi f)\varepsilon_0\varepsilon'(\omega) \quad (2.19)$$

2.3 ΧΡΟΝΟΣ ΧΑΛΑΡΩΣΗΣ/ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ

Με την απομάκρυνση του ηλεκτρικού πεδίου, τα δίπολα (μόνιμα και επαγόμενα) τείνουν να επιστρέψουν στην αρχική τους κατάσταση (αρχή διατήρησης ελάχιστης ενέργειας). Ο χρόνος που απαιτεί αυτή η διαδικασία καλείται χρόνος αποκατάστασης (τ) και είναι διαφορετικός για κάθε είδος διπόλου. Πρόκειται για μια εκθετική πτώση στην πόλωση του υλικού που ακολουθεί την απομάκρυνση του πεδίου, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (εικόνα 3). Εναλλακτικά συναντάται με την ονομασία «χρόνος αποκατάστασης».



Εικόνα 3. Χρόνος αποκατάστασης

Για την εύρεση της διηλεκτρικής συνάρτησης μελετάται ο τρόπος με τον οποίο το σύστημα αντιδρά στην εφαρμογή του ηλεκτρικού πεδίου. Για μικρά εφαρμοζόμενα πεδία η μεταβολή του συστήματος, από την κατάσταση ισορροπίας σε μια άλλη, είναι γραμμική. Η διαδικασία της διηλεκτρικής αποκατάστασης περιγράφεται από τις εξής συναρτήσεις:

- Τη συνάρτηση απόκρισης, $f(t)$, η οποία περιγράφει την εξέλιξη του συστήματος μετά την απότομη εφαρμογή του ηλεκτρικού παλμού απειροστής διάρκειας.

- Τη συνάρτηση αποκατάστασης, $\Phi(t)$, η οποία περιγράφει την εξέλιξη του συστήματος μετά την απότομη απομάκρυνση του χρονοανεξάρτητου ηλεκτρικού πεδίου.
- Τη διηλεκτρική επιδεκτικότητα, $\chi^*(\omega)$, που σχετίζεται με την πόλωση που εμφανίζεται στο υλικό με την εφαρμογή αρμονικά μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου:

$$\vec{P}(\omega) = \epsilon_0 \cdot \chi^*(\omega) \cdot \vec{E}(\omega)$$

Επίσης ισχύουν:

$$\frac{df}{dt} = -\frac{d\Phi}{dt} \quad \chi^*(\omega) = \int_0^\infty e^{-i\omega t} f(t) dt \quad (2.20)$$

Οι συναρτήσεις απόκρισης και αποκατάστασης περιγράφονται από πειράματα διηλεκτρικής φασματοσκοπίας στην κλίμακα του χρόνου, ενώ η διηλεκτρική επιδεκτικότητα από πειράματα δυναμικής στην κλίμακα των συχνοτήτων. Από τις μεθόδους αυτές μπορούν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για τη δομή της ύλης, συγκρίνοντας την πειραματική κλίμακα χρόνου ($1/\omega$) με τις διάφορες κλίμακες χρόνου αποκατάστασης, τ , που χαρακτηρίζουν τους διηλεκτρικούς μηχανισμούς του συστήματος [42].

2.4 ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ

Η Διηλεκτρική Φασματοσκοπία είναι η μέθοδος που εκμεταλλεύεται τη θεωρία διηλεκτρικών για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης ενός υλικού με ηλεκτρικό πεδίο συχνοτήτων από 10^{-3} ως 10^{12} Hz. Το μεγάλο εύρος συχνοτήτων και θερμοκρασιών επιτρέπει τη μελέτη όλων των μηχανισμών αποκατάστασης που υπάρχουν σε ένα υλικό και την εξαγωγή συμπερασμάτων για τη δομή, τη μοριακή δυναμική και τις ιδιότητές του.

Το υλικό τοποθετείται εντός ηλεκτρικού πεδίου και καθώς μεταβάλλεται η συχνότητα, μετρά το ρεύμα που διαρρέει το δείγμα, τη διαφορά δυναμικού στα άκρα του και τη διαφορά φάσης μεταξύ τους. Το σύστημα τότε ανάγεται σε κύκλωμα RLC. Περισσότερα για τη μέθοδο στο επόμενο κεφάλαιο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

3.1 ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΟΥ ΠΕΔΙΟΥ (DRS)

Η δομή και οι μοριακές ιδιότητες ενός υλικού καθρεπτίζονται στον τρόπο που αλληλεπιδρά με το ηλεκτρικό πεδίο. Η Διηλεκτρική Φασματοσκοπία Εναλλασσόμενου Πεδίου (Dielectric Relaxation Spectroscopy, DRS) εκμεταλλεύεται τη δυνατότητα πόλωσης των πολυμερικών υλικών, για να μετρήσει τις διηλεκτρικές τους ιδιότητες και να μας δώσει με αυτόν τον έμμεσο τρόπο χρήσιμες πληροφορίες για τη δομή και τους τοπικούς και συνεργασιακούς μηχανισμούς μοριακής κινητικότητας στην υγρή και τη στερεή κατάσταση.

Το μέγεθος που εκφράζει τις διηλεκτρικές ιδιότητες των υλικών είναι η μιγαδική διηλεκτρική σταθερά με τη μορφή της συνάρτησης $\epsilon^*(\omega) = \epsilon'(\omega) + i\epsilon''(\omega)$. Η συνάρτηση αυτή συνδέει ένα εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο κυκλικής συχνότητας ω , $E(\omega,t)=E_0\exp(i\omega t)$ (το αίτιο της διέγερσης), με την πόλωση που προκαλεί στο υλικό (η απόκριση, το αποτέλεσμα της διέγερσης). Το πραγματικό μέρος της συνάρτησης, $\epsilon'(\omega)$, είναι η απόκριση σε φάση με το πεδίο και αποτελεί μέτρο της ηλεκτρικής ενέργειας που αποθηκεύεται στο υλικό. Το φανταστικό μέρος, $\epsilon''(\omega)$, είναι η απόκριση σε διαφορά φάσης 90° με το πεδίο και σχετίζεται με τις διηλεκτρικές απώλειες του υλικού (dielectric loss), δηλαδή την ηλεκτρική ενέργεια που χάνεται με τη μορφή θερμότητας.

Για να μελετήσουμε ένα πολυμερές με τη μέθοδο DRS κατασκευάζουμε πυκνωτές παράλληλων οπλισμών και τοποθετούμε το υλικό μεταξύ των δύο μεταλλικών πλακών. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του πυκνωτή είναι πεπερασμένα, ώστε να καθίσταται μετρήσιμα κάποια χρήσιμα μεγέθη, όπως η χωρητικότητα κενού πυκνωτή $C_0 = \epsilon_0 \frac{A}{d}$, όπου A το εμβαδό του κάθε οπλισμού και d η μεταξύ τους απόσταση. Η κατασκευή αυτή τοποθετείται εντός της κυψελίδας μετρήσεων. Αυτή εξασφαλίζει την καλή επαφή των οπλισμών-ηλεκτροδίων με το κύκλωμα: συνδέεται μέσω ομοαξονικών καλωδίων χαμηλού θορύβου με την παροχή ηλεκτρικής τάσης, το ηλεκτρόμετρο, το θερμοζεύγος για τον έλεγχο θερμοκρασίας και με μια αντλία κενού για τη δημιουργία ξηρού περιβάλλοντος. Αφού εξασφαλιστεί η συνδεσμολογία που περιγράφηκε, στον πυκνωτή εφαρμόζεται μικρού πλάτους ηλεκτρικό σήμα, υπό μορφή εναλλασσόμενης τάσης $V^*(\omega)$.

Το εφαρμοζόμενο χρονοεξαρτώμενο ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί πόλωση στο υλικό, η οποία μπορεί να εκφραστεί είτε με τη μορφή σύνθετης αγωγιμότητας (admittance), $Y^*(\omega)$ εξαρτώμενη από τη συχνότητα, είτε με τη μορφή εμπέδησης (σύνθετης αντίστασης, impedance), $Z^*(\omega)$. Τα δύο αυτά μεγέθη συνδέονται μεταξύ τους ως εξής:

$$Z^*(\omega) = \frac{1}{Y^*(\omega)} = \frac{V^*(\omega)}{I^*(\omega)} \quad (3.1)$$

όπου $V^*(\omega)$ η εφαρμοζόμενη εναλλασσόμενη τάση, $V^*(\omega) = \text{Re}[V_m \exp(i\omega t)]$, και $I^*(\omega)$ το ρεύμα που διέρχεται από το κύκλωμα.

Επομένως εφαρμόζοντας τάση $V^*(\omega)$ και μετρώντας το ρεύμα $I^*(\omega)$ που διαρρέει το κύκλωμα (είτε με τον αναλυτή είτε με ένα όργανο Keithley που λειτουργούν ταυτόχρονα ως πηγή τάσης και ως ηλεκτρόμετρο), προσδιορίζεται αυτόματα το μέγεθος $Z^*(\omega)$ καθ' όλη τη διάρκεια της μέτρησης.

Το ρεύμα $I^*(\omega)$ ($I^*(\omega, t)$ για την ακρίβεια, καθώς όλα τα μεγέθη είναι χρονοεξαρτώμενα) ισούται με τη χρονική παράγωγο του φορτίου που εμφανίζεται στα ηλεκτρόδια λόγω της διέγερσης, $Q^*(\omega, t) = C^*(\omega)V^*(\omega, t)$, δηλαδή $I^*(\omega, t) = i\omega C^*(\omega)V^*(\omega, t)$. Αντικαθιστώντας στην εξίσωση της εμπέδησης έχω:

$$Z^*(\omega) = \frac{1}{i\omega C^*(\omega)} \Leftrightarrow C^*(\omega) = \frac{1}{i\omega Z^*(\omega)} \quad (3.2)$$

Όπου $C^*(\omega)$ η σύνθετη χωρητικότητα του πυκνωτή, η οποία για ομογενές διηλεκτρικό είναι επίσης ίση με

$$C^*(\omega) = \varepsilon^*(\omega)C_o. \quad (3.3)$$

Ισχύει δηλαδή

$$\varepsilon^*(\omega) = \frac{C^*(\omega)}{C_o}. \quad (3.4)$$

Με τον τρόπο αυτό, η αρχική πληροφορία για την εμπέδηση μεταφράζεται στην πολύ πιο χρήσιμη διηλεκτρική συνάρτηση.

Εφαρμοζόμενης της τάσης, όταν ο πυκνωτής είναι κενός έχει χωρητικότητα $C^*(\omega) = C_o$ και το ρεύμα προηγείται της τάσης κατά $\frac{\pi}{2}$. Η σύνθετη αντίσταση σε αυτήν την ειδική περίπτωση είναι:

$$Z^*(\omega) = \frac{1}{i\omega C_o}. \quad (3.5)$$

Όταν ο πυκνωτής περιέχει διηλεκτρικό, η φάση και το πλάτος του ρεύματος μεταβάλλονται και το ρεύμα προηγείται της τάσης $V^*(\omega, t)$ κατά $\varphi < \frac{\pi}{2}$. Αυτό συμβαίνει γιατί στην περίπτωση πλήρωσης του πυκνωτή με κάποιο υλικό, δημιουργούνται διάφορα είδη πόλωσης μεταξύ των πλακών (προηγούμενο κεφάλαιο) και το ρεύμα έχει δύο συνιστώσες: μία σύμφωνη με την τάση και εκφράζει την απώλεια ενέργειας λόγω αγωγιμότητας, και μία που προηγείται της τάσης κατά $\frac{\pi}{2}$. Το φορτίο υστερεί της τάσης κατά γωνία δ , τέτοια ώστε $\varphi + \pi = \frac{\pi}{2}$.

Ένα ενδιαφέρον μέγεθος που προκύπτει είναι η εφαπτομένη της γωνίας δ , που ονομάζεται γωνία απωλειών και ισούται με

$$\tan \delta = -\frac{ImC^*(\omega)}{ReC^*(\omega)}. \quad (3.6)$$

3.2 Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ DRS

Το Εργαστήριο Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας διαθέτει μια πειραματική διάταξη DRS που περιλαμβάνει την κυψελίδα μετρήσεων μέσα στην οποία τοποθετείται ο πυκνωτής με το προς μελέτη υλικό, έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή με το πρόγραμμα WinDETA και τα συστήματα Quatro και Alpha Analyzer της Novocontrol.

Αναλυτικότερα, το σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας Quatro Cryosystem Novocontrol απαρτίζεται επιμέρους από τα παρακάτω:

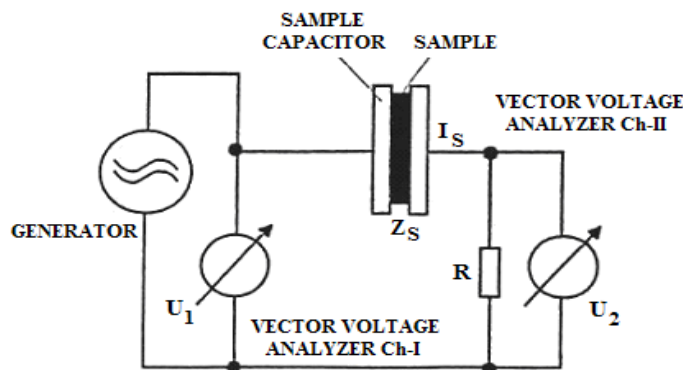
- Τον κρυοστάτη για τη διατήρηση των χαμηλών θερμοκρασιών
- Τη μονάδα ψύξης-θέρμανσης αερίου
- Τη μονάδα δημιουργίας διαφοράς πίεσης μεταξύ υγρού αζώτου και κυψελίδας, ώστε οι ψυχροί ατμοί αζώτου να διαχυθούν στο σύστημα μέσω μιας καλά μονωμένης γραμμής μεταφοράς.
- Μια αντλία κενού συνδεδεμένη στη μονάδα θέρμανσης αερίου και τον κρυοστάτη.
- Dewar υγρού αζώτου
- Γεννήτρια
- Το Quatro system controller που παρακολουθεί τη θερμοκρασία και την πίεση στο dewar και τις θερμοκρασίες δείγματος και αερίου.

Όλα τα παραπάνω συνθέτουν τέσσερα υψηλής ακρίβειας κυκλώματα ελέγχου: θερμοκρασίας δείγματος, θερμοκρασίας αερίου αζώτου, θερμοκρασίας υγρού αζώτου στο dewar και πίεσης εντός

του dewar. Δύναται να εκτελέσει μετρήσεις με ράμπα θερμοκρασίας από 0.01 ως 30°C/min, με σταθερότητα θερμοκρασίας 0.01°C, έχει χαμηλή κατανάλωση αζώτου (τυπικά 1l/hr σε T>-100°C) και επιτυγχάνει χρόνο σταθεροποίησης μικρότερο από 8min για σταθερότητα 0.1°C.

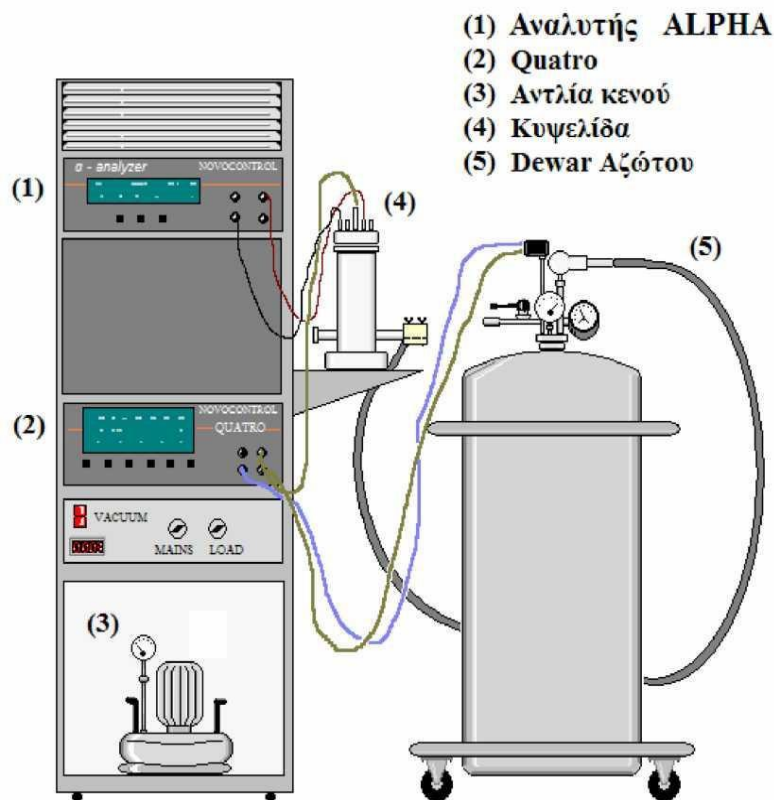
Ο αναλυτής απόκρισης συχνότητας (Frequency Response Analyzer, FRA) Alpha Analyzer της Novocontrol είναι αυτός που εφαρμόζει εναλλασσόμενη τάση στον πυκνωτή, καλύπτοντας φάσμα συχνοτήτων f από 10^{-2} ως 10^6 Hz σε θερμοκρασίες από -150 ως 450°C. Έχει εύρος μέτρησης σύνθετης αντίστασης από 10 ως 100mΩ και διακριτική ικανότητα $\tan \delta < 10^{-4}$. Το ισοδύναμο κύκλωμα του αναλυτή φαίνεται στην παρακάτω εικόνα: μια γεννήτρια παρέχει εναλλασσόμενη τάση $U_1(\omega)$ στο κύκλωμα που παρεμβάλλεται το υλικό με τη μορφή διηλεκτρικού εντός πυκνωτή. Το ρεύμα $I_S(\omega)$ που διαρρέει το δοκίμιο μετασχηματίζεται σε τάση $U_2(\omega)$, με τη βοήθεια μίας αντίστασης R συνδεδεμένης σε σειρά με τον πυκνωτή. Η μιγαδική σύνθετη αντίσταση του προς μελέτη υλικού ισούται με

$$Z_S(\omega) = \frac{V_S(\omega)}{I_S(\omega)} = R \left(\frac{U_1(\omega)}{U_2(\omega)} - 1 \right) \quad (3.7)$$



Εικόνα 4. Κύκλωμα αναλυτή απόκρισης συχνότητας (FRA) [43]

Τέλος, το πρόγραμμα WinDETA της ίδιας εταιρίας μας επιτρέπει τη δυνατότητα ρύθμισης των παραμέτρων και επιλογής συνθηκών του πειράματος, ενώ παράλληλα εμφανίζει απευθείας διαγράμματα των αποτελεσμάτων καθ' όλη τη διάρκεια της μέτρησης.



Εικόνα 5. Πειραματική διάταξη DRS [44]

Γενικά, η μελέτη των διηλεκτρικών ιδιοτήτων είναι απαραίτητη προϋπόθεση για τον σχεδιασμό και την ανάπτυξη τεχνολογικών υλικών με προκαθορισμένες επιθυμητές ιδιότητες. Η διηλεκτρική φασματοσκοπία μας δίνει έμμεσα πληροφορίες για τους μηχανισμούς μοριακής κινητικότητας σε ένα υλικό και συμβάλει με τον τρόπο αυτό στη μελέτη πολύπλοκων δομών και ποικίλων μορφολογιών σε σχέση με τις ιδιότητες του υλικού. Είναι επίσης μια μέθοδος ιδιαίτερου οφέλους στο χαρακτηρισμό, την κατασκευή και τον ποιοτικό έλεγχο υλικών που προορίζονται για τεχνολογικές εφαρμογές μικροηλεκτρονικής, ηλεκτρικών μονώσεων, διεπαφών, αισθητήρων, ενεργών διηλεκτρικών (πιεζοηλεκτρικά και πυροηλεκτρικά υλικά), φαρμακευτικών ουσιών και βιολογικών συστημάτων.

Τα πλεονεκτήματα των μεθόδων διηλεκτρικής φασματοσκοπίας είναι

- η σχετικά απλή προετοιμασία των πυκνωτών
- η ποικιλία στο μέγεθος και τη μορφή των προς μελέτη δοκιμίων
- οι διαφορετικοί όροι μέτρησης που μπορεί να ποικίλουν κάτω από ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών και συνθηκών υγρασιών και πιέσεων
- η τεχνική επεκτείνεται σε ευρεία ζώνη συχνοτήτων από την τάξη μεγέθους των mHz έως και GHz, επιτρέποντας την παρατήρηση διαφόρων διαδικασιών που αφορούν τη μοριακή και κρυσταλλική δομή και τη μορφολογία, τους μηχανισμούς μοριακής κινητικότητας, την

κρυσταλλικότητα, τη διαδικασία πολυμερισμού, την ηλεκτρική αγωγιμότητα, την κατάσταση του νερού στα πολυμερή, τη μελέτη κεραμικών υλικών και επαφών p-n.

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά της μεθόδου ενέπνευσαν την παρούσα εργασία, στην οποία οι βιολογικοί ιστοί προσεγγίζονται υπό το πρίσμα της φυσικής των υλικών, με στόχο να προστεθεί ένας άλλος τρόπος αντίληψης της βιολογικής ύλης.

3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ DRS

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το DRS αναλύθηκαν με το μοντέλο Havriliak-Negami [45] και με τη χρήση του προγράμματος Graffity [46] για να εκτιμηθούν:

- Η θερμοκρασιακή εξάρτηση της συχνότητας μεγίστου των διηλεκτρικών απωλειών,
- Η διηλεκτρική ισχύς,
- Οι παράμετροι των μηχανισμών χαλάρωσης που καταγράφηκαν [47].

Στην κατεύθυνση αυτή, χρησιμοποιήθηκε μια εξίσωση ικανή να περιγράψει το σχήμα μιγαδικών καμπυλών, η ημι-εμπειρική εξίσωση Havriliak-Negami (H-N)

$$\varepsilon^*(f) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon}{\left[1 + i \frac{f}{f_0}\right]^{\alpha}}^{\beta}$$

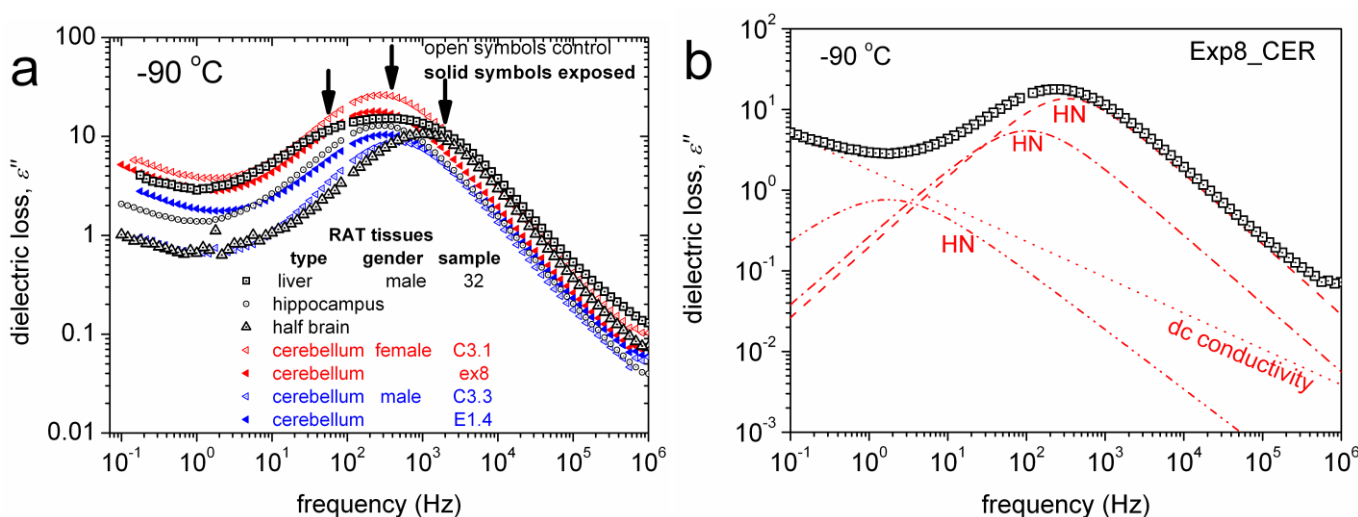
με τις παραμέτρους α και β να καθορίζονται από τη μορφή της καμπύλης. Πιο συγκεκριμένα, κάθε όρος αντιπροσωπεύει:

- ε_{∞} , τη διηλεκτρική απόκριση, ε' , στις πιο μεγάλες συχνότητες ($f \gg f_0$) (ηλεκτρονική και ιοντική πόλωση)
- $\Delta\varepsilon$, τη διηλεκτρική ισχύ, μέγεθος που αντιπροσωπεύει τον αριθμό των κινούμενων μορίων,
- f_0 , τη χαρακτηριστική συχνότητα, δηλαδή τη συχνότητα μεγίστου του ε'' , η οποία θεωρείται χαρακτηριστική του βαθμού μοριακής κινητικότητας,
- α , το μέγεθος του ανοίγματος της καμπύλης (απόκλιση από τη μονάδα), δηλαδή τη διεύρυνση ή τον περιορισμό του εύρους των χρόνων αποκατάστασης, που αντιστοιχεί σε μεγάλη ή μικρή ανομοιογένεια των μοριακών ομάδων (διπόλων) που χαλαρώνουν.
- β , το βαθμό συμμετρίας ως προς ένα νοητό άξονα που διέρχεται από την κορυφή της παραβολοειδούς καμπύλης (απόκλιση από τη μονάδα). Περιγράφει δηλαδή την ισορροπία ή όχι των χρόνων αποκατάστασης γύρω από την τιμή συχνότητας μεγίστου (f_0).

Η ανάλυση ξεκινά από τη χαμηλότερη θερμοκρασία μέτρησης (-150°C). Στη γραφική παράσταση $\varepsilon''(f)$ (διηλεκτρικές απώλειες) προσαρμόζονται με τον βέλτιστο δυνατό τρόπο η ευθεία

γραμμή της αγωγιμότητας και μηχανισμοί H-N, όπου και αν κρίνεται απαραίτητο ότι ταιριάζει (fitting). Αφού καθοριστούν και καταγραφούν τα χαρακτηριστικά μεγέθη των παραπάνω (f_0 , α , β), η ανάλυση προχωρά στην αμέσως επόμενη μεγαλύτερη θερμοκρασία μέτρησης, όπου παρατηρείται η σχετική μετακίνηση του εκάστοτε μηχανισμού ή η εισαγωγή κάποιου νέου στο παράθυρο μέτρησης ή η εξαφάνιση κάποιου προϋπάρχοντα. Η ανάλυση ολοκληρώνεται μετά το πέρας της προσαρμογής μηχανισμών στην τελευταία (υψηλότερη) θερμοκρασία. Σε όλα τα στάδια συνήθως χρειάζεται να επιστρέφει κανείς σε προηγούμενες θερμοκρασίες για να βεβαιωθεί πως παρακολουθείται μια «λογική» εξέλιξη των μηχανισμών. Όταν τα θερμοκρασιακά βήματα μιας μέτρησης είναι μικρά (μετρήσεις ανά 5 -10°C), δεν είναι λογικό να υπάρχει δραματική αλλαγή στην οριζόντια και κάθετη μετατόπιση των καμπυλών που προσαρμόζονται. Σε κάθε τέτοιου τύπου μελέτη, συστήνεται επανάληψη του fitting είτε με την ίδια θερμοκρασιακή σειρά, είτε με την αντίστροφη, ώστε να επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα.

Για κάθε μηχανισμό χαλάρωσης που καταγράφεται, προστίθεται ένας όρος H-N. Ο αριθμός των μηχανισμών είναι διαφορετικός για διαφορετικές θερμοκρασίες και ιστούς διαφορετικούς μεταξύ τους. Δεδομένης της πολυπλοκότητας της δομής της βιολογικής ύλης, εντοπίστηκαν ως και 9 μηχανισμοί στην ίδια καμπύλη, οι οποίοι με την άνοδο της θερμοκρασίας αλληλεπικαλύπτονται (εικόνα 6). Η διαδικασία ακολουθείται για όλες τις καταγεγραμμένες θερμοκρασίες που προκύπτουν από τη μελέτη ενός δείγματος και προσδιορίζονται οι γεωμετρικοί παράμετροι α και β των εξισώσεων.



Εικόνα 6. (a) Το φανταστικό μέρος της διηλεκτρικής απόκρισης, ϵ'' , συναρτήσει της συχνότητας διαφόρων ειδών ιστών αρουραίου σε θερμοκρασία $-90\text{ }^\circ\text{C}$. Τα βέλη δείχνουν τη συχνότητα μέγιστης διηλεκτρικής απώλειας (f_0). **(b)** Χαρακτηριστικό παράδειγμα τμήματος της ανάλυσης με όρους H-N για κάθε καταγεγραμμένο μηχανισμό μιας ισόθερμης καμπύλης που προέκυψε από τη μέτρηση δείγματος παρεγκεφαλίδας αρουραίου εκτεθειμένης σε DECT (exp8_CER).

Η μελέτη αυτή εστιάζεται στη θερμοκρασιακή εξάρτηση της τμηματικής και μοριακής δυναμικής. Η αύξηση της θερμοκρασίας επιδρά στο χρόνο χαλάρωσης (και κατά συνέπεια στη συχνότητα χαλάρωσης), καθώς τα δίπολα ή τα φορτία αποκτούν μεγαλύτερη κινητική ενέργεια ώστε να προσανατολίζονται πιο εύκολα ή πιο γρήγορα στο ηλεκτρικό πεδίο. Η θερμοκρασιακή εξάρτηση της τμηματικής δυναμικής περιγράφεται συνήθως από δύο εξισώσεις:

- Η εξίσωση Vogel–Tammann– Fulcher–Hesse (VTFH)

$$f(T) = f_0 \exp\left(-\frac{D \cdot T_0}{T - T_0}\right)$$

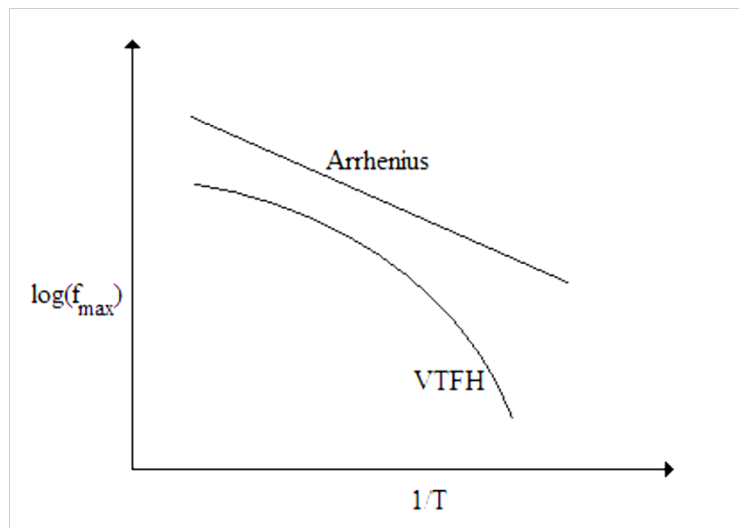
όπου f_0 μια σταθερή συχνότητα, T_0 η θερμοκρασία Vogel και D η παράμετρος ισχύος. Η εξίσωση VTFH περιγράφει τη σχέση συχνότητας χαλάρωσης-θερμοκρασίας συνεργασιακών κινήσεων των διπόλων.

- Η εξίσωση Arrhenius

$$f(T) = f_{0,Arhh} \exp\left(-\frac{E_{act}}{kT}\right)$$

όπου f_0 μια σταθερή συχνότητα και E_{act} η ενέργεια ενεργοποίησης ενός μηχανισμού χαλάρωσης. Η εξίσωση Arrhenius περιγράφει τη θερμοκρασιακή εξάρτηση της συχνότητας χαλάρωσης μη-συνεργασιακών μηχανισμών (η κίνηση των διπόλων εξαρτάται μόνο από το πεδίο και όχι από την κίνηση γειτονικών διπόλων).

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την ανάλυση (f_0 και ΔE για κάθε T) παρουσιάζονται σε διαγράμματα $\log f_{max}\left(\frac{1000}{T}\right)$ (διαγράμματα Arrhenius) (εικόνα 7) και οι μηχανισμοί που καταγράφηκαν χαρακτηρίζονται ως VTFH ή Arrhenius (συνεργασιακοί ή μη). Από την κλίση της ευθείας ενός μηχανισμού Arrhenius, υπολογίζεται η ενέργεια ενεργοποίησης του μηχανισμού, E_{act} .



Εικόνα 7. Διάγραμμα Arrhenius

3.4 ΙΣΟΘΕΡΜΗ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ ΣΕ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑ (Equilibrium water desorption isotherm, EDI)

Η μέθοδος της ισόθερμης αφυδάτωσης σε ισορροπία χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να εκτιμηθεί η ποσότητα νερού που περιέχει ένα δείγμα. Η γνώση του ποσοστού νερού είναι σημαντική πληροφορία για την σωστή εκτίμηση των βιοηλεκτρικών ιδιοτήτων ενός ιστού ή ενός βιοπολυμερούς. Η μέθοδος στηρίζεται στην καταγραφή ενός μεγέθους [48], όπως η κατά βάρος συγκέντρωση, η κατ' όγκο συγκέντρωση ή ο αριθμός γραμμαρίων, που εκφράζει την ποσότητα του εκροφημένου νερού σε κάποιο υλικό ως συνάρτηση της σχετικής πίεσης των ατμών του νερού που περιβάλλουν το υλικό, δηλαδή της σχετικής υγρασίας (relative humidity, RH). Η κατά βάρος υδάτωση ενός υλικού μπορεί να υπολογιστεί με βάση τη σχέση

$$h = \frac{m_{water}}{m_{dry,sample}}$$

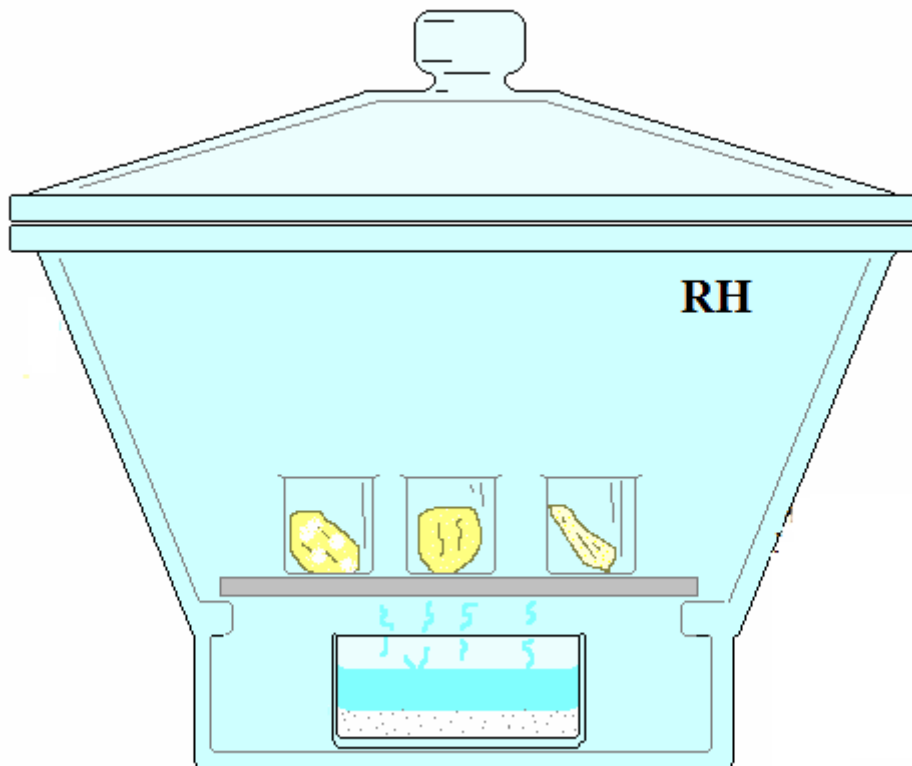
όπου $m_{dry,sample}$, η μάζα ξηρού δοκιμίου και m_{water} , η μάζα του νερού που έχει αποβάλει το υλικό.

3.5 Η ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ EDI

Η ισόθερμη αφυδάτωση σε ισορροπία επιτυγχάνεται με τοποθέτηση των υλικών σε ξηραντήρα (εικόνα 8) [48]. Τα δείγματα αρχικά ισορροπούν σε συνθήκες περιβάλλοντος και ξηραίνονται παρουσία πεντοξειδίου του φωσφόρου, P_2O_5 , υπό τη μορφή κορεσμένου ο υδατικού διαλύματος. Η παρουσία της ουσίας αυτής εντός της σφραγισμένης γυάλας, εξασφαλίζει ατμόσφαιρα σχετικής υγρασίας $rh \sim 0,02$, απορροφώντας το νερό που περιέχεται και στο ίδιο το δοκίμιο. Προκειμένου να

αξιολογηθεί η περιεκτικότητα σε νερό, καταγράφεται η μάζα του δείγματος (Mettler high accuracy balance με ακρίβεια 10^{-5} g) πριν και μετά την εξισορρόπηση με P_2O_5 . Η μάζα του δείγματος μετά την εξισορρόπηση θεωρήθηκε ως μάζα ξηρού δοκιμίου $m_{dry,sample}$ και σε αυτή βασίζεται ο υπολογισμός της ενυδάτωσης «σε ξηρή βάση», μέσω της εξίσωσης

$$h = \frac{m_{water}}{m_{dry,sample}} = \frac{m_{hydrated,sample} - m_{dry,sample}}{m_{dry,sample}}$$



Εικόνα 8. Ξηραντήρας που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα [42].

3.6 ΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑ

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται στη διάγνωση και ταξινόμηση διαφόρων ασθενειών. Είναι η μελέτη κυττάρων και ιστών κάτω από ένα μικροσκόπιο, μέσω εργαστηριακών εξετάσεων και σε συνδυασμό με ιστοχημικές τεχνικές, δηλαδή ειδικές μεθόδους επιλεκτικής χρώσης διαφόρων συστατικών του κυττάρου, που καθιστούν ορατή και διακριτή την κυτταρική δομή. Στη διάγνωση του καρκίνου, ένα δείγμα του ιστού (βιοψία) λαμβάνεται από τον ασθενή και εξετάζεται για να διαπιστωθεί εάν είναι παρόντα καρκινικά κύτταρα. Αν πρόκειται για όγκο τέτοιων κυττάρων,

χαρακτηρίζεται ως καλοήθης ή κακοήθης και στη δεύτερη περίπτωση καθορίζεται ο ακριβής ιστολογικός του τύπος και ο βαθμός κακοήθειας.

Στην παρούσα εργασία τέτοιου είδους μελέτη έγινε μόνο στους ανθρώπινους ιστούς (διότι ο κύριος λόγος της βιοψίας είναι η διάγνωση) και την διεξήγαγαν νοσοκομειακά εργαστήρια. Το τμήμα του πρωτοκόλλου στο οποίο υπήρξε συμμετοχή είναι η παρασκευή πλακιδίων για την απόκτηση εικόνων μικροσκοπίας της δομής των υγιών και των καρκινικών ιστών και παρουσιάζεται παρακάτω.

Οι ιστοί προέρχονται από βιοψία ή χειρουργική αφαίρεση, ανάλογα το περιστατικό και αποθηκεύονται αμέσως σε κρυοφυαλίδια (<10ml) στους -80 °C. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η διαδικασία της αυτόλυσης (διάσπαση κυττάρων μετά το θάνατό τους από τα ίδια τους τα ένζυμα), παρέχεται η δυνατότητα αποθήκευσης για πολύ καιρό και εξασφαλίζεται χρόνος στο συντονισμό της μελέτης των ιστών, καθώς λήψη και μελέτη ιστού είναι εξαιρετικά δύσκολο να συντονιστούν. Επιπροσθέτως, η κατάψυξη των ιστών εξασφαλίζει χρόνο για τη μεταφορά τους από το ένα εργαστήριο στο άλλο. Βέβαια ο πιο συνήθης τρόπος επεξεργασίας και συντήρησης ιστών είναι η μονιμοποίηση, δηλαδή η τοποθέτηση μέσα σε φορμόλη με στόχο τη διατήρηση της μορφολογικής και χημικής σύστασης για μεγάλο χρονικό διάστημα. Στην προκειμένη περίπτωση η μονιμοποίηση παραλήφθηκε έτσι, ώστε να μελετήσουμε τον ιστό σε κατάσταση όσο το δυνατό πλησιέστερη στην αρχική του, χωρίς την παρεμβολή του μονιμοποιητή στο σήμα.

Έχοντας διατηρήσει τη βιολογική δομή των κυττάρων, λαμβάνονται λεπτές τομές (πάχους 4μm) με μια συσκευή που ονομάζεται κρυοτόμος. Ο κρυοτόμος επιτρέπει τη λήψη υπέρλεπτων τομών (το πάχος ρυθμίζεται ηλεκτρονικά) με μια ατσάλινη λεπίδα υπο συνθήκες αποστείρωσης και ψύξης. Ο ιστός τοποθετείται σε μια μεταλλική βάση και γύρω του απλώνεται ένα κρυοπροστατευτικό gel, το οποίο δεν επηρεάζει τον ιστό, αλλά αφού παγώσει, αποτελεί μια σκληρή μηχανική στήριξη ώστε για να μην παραμορφώνεται ο ιστός κατά την τομή.

Στη συνέχεια οι λεπτές τομές ιστού τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρους πλάκες και ακολουθεί η διαύγαση (καθαρισμός) και η σταδιακή υδάτωσή τους με εμβάπτιση σε μια σειρά υγρών: ξυλόλη 1, ξυλόλη 2, αιθανόλη 100% και υδατικά διαλύματα αιθανόλης 95, 70, 50 και 30%. Κατόπιν ακολουθεί η χρώση. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη χρώσης, ανάλογα με το στόχο του κάθε πρωτοκόλλου. Στην παρούσα εργασία υπάρχει ανάγκη εικόνας υγιούς και καρκινικού ιστού για να αντιπαρατεθούν, δηλαδή να φανούν τα όρια των κυττάρων και πως διατάσσονται στο χώρο. Κατάλληλη για αυτό είναι η χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη, με εμβάπτιση για λίγα δευτερόλεπτα σε κάθε μια από τις δύο ουσίες.

Καθώς το DNA και το RNA είναι αρνητικά φορτισμένα (βασεόφιλα), χρωματίζονται με βασικά χρωστικά διαλύματα. Η αιματοξυλίνη, ως βασική χρωστική, βάφει με έντονο κυανό χρώμα τους πυρήνες των κυττάρων και πιο αχνά τα μεταβολικώς ενεργά κύτταρα του κυτταροπλάσματος που περιέχουν νουκλεϊκά οξέα (ριβοσώματα). Αντίθετα, η ηωσίνη είναι όξινη και προσδίδει ερυθρό χρώμα σε θετικά φορτισμένες δομές, όπως τα συστατικά του κυτταροπλάσματος.

Κατόπιν γίνεται πλύση των ιστών με νερό και σταδιακή αφυδάτωση (όμοια με την ενυδάτωση αλλά με αντίστροφη σειρά). Η ξυλόλη καταλαμβάνει τις θέσεις του νερού στην κυτταρική δομή

Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την κάλυψη του ιστού με καλυπτρίδα και παρατήρησή του στο μικροσκόπιο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΙΣΤΟΙ

Η ύλη από την οποία συγκροτούνται οι ζωντανοί οργανισμοί είναι συνδυασμός ορισμένων στοιχείων που συνδεόμενα μεταξύ τους σχηματίζουν τα μόρια. Από τα 92 στοιχεία που απαντώνται φυσικώς στον πλανήτη, τα στοιχεία H,O,C και N συνιστούν το 96,5% του βάρους του οργανισμού. Τα βιομόρια εμφανίζουν πολύ μεγάλη ποικιλία και πολυπλοκότητα. Διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τα μικρομόρια (βρίσκονται συνήθως ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα και εμπλέκονται σε λειτουργίες όπως σύσταση αμινοξέων και μεταβολισμός) και τα μακρομόρια (πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, πολυσακχαρίτες και λιπίδια). Τα τελευταία χαρακτηρίζονται ως *βιοπολυμερή*, κοινό χαρακτηριστικό των οποίων είναι η απελευθέρωση ενός μορίου νερού για κάθε δεσμό που δημιουργείται κατά την ένωση των μονομερών του. Αντίθετα, κατά την αποικοδόμηση των βιοπολυμερών (υδρόλυση), για κάθε δεσμό που σπάει, ενσωματώνεται ένα μόριο νερού. Η πολυμερική φύση των δομικών λίθων ενός οργανισμού, καθώς και η συμπεριφορά του νερού στο εσωτερικό αυτού, είναι πεδία που κρίνουν απαραίτητη τη διερεύνηση τους υπό το διεπιστημονικό πρίσμα της Βιοφυσικής και της Φυσικής των Υλικών, συμπληρωματικά με τη Βιολογία και την Ιατρική. Σκοπός του κεφαλαίου αυτού είναι να δοθεί συνοπτικά η αναγκαία πληροφορία για τη δομή και τη λειτουργία των ιστών που μελετήθηκαν, καθώς και για τα διαφορετικά είδη «καταπόνησης» ή «αλλοίωση» που μελετήθηκαν.

4.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ: ΑΠΟ ΤΟ DNA ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ

Τα νουκλεϊκά οξέα (DNA, RNA) και οι πρωτεΐνες του κυττάρου παράγονται με έναν πολύ ακριβή και καθορισμένο τρόπο, σύμφωνα με το κεντρικό δόγμα της Βιολογίας: DNA → RNA → πρωτεΐνες. Η αλληλουχία των δομικών λίθων των πρωτεϊνών είναι απόρροια της αλληλουχίας των δομικών λίθων του μηνύματος RNA (mRNA) και αυτή με τη σειρά της ανάλογη της δομής του DNA. Η αλληλουχία των δομικών λίθων των πρωτεϊνών καθορίζει επίσης τη διαμόρφωση του μορίου στο χώρο.

Τα δομικά στοιχεία των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς. Οι πληροφορίες που εμπεριέχονται στις αλληλουχίες τους εκφράζονται διαμέσου των πολύ πιο ασθενών μη ομοιοπολικών δεσμών που ενώνουν τις διάφορες περιοχές των μακρομορίων, αλλά και τα μακρομόρια μεταξύ τους.

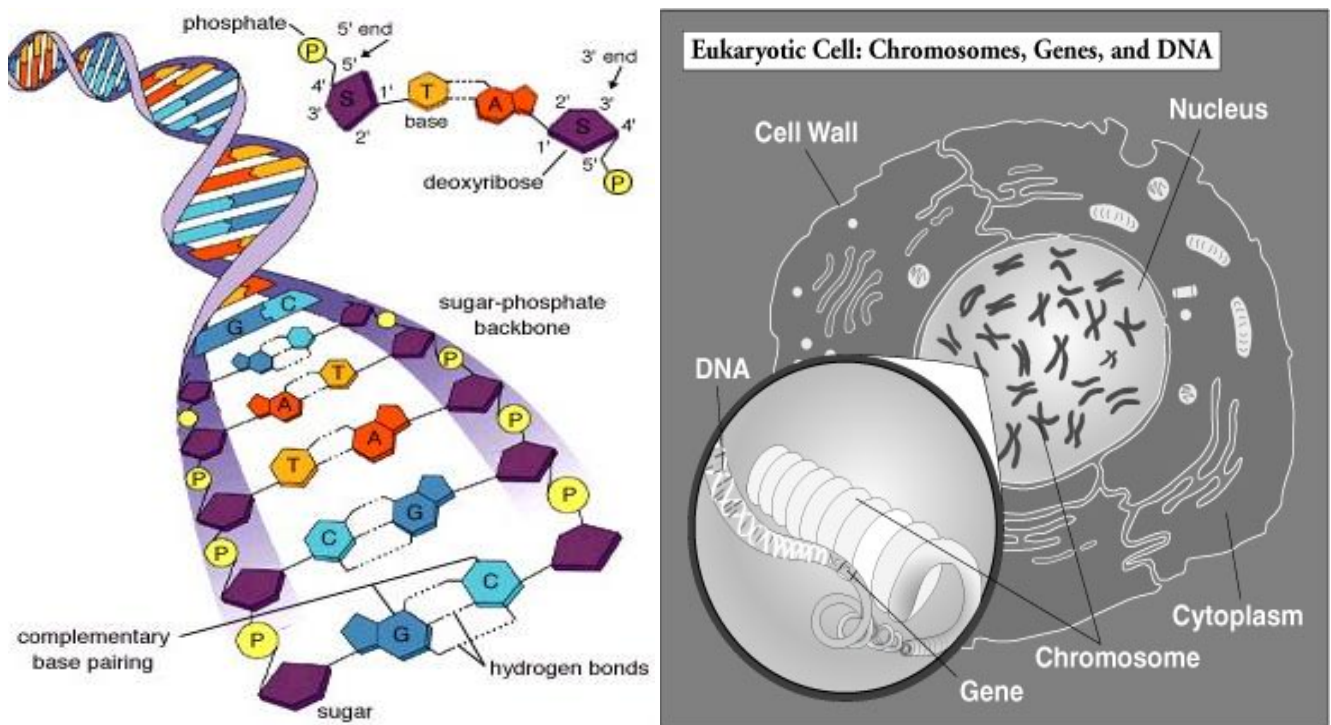
Οι πρωτεΐνες αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της ξηρής μάζας ενός κυττάρου. Οι δομές που παρατηρούνται στο μικροσκόπιο οφείλονται κυρίως στις πρωτεΐνες. Ακόμη, συμμετέχουν σε όλες σχεδόν τις δραστηριότητες των οργανισμών. Αποτελούνται από συνδυασμό 20 διαφορετικών αμινοξέων, τα οποία ενώνονται μεταξύ τους με πεπτιδικό δεσμό (συμπύκνωση). Ο αριθμός και η αλληλουχία των αμινοξέων μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας, χαρακτηρίζεται ως πρωτοταγής δομή της πρωτεΐνης. Η ανάπτυξη δεσμών υδρογόνου μεταξύ γειτονικών αμινοξέων ή περιοχών της ίδιας αλυσίδας ή παραπλήσιων και η επακόλουθη τοπική αναδίπλωσή της συνιστά τη δευτεροταγή δομή της. Τέλος, η συνολική διαμόρφωσή της συνιστούν την τριτοταγή δομή, στην οποία συμβάλουν ασθενείς δεσμοί (υδρογόνου, ιοντικοί και υδρόφοβοι). Η τεταρτοταγής δομή μιας πρωτεΐνης αφορά τη διάταξη στο χώρο πρωτεϊνών που αποτελούνται από περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

Η τελική δομή μιας πρωτεΐνης μπορεί να είναι είτε ινώδης, είτε σφαιρική. Οι ινώδεις πρωτεΐνες συνήθως σχηματίζουν μεγάλα ινίδια και είναι το βασικό δομικό στοιχείο του συνδετικού ιστού ζωικών οργανισμών. Οι σφαιρικές πρωτεΐνες μπορεί να είναι ένζυμα, πεπτιδικές ορμόνες, αιμοσφαιρίνη κ.α.

Οι πρωτεΐνες επομένως αποτελούν και λειτουργικά, αλλά και δομικά στοιχεία της έμβιας ύλης. Σε επόμενο λοιπόν επίπεδο, είναι δομικός λίθος των κυττάρων, μαζί με τα λιπίδια από τα οποία είναι κατασκευασμένες οι μεμβράνες αυτών. Πριν αναφερθούμε στα κύτταρα, κρίνεται σκόπιμη μια αναφορά στα νουκλεϊκά οξέα, DNA και RNA.

Τα νουκλεϊκά οξέα του κυττάρου, δηλαδή τα βιομόρια που είναι υπεύθυνα για την αποθήκευση και την αποκωδικοποίηση των γενετικών πληροφοριών είναι το δεοξυριβοζονουκλεϊκό οξύ (DNA), που φέρει τα γονίδια, και το ριβοζονουκλεϊκό οξύ (RNA) που τα μεταφράζει σε πρωτεΐνες. Ο αριθμός των μονομερών (νουκλεοτιδίων αδενίνη, θυμίνη, γουανίνη κυτοσίνη, ουρακίλη) του RNA κυμαίνεται μεταξύ 80-200000 νουκλεοτίδια, ενώ του DNA φτάνει τα εκατομμύρια.

Η δομή του DNA φαίνεται στο σχήμα 8: δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες σχηματίζουν μια διπλή έλικα. Οι κύριες αλυσίδες, ο σκελετός, αποτελούνται από φωσφορικό οξύ και δεοξυριβόζη, ενώ μεταξύ τους βρίσκονται ζεύγη αζωτούχων βάσεων που συνδέονται μεταξύ τους με διπλούς και τριπλούς δεσμούς υδρογόνου. Οι ασθενείς μη ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ των παρακείμενων ζευγαριών βάσεων (απόσταση 0,34nm) προσδίδει επιπλέον σταθερότητα στο σύστημα.



Εικόνα 9. Η δομή του DNA ενός ευκαρυωτικού κυττάρου.

[<http://www.scienceclarified.com/scitech/Genetics/Genes-and-DNA.html>]

Τα λιπίδια είναι βιομόρια που διαλύονται σε οργανικούς διαλύτες, ενώ είναι αδιάλυτα ή λιγότερο διαλυτά στο νερό. Ο βιολογικός ρόλος των λιπιδίων είναι σημαντικός, καθώς εκτός από πηγή ενέργειας, είναι και δομικά συστατικά των βιολογικών μεμβρανών (φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια και χοληστερίνη). Η παρουσία τους στις μεμβράνες, εκτός των άλλων, συμβάλλει στη θερμική μόνωση των κυττάρων και καθιστά δυνατή τη δημιουργία ηλεκτρικού μεμβρανικού δυναμικού.

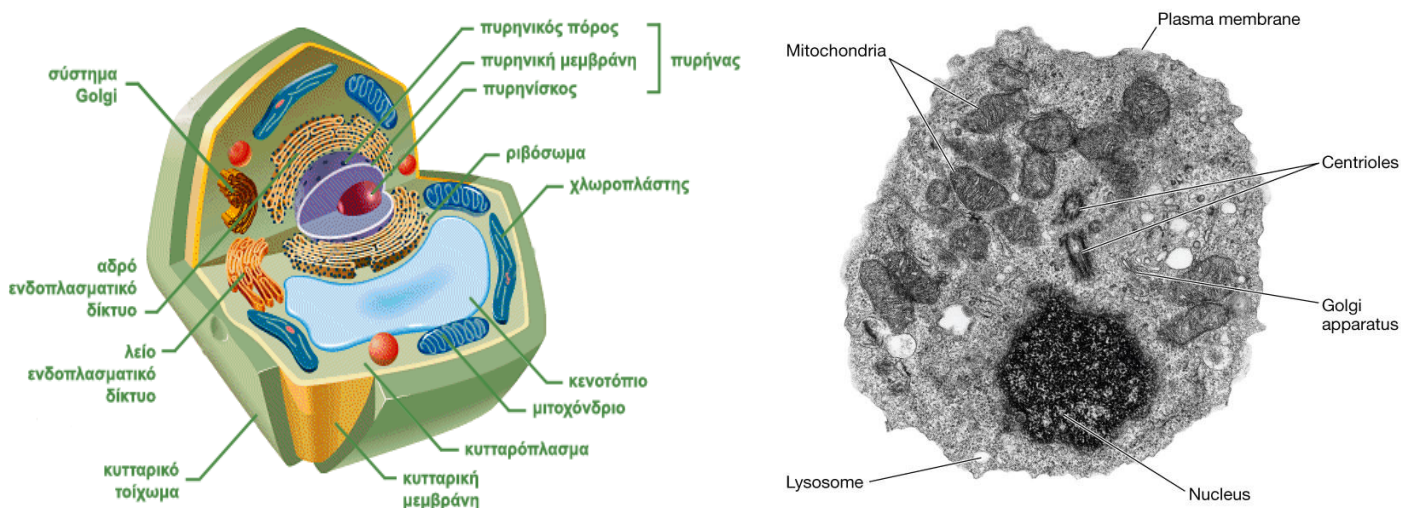
Είναι πλέον προφανές ότι οι δομές που παρατηρούνται στο εσωτερικό ενός κυττάρου είναι πολύπλοκες δομές διαφόρων επιπέδων μοριακής οργάνωσης και προέρχονται από τον πολυμερισμό μικρών οργανικών μορίων. Οι ανώτερες δομές του κυττάρου σχηματίζονται σύμφωνα με την αρχή της αυτοσυγκρότησης (self assembly): η απαιτούμενη πληροφορία για την εξειδικευμένη διαμόρφωση των μακρομορίων στο χώρο και την αλληλεπίδρασή τους για σχηματισμό πολύπλοκότερων δομών με ειδικές βιολογικές λειτουργίες είναι εγγενής ιδιότητα των ίδιων των μακρομορίων. Η αρχή αυτή καθιστά σαφές ότι από τη στιγμή που θα συντεθεί ένα μακρομόριο, όλες οι επόμενες διεργασίες για το σχηματισμό ανώτερων δομών γίνονται αυτόματα, χωρίς καμιά προσθήκη ενέργειας ή πληροφορίας.

Η Διηλεκτρική Φασματοσκοπία είναι μια καθιερωμένη και ευρύτερα εφαρμόσιμη μη-επεμβατική τεχνική ανίχνευσης της δομής και της λειτουργίας βιολογικών συστημάτων

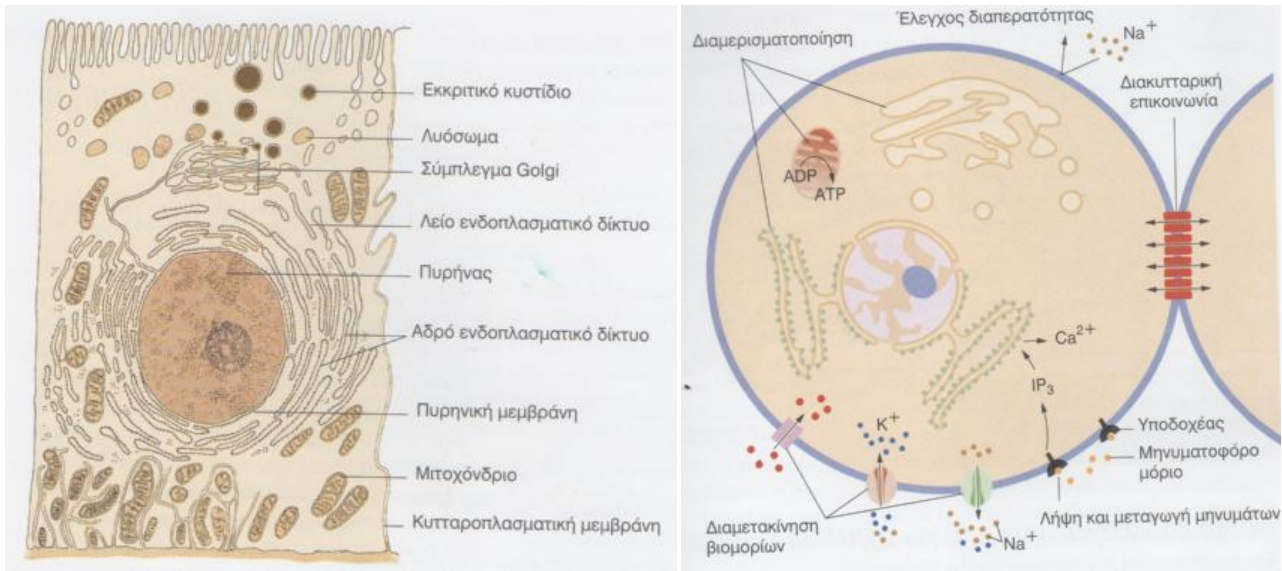
διαφορετικών ειδών, συμπεριλαμβανομένου και του DNA [49-53]. Η ισόθερμη καταγραφή των διηλεκτρικών μεγεθών σε υψηλές θερμοκρασίες είναι διαδικασία που προκαλεί και ταυτόχρονα παρακολουθεί την τήξη και αποδιάθρωση του DNA, δηλαδή την *in vitro* αντίστοιχη διαδικασία της μετάβασης του DNA από διπλή έλικα σε μονόκλωνο μόριο (double helix to single coil transition). Έχουν γίνει διάφορες μελέτες διαλυμάτων DNA σε θερμοκρασίες όπου παρατηρούνται αυτά τα φαινόμενα (ως 85°C) [54-57]. Από την άλλη πλευρά, οι μετρήσεις αγωγιμότητας dc έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη μελέτη θραύσεων που προκαλεί η ακτινοβολία στην αλυσίδα του μορίου DNA σε υδατικά διαλύματα. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι παρατηρούμενες μεταβολές στην αγωγιμότητα έχουν αποδοθεί στην απελευθέρωση των αντίθετων ιόντων (κυρίως Na⁺) που είναι δέσμια στις αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες του DNA [58, 59].

4.2 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ ΩΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Τα κύτταρα είναι οι μικρότερες λειτουργικές μονάδες ζωής, καθώς έχουν την ικανότητα να αφομοιώνουν, να αναπτύσσονται και να αναπαράγονται. Διακρίνονται σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά (ανάλογα αν έχουν σχηματισμένο πυρήνα) και σε ανώτερους οργανισμούς εντοπίζονται περί τα 200 διαφορετικά -ως προς τη μορφή και τη λειτουργία- είδη κυττάρων. Η χημική του σύσταση περιγράφηκε στην προηγούμενη παράγραφο. Τα οργανίδια του ευκαρυωτικού κυττάρου φαίνονται στην εικόνα 10, στη λειτουργία των οποίων δεν κρίνεται σκόπιμο να αναφερθούμε. Αξίζει ωστόσο να εστιάσουμε εν συντομία στα μεμβρανικά συστήματα του ευκαρυωτικού κυττάρου, η λειτουργίες των οποίων συνοψίζονται στο διάγραμμα της εικόνας 11 (δεξιά), ώστε να αντιληφθούμε την προσέγγιση της δομής ενός ιστού ως *σύστημα πολυμερικών μεμβρανών σε υδατικό διάλυμα*.

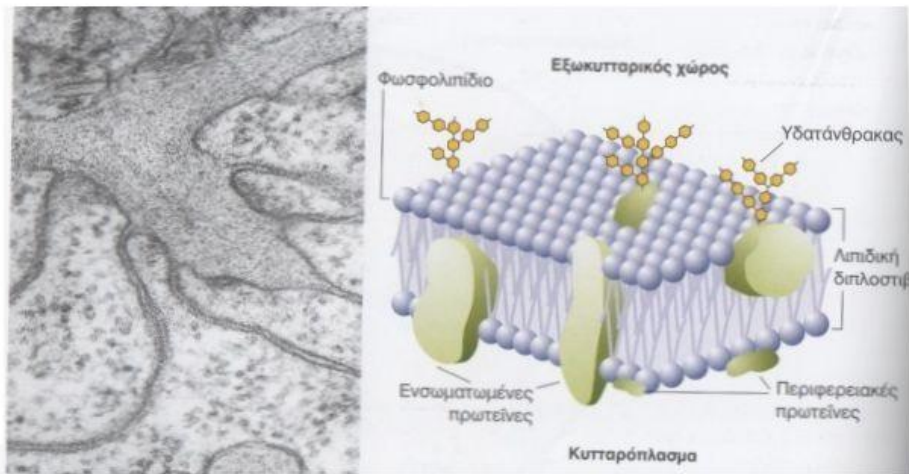


Εικόνα 10. Σχηματική αναπαράσταση των οργανιδίων ενός ευκαρυωτικού κυττάρου και η εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας ενός κυττάρου.



Εικόνα 11. Τα μεμβρανικά συστήματα των ευκαρυωτικών κυττάρων (αριστερά) και η λειτουργία τους (δεξιά) [60].

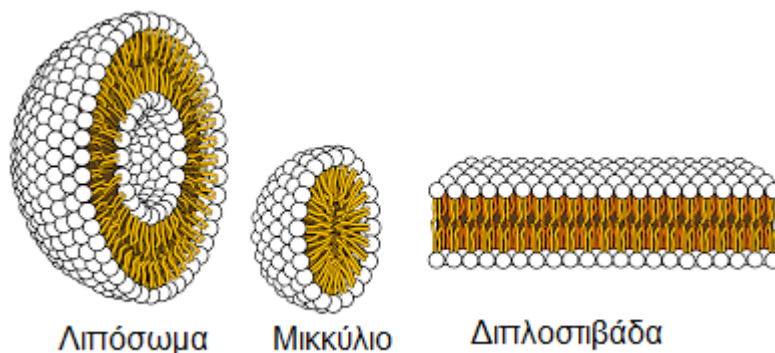
Το μοντέλο που επικρατεί σήμερα είναι αυτό των Singer και Nicolson (1972), γνωστό ως το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού (fluid mosaic model), σύμφωνα με το οποίο το δομικό πλαίσιο είναι η διπλοστιβάδα λιπιδίων. Τα λιπίδια βρίσκονται σε ρευστή κατάσταση, με δυνατότητα περιστροφής και μετακίνησης. Οι πρωτεΐνες είναι σφαιρικές και εισχωρούν σε κάποιο βάθος ή και διαπερνούν τη διπλοστιβάδα (εικόνα 12).



Εικόνα 12. Αριστερά, φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο της πλασματικής μεμβράνης ζωϊκών κυττάρων. Δεξιά, σχηματική απεικόνιση μεμβράνης σύμφωνα με το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού [60].

Οι βιολογικές μεμβράνες ποτέ δεν έχουν ελεύθερα άκρα, πάντοτε είναι συνεχείς κλειστές δομές, γιατί η ανοιχτή δομή δεν ευνοείται ενεργειακά. Σε υδατικό διάλυμα τα φωσfolιπίδια σχηματίζουν αυθόρμητα μονοστιβάδες (μικκύλια ~20nm) ή δίστιβες (λιποσώματα) σφαιρικές δομές, που έχουν υδρογονανθρακικές ουρές (υδρόφοβες) στραμμένες προς το εσωτερικό και τις

φωσφολιωμένες κεφαλές (υδρόφιλες) προς τα έξω (εικόνα 13). Οι δομές αυτές δείχνουν πολύ καλά τη συνδυαστική επίδραση υδρόφιλων-υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Στη σταθεροποίηση του διαμοριακού στρώματος συμβάλλουν και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ διπόλων όταν υπάρχουν τα κατάλληλα φωσφολιπίδια.



Εικόνα 13. Χαρακτηριστικές δομές φωσφολιπιδίων.

Τα μόρια που συγκροτούν τις μεμβράνες και κυρίως τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες δε βρίσκονται σε μια στατική κατάσταση. Κάθε κυτταρική μεμβράνη, ανάλογα με τη λιπιδική της σύσταση, αλλάζει τη φυσική της κατάσταση σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία. Όταν η μεμβράνη ψύχεται κάτω από τη θερμοκρασία αυτή, τότε μεταπίπτει σε κατάσταση πηκτώματος, όπου η κίνηση των φωσφολιπιδίων περιορίζεται έντονα. Όταν η μεμβράνη θερμαίνεται, τότε μεταπίπτει σε μια αποδιοργανωμένη κατάσταση υγρού κρυστάλλου (αυξημένη ρευστότητα). Η κατάσταση αυτή επιφέρει αύξηση στον όγκο, στην επιφάνεια ανά μόριο, στην κινητικότητα των μορίων και στη διαλυτότητα σε μη πολικά διαλύματα [61]. Το γεγονός ότι οι μεμβράνες των κυττάρων βρίσκονται πάνω από αυτή τη θερμοκρασία μετάπτωσης υποδηλώνει ότι αυτή η κατάσταση του υγρού κρυστάλλου είναι σημαντική για τη λειτουργία των μεμβρανών (κυτταρική κίνηση, αύξηση, διαίρεση, έκκριση ουσιών). Τη θερμοκρασία μετάπτωσης μεταξύ άλλων επηρεάζουν δύο ακόμη παράγοντες συστασιακής φύσης: το μήκος της αλυσίδας των λιπαρών οξέων και ο βαθμός κορεσμού τους (τα ακόρεστα έχουν χαμηλότερη θερμοκρασία μετάπτωσης από τα κορεσμένα γιατί ο διπλός δεσμός των δευτέρων δεν επιτρέπει το πακετάρισμά τους).

Το μοντέλο του ρευστού μωσαϊκού επίσης προβλέπει τη διαπερατότητα των μεμβρανών στα μικρομόρια και μακρομόρια που είναι απαραίτητο να προσλαμβάνονται ή να αποβάλλονται από ένα κύτταρο. Αν μια μεμβράνη χωρίζει δύο περιοχές με διαφορετική συγκέντρωση μιας ουσίας X, τότε είναι μεγάλη η πιθανότητα μετακίνησης μορίων X από τη μια πλευρά της μεμβράνης στην άλλη. Η βαθμίδωση του ηλεκτρικού φορτίου ή το δυναμικό των μεμβρανών είναι επίσης μια κινητήρια δύναμη για τη μετακίνηση ουσιών μέσω της μεμβράνης [62]. Η διαφορά δυναμικού οφείλεται στην ίδια τη μεμβράνη και στα φορτισμένα ιόντα ή τα μόρια που χωρίζει. Οι μεμβράνες

λοιπόν αποτελούνται από λιπιδικές περιοχές, διαμέσου των οποίων μετακινούνται λιπόφιλα μόρια, και από πόρους πρωτεϊνικής φύσης, διαμέσου των οποίων διαμετακινούνται υδρόφιλα μόρια (αρχή του Overton).

Η ίδια η φύση των κυτταρικών μεμβρανών καθιστά έντονη την ομοιότητά τους με τα συμβατικά πολυμερικά υλικά και προσελκύουν το ενδιαφέρον της Επιστήμης των Υλικών για μελέτη με αντίστοιχες μεθόδους.

4.3 ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ

Το κυτταρόπλασμα αποτελείται, εκτός από τα οργανίδια του κυττάρου (μεμβρανικό σύστημα), και από το κυτοσόλιο (cytosol): το εσωτερικό υγρό του κυττάρου, το οποίο συνίσταται κυρίως από νερό, διαλυμένα ιόντα, μικρά μόρια, μεγάλα υδατοδιαλυτά μόρια (20-30% πρωτεΐνες).

Είναι το μεγαλύτερο μέρος του κυττάρου κατ' όγκο και η ρεολογία του καθορίζει σε μεγάλο βαθμό το ρυθμό αλλαγής σχήματος και λειτουργίας του κυττάρου. Συμπεριφέρεται σαν sol-gel: άλλοτε παρουσιάζει ιδιότητες αποδιοργανωμένου κολλοειδούς διαλύματος (sol) και άλλοτε φαίνεται να είναι ένα ολοκληρωμένο δίκτυο στερεής μάζας (gel). Ένας συνδυασμός παλαιότερων (Taylor, 1929), αλλά και νέων μελετών [63] δείχνουν ότι μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά από ένα πυροελαστικό μοντέλο, σύμφωνα με το οποίο θεωρείται διφασικό υλικό, αποτελούμενο από ένα πορώδες ελαστικό πλέγμα (κυτταροσκελετός, οργανίδια, μακρομόρια) μέσα σε ένα διάμεσο υγρό με κύριο συστατικό το νερό, το κυτταρόπλασμα.

Πρόσφατα προτάθηκε μια ακόμη θεώρηση, που θέλει το κυτταρόπλασμα να συμπεριφέρεται σαν υαλώδες υγρό κοντά στη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των κυτταροπλασματικών συστατικών, τόσο περισσότερο συμπεριφέρεται σε συμπαγές γυαλί, ακινητοποιώντας τα συστατικά του, και αυτό που το ρευστοποιεί είναι η μεταβολική του δραστηριότητα [64]. Η ικανότητα του κυττάρου να υαλοποιηθεί απουσία μεταβολισμού (αδρανείς περίοδοι) μπορεί να είναι ευεργετική αμυντική στρατηγική. Ένα κυτταρόπλασμα συμπαγές στερεό παγώνει τις κυτταρικές δομές στη θέση τους, προλαμβάνοντας ζημιές, ενώ επιτρέπει τη μετάδοση πολύ μικρών πρωτεϊνών και μεταβολιτών, βοηθώντας την εκ νέου ανάπτυξη κατά την αναβίωση του κυττάρου από τη λανθάνουσα κατάσταση (Cryobiology) [65, 66].

4.4 ΤΟ ΝΕΡΟ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

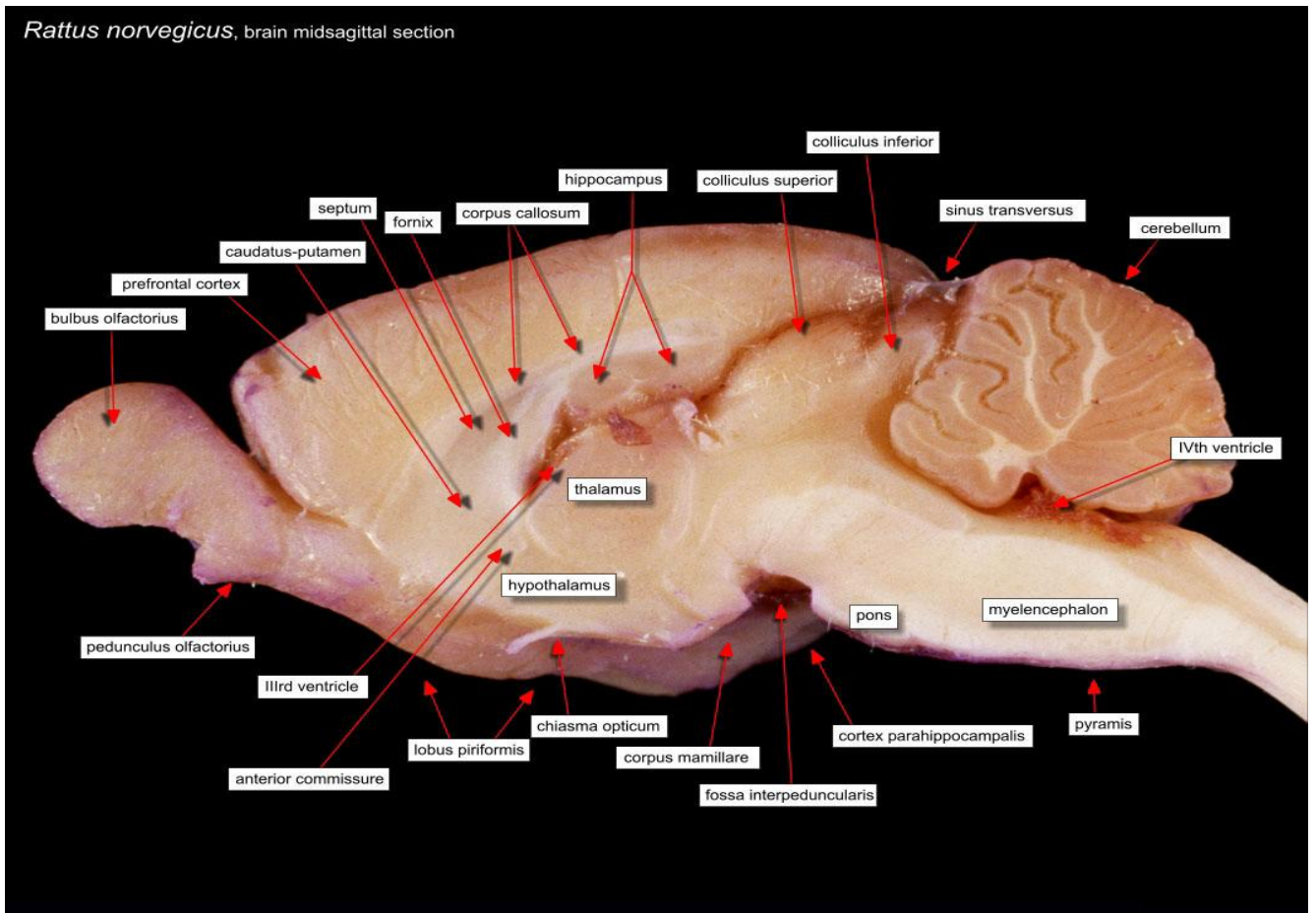
Σε κάθε περίπτωση, η μια φάση του κυτταροπλάσματος είναι το νερό και αποτελεί το 90% του βάρους του κυττάρου. Γενικότερα, το νερό αποτελεί καθολικό διαλύτη της έμβιας ύλης, παρεμβαίνοντας σε βιοχημικές κυτταρικές αντιδράσεις (υδρόλυση, οξείδωση, συμπύκνωση), μεταφέροντας ή αποβάλλοντας μόρια, ιόντα, μακρομόρια ή κύτταρα από το ένα όργανο στο άλλο και προστατεύοντας από μηχανικές και θερμικές καταπονήσεις. Το νερό των ανώτερων βιολογικών οργανισμών κατατάσσεται σε διάφορες κατηγορίες. Μπορεί να είναι ενδοκυτταρικό (~70% του νερού των κυττάρων) ή εξωκυτταρικό (~30%), ανάλογα με τη θέση του ως προς τα κύτταρα, ενώ σε επίπεδο ιστών απαντάται ως ενδοϊστικό και εξωϊστικό. Ένας άλλος τρόπος κατηγοριοποίησης είναι ο τρόπος αλληλεπίδρασης με τα βιομόρια. Έτσι διακρίνεται σε ελεύθερο (bulk) και δεσμευμένο (ή δομημένο) νερό, το οποίο αλληλεπιδρά με τις υδρόφιλες ομάδες πρωτεϊνών [67], πυρηνικών οξέων και λιπιδίων. Η οργάνωση του νερού σε layers γύρω από την ξηρή μάζα του κυττάρου είναι λειτουργικής σημασίας, καθώς οι πρωτεΐνες των κυττάρων διαχωρίζονται με την παρεμβολή 2-3 στρωμάτων νερού. Επομένως η δυναμική τους επηρεάζεται και επηρεάζει τη δομή και τη δυναμική του διαλύτη-νερού, με τα μόρια του νερού να παίζουν πλέον καθοριστικό ρόλο στη δομή, τη σταθερότητα, τη δυναμική και τη λειτουργία βιομορίων, κυττάρων και ιστών.

4.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

Τα κύτταρα διαφόρων ειδών οργανώνονται σε μεγαλύτερες δομές και συγκροτούν ιστούς και όργανα. Την παρούσα εργασία αφορούν ιστοί προερχόμενοι από αρουραίους και ανθρώπους. Οι αρουραίοι χρησιμοποιούνται ευρέως σε πολλά είδη πειραμάτων, διότι έχουν υψηλή απόδοση αναπαραγωγής σε σύντομο χρονικό διάστημα και έχουν πολλές ομοιότητες στη λειτουργία με τους ανθρώπους, καθώς και παρόμοιου μήκους γονιδίωμα [68].

4.5.1 Παρεγκεφαλίδα αρουραίου

Η παρεγκεφαλίδα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του οπίσθιου εγκεφάλου και στον άνθρωπο και στον αρουραίο (εικόνα 14). Η λειτουργία της είναι εξολοκλήρου κινητική και λειτουργεί στο ασυνείδητο επίπεδο. Ρυθμίζει τη διατήρηση ισορροπίας, τις οφθαλμικές κινήσεις, επηρεάζει τη στάση και το μυϊκό τόνο και συντονίζει τις κινήσεις. Αποτελείται από ένα φλοιό φαιάς ουσίας (grey matter) και μια κεντρική περιοχή λευκής ουσίας (white matter). Η φαιά ουσία περιέχει σχεδόν όλα τα κυτταρικά σώματα των νευρώνων μαζί με τους νευροάξονες. Η λευκή ουσία αποτελείται από οδούς νευρικών ινών. Όπως φαίνεται στην εικόνα, ο φλοιός της παρεγκεφαλίδας πτυχώνεται σε έλικες ή φύλλα (folia), που υποστηρίζονται από τη διακλαδιζόμενη κεντρική λευκή ουσία [69].



Εικόνα 14. Φωτογραφία κατακόρυφης τομής του εγκεφάλου ενός *rattus norvegicus* [70] και κάθετη τομή παρεγκεφαλίδας που έχει υποστεί ειδική χρώση του ίδιου είδους ιστού [71].

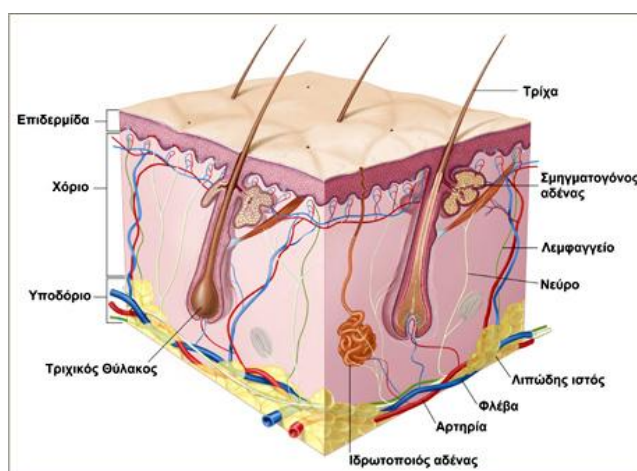
4.5.2 Δέρμα αρουραίου

Το δέρμα είναι ένα από τα μεγαλύτερα όργανα του σώματος κάθε ζώου, αποτελώντας το 6-8% του ολικού βάρους του σώματος. Συνεισφέρει στην προστασία, την αισθαντικότητα, τη θερμορύθμιση και τις μεταβολικές λειτουργίες του οργανισμού. Στις διάφορες περιοχές του

σώματος ποικίλλει ως προς το πάχος, το χρώμα και την παρουσία τριχών, αδένων και νυχιών. Παρά τις παραπάνω διαφορές που αντιπροσωπεύουν διαφορετικές λειτουργικές απαιτήσεις, όλοι οι τύποι δέρματος των ανώτερων οργανισμών εμφανίζουν την ίδια βασική δομή: μια ανώτερη στιβάδα, την επιδερμίδα και μια δεύτερη κάτω από αυτή, τη δερμίδα ή χορίο.

Η επιδερμίδα είναι ένα κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο¹ και το πάχος της (~0,2mm) ποικίλει ανάλογα με τις λειτουργικές δυνάμεις και με τις επιδράσεις αφυδάτωσης στις οποίες υπόκειται. Η επιδερμίδα στηρίζεται στο χορίο ή δερμίδα, μια στιβάδα πυκνού (1-4 mm) ινοελαστικού ιστού, το οποίο περιέχει αγγεία και αισθητηριακούς υποδοχείς. Το χορίο προσφίεται στους υποκείμενους ιστούς με ένα στρώμα χαλαρού λιπώδους ιστού, τον υποδόριο ιστό ή υποδερμίδα.

Τα συστατικά στοιχεία του δέρματος είναι κύτταρα (κερατινοκύτταρα, μελανοκύτταρα, ινοβλάστες, ερυθροκύτταρα, λιπώδη, Langerhaus και Merkel), ίνες (κερατίνης, κολλαγόνου, ελαστίνης) και χρωστικές ενώσεις που απορροφούν το φως (μελανίνη, αιμοσφαιρίνη) και ανάλογα την περιοχή προέλευσης, συγκρατεί όγκο νερού. Για τη μελέτη αυτή, αφαιρέθηκε ο μεγάλος όγκος τριχώματος των αρουραίων, ώστε να εκτιμηθούν τα διηλεκτρικά μεγέθη του δέρματος ως έχει στο ζώο.



Εικόνα 15. Η διαστρωμάτωση του δέρματος και η παρεμβολή τριχών, αγγείων και αδένων.

4.5.3 Πνεύμονες (ανθρώπινοι)

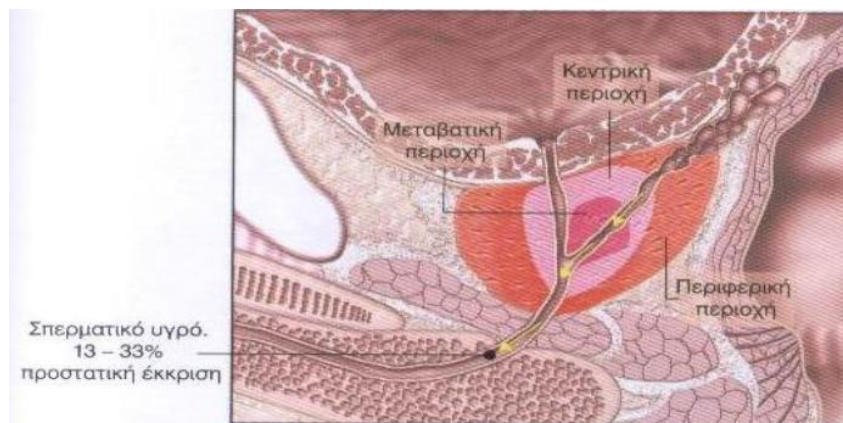
Οι δύο λοβοί των πνευμόνων είναι τμήμα του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Στη μέση περιοχή τους βρίσκεται η τραχεία, η οποία διχάζεται στους δύο βρόγχους, οι οποίοι διακλαδίζονται και εκτίνονται ακολούθως στους λοβούς του αριστερού και δεξιού πνεύμονα, όπου

¹ Επιθήλιο: καλύπτει τις εσωτερικές και εξωτερικές επιφάνειες του σώματος, αποτελείται από διάφορα εξειδικευμένα κύτταρα, όπως απορροφητικά, βλεφαριδοφόρα και εκκριτικά (αδένες).

διαίρονται σε μικρότερα τμήματα (βρογχιόλια), στους κυψελιδικούς πόρους, τους κυψελιδικούς σάκους και τις κυψελίδες. Οι κυψελίδες ανέρχονται σε 300 εκατομμύρια, μέσα από αυτές εισέρχεται και εξέρχεται ο αέρας στον οργανισμό. Πρόκειται στην ουσία για ένα σύνολο μικροσκοπικών αεραγωγών (ινο-ελαστικός ιστός) και αιμοφόρων αγγείων (πνευμονικά τριχοειδή αγγεία περιβάλλουν τις κυψελίδες) αντιστοίχως διαστάσεων (~7-10μm) για να γίνει εφικτή η ανταλλαγή αερίων κατά την αναπνοή.

4.5.4 Προστάτης αδένας (ανθρώπινος)

Ο προστάτης αδένας είναι ένα πολύπλοκο όργανο, σχήματος ανεστραμμένου κώνου και περιβάλλει ένα τμήμα της ουροδόχου κύστης. Αποτελείται από αδενικό επιθηλιακό ιστό (50-70%) και στηρικτικό ινομυώδες στρώμα (30-50%). Τα επιθηλιακά κύτταρα επενδύουν τα αδένια και τους πόρους και παράγουν εκκρίματα που, μέσω των πόρων, εκβάλλουν στην ουρήθρα, αποτελώντας σημαντικό συστατικό του σπερματικού πλάσματος. Ουσιαστικά πρόκειται για μια λοβωτή δομή 30-40 σωληνοκυψελοειδών αδένων, οι οποίοι περιβάλλονται από στηρικτικό ιστό. Για την περιγραφή βλαβών στη χειρουργική είναι χρήσιμη η διάκριση κατά McNeal et al. (εικόνα 16) [72].



Εικόνα 16. Οριοθέτηση του προστάτη στο σώμα και παρουσίαση των ζωνών του [72].

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, εξετάστηκαν ιστοί που προήλθαν από ασθενείς με καρκίνο και ζώα που έχουν εκτεθεί σε ιοντίζουσα και μη ακτινοβολία, επομένως κρίνεται σκόπιμο στο σημείο αυτό να παρατεθούν μερικά στοιχεία για αυτού του είδους τις αλλοιώσεις/καταπονήσεις.

4.6 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

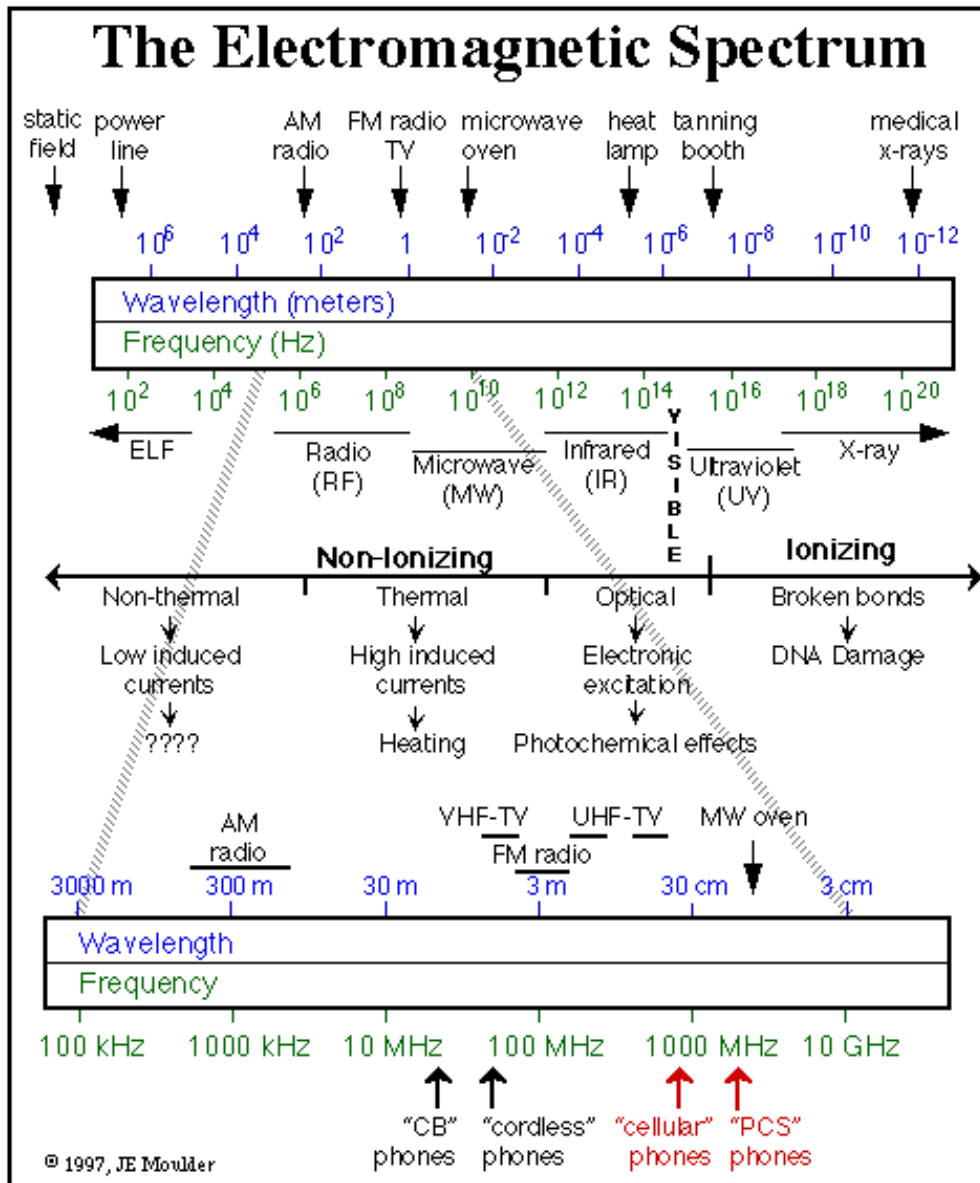
Ο καρκίνος (γνωστός και ως κακοήθης όγκος (malignant tumor) ή κακοήθης νεόπλασμα (neoplasm)), είναι μια ομάδα ασθενειών που έχουν σχέση με την αφύσικη ανάπτυξη με πιθανότητα εισβολής ή διάδοσης σε άλλα μέρη του σώματος. Οφείλεται είτε σε εξωγενείς παράγοντες (κάπνισμα, παχυσαρκία, μολύνσεις κ.α.), είτε σε κληρονομικότητα. Σε κάθε περίπτωση απαιτείται μια σειρά από πολλές γενετικές αλλαγές πριν την ανάπτυξή του, οι οποίες δεν απασχολούν τη συγκεκριμένη εργασία. Τα καρκινικά κύτταρα τείνουν στο σχηματισμό όγκων. Οι όγκοι είναι μια μάζα κυττάρων που προέρχεται από την ανεξέλεγκτη διαίρεση καρκινικών κυττάρων. Μπορεί να είναι κακοήθεις (malignant), που σημαίνει πως μπορούν να εξαπλωθούν ή να προσβάλουν γειτονικούς ιστούς, είτε να επιτρέψουν μεταφορά καρκινικών κυττάρων (μέσω του κυκλοφορικού ή λεμφικού συστήματος) σε άλλα όργανα (μετάσταση), γεγονός που συνδέεται με την επιθετικότητα του καρκίνου. Αντίθετα, οι καλοήθεις όγκοι (benign tumors) είναι αυστηρά καθορισμένοι στο χώρο, ανεξάρτητα του μεγέθους τους, αφαιρούνται χειρουργικά και συνήθως δεν επανεμφανίζονται. Ακόμη και οι μεγαλύτεροι τέτοιοι όγκοι ενδέχεται να είναι εντελώς ακίνδυνοι και να μην εμποδίζουν τη λειτουργία του οργανισμού, με μόνη εξαίρεση τους όγκους στον εγκέφαλο, που αποτελούν απειλή για τη ζωή.

Τα καρκινικά κύτταρα διαφέρουν από τα υγιή με πολλούς τρόπους, ένας από τους οποίους είναι και η έλλειψη ειδίκευσης. Τα φυσιολογικά κύτταρα ωριμάζουν σε πολύ συγκεκριμένους διακριτούς τύπους με συγκεκριμένες λειτουργίες, πράγμα που δε συμβαίνει και στα καρκινικά, με αποτέλεσμα να συνεχίζουν να διαιρούνται χωρίς διακοπή. Επιπρόσθετα, δεν αντιλαμβάνονται τα σήματα που προκαλούν και ρυθμίζουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), επομένως δε δύναται ούτε να αποβληθούν. Τέλος, πολλοί όγκοι σχηματίζουν ένα δικό τους αγγειακό δίκτυο, πιο άτακτο και πυκνό από το φυσιολογικό, που τους επιτρέπει να τρέφονται, να αναπτύσσονται και να αποβάλλουν εκκρίματα.

Οι όγκοι γενικά έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε νερό από τα υγιή κύτταρα, λόγω της κυτταρικής νέκρωσης, αλλά και της μη φυσιολογικής πρόσθετης αγγείωσης. Επομένως, η αύξηση της αγωγιμότητας ενδεχομένως να δηλώνει την ύπαρξη όγκων [37].

4.7 ΑΚΤΙΒΟΛΙΑ

Η ακτινοβολία είναι η μεταφορά ενέργειας σε μορφή ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων ή κινούμενων υποατομικών σωματιδίων. Όλες οι ακτινοβολίες περιγράφονται από την ενέργειά τους, που αντιστοιχεί σε κάποιο συγκεκριμένο μήκος κύματος και συχνότητα (εικόνα 17). Ανάλογα με την ενέργεια και την επίδρασή της στην ύλη, διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: την ιοντίζουσα και τη μη ιοντίζουσα.



Εικόνα 17. Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα.

4.7.1 ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Ως ιοντίζουσα ακτινοβολία καθορίζεται η ηλεκτρομαγνητική ή σωματιδιακή ακτινοβολία, που στο πέρασμά της μέσα από την ύλη διεγείρει τροχιακά ηλεκτρόνια ή ιονίζει άτομα ή μόρια του υλικού ή διασπά χημικούς δεσμούς. Το σημείο διαχωρισμού μεταξύ ιοντιζουσών και μη ακτινοβολιών είναι τα 1000Å, αφού το μήκος κύματος αντιστοιχεί σε ενέργεια φωτονίων ~12,4eV (τυπική ενέργεια ιονισμού ενός ατόμου) [73]. Υπάρχουν δύο τρόποι παραγωγής ιοντίζουσας ακτινοβολίας: η επιτάχυνση φορτισμένων σωματιδίων ή η διάσπαση ασταθών ισοτόπων με ταυτόχρονη εκπομπή ακτινοβολίας.

Στην προκειμένη περίπτωση έχουμε ακτινοβολία από τη διάσπαση ενός τεχνητά παραγόμενου ισοτόπου του κοβαλτίου, ⁶⁰Co (1,17 και 1,31 MeV), που χαρακτηρίζεται γ-ακτινοβολία. Η γ-ακτινοβολία είναι το αποτέλεσμα της αποδιέγερσης ενός πυρήνα μέσω εκπομπής φωτονίων ενέργειας μεγαλύτερης των 100keV. Το φάσμα των ακτινών γ είναι μονοενεργειακό και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του πυρήνα-εκπομπού .

Όταν τα φορτισμένα σωματίδια εισέρχονται σε ένα υλικό, επιβραδύνονται και χάνουν σταδιακά ενέργεια λόγω της αλληλεπίδρασής τους με τα τροχιακά ηλεκτρόνια του υλικού, προκαλώντας ιονισμούς και ηλεκτρονικές διεγέρσεις. Τα φωτόνια της γ-ακτινοβολίας αλληλεπιδρούν με την ύλη με τρεις βασικούς μηχανισμούς: το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο, το φαινόμενο Compton και τη δίδυμη γένεση.

Το φωτοηλεκτρικό φαινόμενο αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό απορρόφησης φωτονίων χαμηλής ενέργειας (<25 keV) από βιολογικά υλικά. Το φωτόνιο αλληλεπιδρά με ένα δέσμιο ηλεκτρόνιο, απορροφάται και προκαλεί την έκλυση του ηλεκτρονίου από το άτομο. Το φαινόμενο Compton αποτελεί το σπουδαιότερο τρόπο αλληλεπίδρασης φωτονίων μεγάλων ενεργειών με τα βιολογικά υλικά (25 keV-25 MeV) και αναφέρεται στην ανελαστική κρούση φωτονίων και εξωτερικών ηλεκτρονίων, που συνεπάγεται την αποδέσμευση ηλεκτρονίων από τις εξωτερικές στιβάδες του ατόμων. Η δίδυμη γένεση συμβαίνει στην περίπτωση που η ενέργεια του φωτονίου ξεπερνά την ενέργεια που αντιστοιχεί σε δύο μάζες ηρεμίας του ηλεκτρονίου (0,51 MeV) και η αλληλεπίδρασή του με το ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο γύρω από τον πυρήνα οδηγεί στην παραγωγή ενός ηλεκτρονίου και ενός ποζιτρονίου. Με κάθε τρόπο έχουμε τη δημιουργία δευτερογενών ηλεκτρονίων, τα οποία χάνουν πολύ γρήγορα την ενέργειά τους. Ωστόσο, καταφέρνουν να δρουν άμεσα, ιονίζοντας στο πέρασμά τους τη διπλή έλικα του DNA, προκαλώντας καταστροφές βάσεων και φωσφορικών ομάδων ή ακόμη και θραύση της μίας ή και των δύο αλυσίδων (single and double strand breaks). Ο ιονισμός του DNA (άμεση δράση) οδηγεί σε μια θετική DNA ρίζα και ένα ηλεκτρόνιο. Η ρίζα DNA αντιδρά με τα υδατικά στρώματα που την περιβάλλουν και σχηματίζει

μια ρίζα βάσης-OH ή απελευθερώνει ένα πρωτόνιο H⁺. Πυροδοτείται λοιπόν η δημιουργία δραστικών ριζών που επιφέρει *οξειδωτικό στρες*² (oxidative stress) στα κύτταρα (έμμεση δράση).

Οι αλλοιώσεις που δημιουργήθηκαν στα παραπάνω στάδια, οδηγούν το κυτταρικό σύστημα σε πολύπλοκες διαδικασίες επιδιόρθωσης (DNA repair). Η επιτυχημένη επιδιόρθωση και όλες οι αλληλεπιδράσεις των μορίων που προέκυψαν με τα άλλα συστατικά του κυττάρου, μπορεί να εκδηλωθούν και να ολοκληρωθούν σε μερικά λεπτά ως και πολλά χρόνια. Οι βιολογικές επιπτώσεις όλων των αλλοιώσεων που αρχίζουν από μοριακό επίπεδο επεκτείνονται σε κυτταρικό επίπεδο και μπορεί να καταλήξουν σε σωματική ή γενετική επιβάρυνση του οργανισμού.

Στο σημείο αυτό, αξίζει να αναφερθεί η *συστημική δράση* της ακτινοβολίας. Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται στη ραδιοβιολογία και αναφέρεται σε ένα φαινόμενο κατά το οποίο τα μη-ακτινοβολημένα κύτταρα που παρευρίσκονται (bystander cells) εμφανίζουν απόκριση παρόμοια με «γειτονικά» ακτινοβολημένα κύτταρα, πιθανώς λόγω της απελευθέρωσης των χημικών σημάτων και σημάτων φλεγμονής από τον εκτεθειμένο στην ακτινοβολία πληθυσμό. Σε αυτές οι επιδράσεις συμπεριλαμβάνονται οι βλάβες του DNA, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες (chromosome aberrations) και η γονιδιακή αστάθεια (genomic instability), η τροποποιημένη γονιδιακή έκφραση, η απόπτωση, οι αλλαγές στη μεταβίβαση σημάτων και ο μετασχηματισμός νεοπλασμάτων [74]. Τέτοιας φύσης μηχανισμοί δράσης συναντώνται υπό τον όρο των *μη-στοχευμένων επιπτώσεων της ακτινοβολίας* (non-targeted effects) και είναι τουλάχιστον μερικώς άγνωστο, όχι μόνο το είδος των τοπικών βλαβών που προκαλούνται, αλλά και το είδος της συνολικής απόκρισης του οργανισμού σε αυτό το ερέθισμα. Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις υποκίνησης τέτοιων μηχανισμών ακόμη και από ακτινοβολία χαμηλής δόσης (<1Gy), η οποία θα μπορούσε και να θεωρηθεί εφάμιλλη (αν όχι χαμηλότερη) της ιοντίζουσας ακτινοβολίας του περιβάλλοντος (υποβάθρου) [75].

Η ενέργεια απορρόφησης ιοντίζουσας ακτινοβολίας από την ύλη μετρείται σε Gray (Gy) ($1\text{Gy} = 1 \frac{\text{J}}{\text{kg}}$). Δεδομένης της στοχαστικής φύσης της αλληλεπίδρασης της γ-ακτινοβολίας με την έμβια ύλη και των ντιτερμινιστικών αποτελεσμάτων της, δεν υπάρχει ευθεία σχέση της εκπεμπόμενης και της απορροφώμενης ακτινοβολίας (Linear No-Threshold model, LNT). Οι βιολογικές αλληλεπιδράσεις διαφέρουν ανάλογα με το τμήμα του οργανισμού που ακτινοβολείται, το χρόνο έκθεσης και άλλες παραμέτρους. Την παρούσα μελέτη αφορά η ενέργεια απορρόφησης ολόσωμης ακτινοβολίας Wistar albino rats με 5Gy γ-ακτινοβολίας προερχόμενης από πηγή ⁶⁰Co (Gamma Chamber 400A, Isotope Group, Bhadha Atomic Research Company, Trombay, Bombay, India) με ρυθμό 3,2 Gy/min.

² *Οξειδωτικό στρες* (oxidative stress): διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου και ελευθέρων ριζών και της ικανότητας ενός συστήματος να αδρανοποιεί τα τοξικά αυτά μόρια και να επισκευάζει τις βλάβες που προκαλούν. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) βλάπτουν όλα τα συστατικά του κυττάρου.

4.7.2 ΜΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΒΟΛΙΑ

Η μη ιοντίζουσα ακτινοβολία είναι γενικός όρος για ακτινοβολίες και πεδία του τμήματος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που έχουν συχνότητες $0-10^{17}$ Hz, επομένως με ενέργειες φωτονίων που δεν είναι ικανές να προκαλέσουν ιονισμό των ατόμων που θα βρεθούν στην πορεία τους (ενέργεια φωτονίων $0-12,4\text{eV}$). Ωστόσο αυτού του είδους η ακτινοβολία είναι ικανή να προκαλέσει ηλεκτρικές, χημικές και θερμικές επιδράσεις στην ύλη. Το Η-Μ φάσμα χωρίζεται σε ζώνες συχνοτήτων (εικόνα 17) οι οποίες εμφανίζουν διαφορετικούς μηχανισμούς βιολογικής αλληλεπίδρασης.

Στην περιοχή των *ραδιοσυχνοτήτων* (RF), τα πεδία διεισδύουν μόνο σε μια μικρή απόσταση μέσα στο σώμα. Η ενέργεια από αυτά τα πεδία απορροφάται και μετασχηματίζεται στην κίνηση των μορίων. Μεταξύ αυτών των ταχέως κινούμενων μορίων αναπτύσσεται τριβή, η οποία οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτή η επίδραση χρησιμοποιείται σε οικιακές εφαρμογές, όπως η προθέρμανση τροφίμων σε φούρνους μικροκυμάτων και σε πολλές βιομηχανικές εφαρμογές, όπως θερμική συγκόλληση μετάλλων και πλαστικών. Τα επίπεδα των πεδίων RF του περιβάλλοντος διαβίωσης είναι πολύ χαμηλότερα από εκείνα που απαιτούνται για να παράγουν σημαντική ή μη αναστρέψιμη θέρμανση. Ωστόσο λαμβάνουν χώρα και μη θερμικές αλληλεπιδράσεις [76], οι οποίες είναι δύσκολο να ανιχνευτούν σε επίπεδο οργανισμού, επειδή δεν είναι άμεσα μετρήσιμες με κάποιο όργανο. Αντίθετα σε επίπεδο ακτινοβόλησης κυττάρων με αυξημένη δόση, ανιχνεύονται ως και θραύσεις του μορίου του DNA [77, 78].

Η έννοια της «δόσης» (συσσωρευμένη ενέργεια απορρόφησης) δεν υφίσταται στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων. Χρησιμοποιείται είτε η πυκνότητα ισχύος, είτε ο όρος του *ρυθμού ειδικής απορρόφησης* (*SAR - Specific absorption rate*) [79]. Ο τελευταίος αποτελεί μέγεθος που εκφράζει τον ρυθμό απορρόφησης της ακτινοβολίας ραδιοσυχνοτήτων από τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος, δηλαδή την ενέργεια που απορροφάται από ορισμένη μάζα ιστού μέσα σε ορισμένο χρόνο και μετριέται σε μονάδες ισχύος ανά μάζα (W/kg). Υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου:

$$SAR = \frac{1}{V} \int_{sample} \frac{\sigma(r)}{\rho(r)} |E(r)|^2 dr$$

όπου σ , ρ και V η ηλεκτρική αγωγιμότητα, η πυκνότητα και ο όγκος του ιστού αντίστοιχα και E το ηλεκτρικό πεδίο. Εκτεταμένη χρήση του μεγέθους γίνεται στα κινητά τηλέφωνα και οι κατασκευαστές αναγράφουν τον αντίστοιχο ρυθμό ειδικής απορρόφησης στο συνοδευτικό εγχειρίδιο για τις συσκευές που παράγουν. Τα τρέχοντα πρότυπα ασφάλειας υπολογίζονται με βάση τις θερμικές επιδράσεις των μικροκυμάτων στην οξεία έκθεση.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, εστιάζουμε στην αλληλεπίδραση της βιολογικής ύλης με το τμήμα των ραδιοκυμάτων που ανήκει στην κατηγορία των μικροκυμάτων UHF, τις συχνότητες DECT (Digital Enhanced Cordless Telecommunications) [80]. Η συνήθης ζώνη DECT διατίθεται χωρίς άδεια χρήσης και περιλαμβάνει τις συχνότητες 1880-1900 MHz. Διατίθεται αποκλειστικά για την τεχνολογία DECT, γι' αυτό και εξασφαλίζει τη σχεδόν χωρίς παρεμβολές λειτουργία των εφαρμογών της, οι οποίες είναι ασύρματα τηλέφωνα, συστήματα ενδοεπικοινωνίας (baby monitors) και τηλεχειριστήρια βιομηχανικών μηχανημάτων. Η τόσο διαδεδομένη χρήση της τεχνολογίας αυτής στην καθημερινότητα, καθώς και η χρόνια χρήση της, καθιστά απολύτως απαραίτητη τη μελέτη της αλληλεπίδρασής της με τους οργανισμούς, με στόχο τη διασφάλιση της υγείας των χρηστών της [76]. Εδώ και χρόνια καταγράφονται μη ειδικά συμπτώματα, τα οποία δεν χρήζουν γενίκευσης και λόγω του ευρύτατου φάσματος ακτινοβολίας έκθεσης, είναι εξαιρετικά δύσκολο να εντοπισθεί με σαφήνεια μια σχέση αιτίας-αποτελέσματος [81].

Στο παρόν κείμενο, γίνεται μια προσπάθεια καταγραφής των διηλεκτρικών μεγεθών της παρεγκεφαλίδας αρουραίων (rat cerebellum) που έχουν εκτεθεί σε DECT συχνότητες μετά ή και πριν τη γέννηση τους, αλλά και control ζώων, με στόχο τη σύγκρισή τους. Περισσότερες πληροφορίες για όλους τους ιστούς που εξετάστηκαν δίνονται στην ακόλουθη παράγραφο.

4.8 ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΚΩΔΙΚΕΣ ΟΝΟΜΑΣΙΕΣ

Οι ιστοί που μελετήθηκαν, το στρες/η αλλοίωση που έχουν υποστεί, η προέλευσή τους καθώς και κάθε πιθανή χρήσιμη πληροφορία παρουσιάζονται με τη σειρά που θα αναφερθούν στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων, ομαδοποιημένοι στους ακόλουθους πίνακες.

Σε πρώτο στάδιο, μελετήθηκαν διάφορα τμήματα ενός αρουραίου (rat32 – πίνακας 1), που ζώα αναπαράχθηκε και διατηρήθηκε στο εκτροφείο του τομέα Κυτταρικής Βιολογίας και Βιοφυσικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ) (Ερευνητική ομάδα Καθ. Α. Μαργαρίτη).

Πίνακας 1. Ιστοί από το ίδιο υγιές ζώο (αρουραίος rat32).

control rat tissues (rat32)			
tissue	code	type of stress	dose
Cerebellum (brain)	Rat32_CER	control	none
Half brain	Rat32_HB	» »	» »
Hippocampus (brain)	Rat32_HIP	» »	» »
liver	Rat32_LIVER	» »	» »

Στη συνέχεια διάφορα πειραματόζωα εκτέθηκαν σε ολόσωμη ακτινοβολία DECT προερχόμενη από τη βάση ενός ασύρματου τηλεφώνου για τους πειραματικούς σκοπούς της ερευνητικής ομάδας Ηλεκτρομαγνητικής Βιολογίας του ΕΚΠΑ και οι ιστοί παρεγκεφαλίδας προωθήθηκαν στο εργαστήριο Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας του ΕΜΠ. Λεπτομέρειες για τους ιστούς (DECT και control-μάρτυρας) δίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 2).

Οι ιστοί δέρματος που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της επίδρασης της γ-ακτινοβολίας, προέρχονται από WISTAR ALBINO αρουραίους ηλικίας δύο μηνών. Τα πειραματόζωα αναπαράχθηκαν και διατηρήθηκαν στο εκτροφείο του Ινστιτούτου Βιοεπιστημών και Εφαρμογών του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος» σε συνεργασία με το Δρ. Δ. Κλέτσα. Εκτέθηκαν σε 5 Gy γ-ακτινοβολίας με ρυθμό 3.2 Gy/min. Η ακτινοβολία προέρχεται από πηγή ^{60}Co (Gamma Chamber 4000A, Isotope Group, Bhadha Atomic Research Company, Trombay, Bombay, India). Δύο μέρες μετά την ακτινοβολία, τα ζώα θυσιάστηκαν και έγινε η λήψη των ιστών δέρματος και η απευθείας αποθήκευσή τους στους 4⁰C. Δείγματα και κωδικοί φαίνονται στον πίνακα (πίνακας 3). Η πάροδος 2 ημερών κρίθηκε αναγκαία ώστε να μελετηθούν τυχόν συστημικά φαινόμενα της ιοντίζουσας ακτινοβολίας.

Πίνακας 2. Ιστοί παρεγκεφαλίδας αρουραίου (rat cerebellum). Διατηρήθηκε η κωδικοποίηση του εκτροφείου για να είναι δυνατή η ταυτοποίηση. Γενικά κωδικοί που περιέχουν τα S και E αναφέρονται σε exposed to DECT.

RAT CEREBELLUM				
code	Type of stress	Dose	sex	age
cerE1.4	DECT	prenatally	male	3 months
cerS1.1.5	» »	» »	» »	» »
cerS2.1.4	» »	» »	» »	» »
c3.3	control	none	» »	» »
cer3.1b	» »	none	» »	» »
cerE2.1	DECT	prenatally+1month after birth	» »	1 month
cerE2.2	» »	» »	» »	» »
cer31	control	none	» »	1,5-2 months
cer32	» »	» »	» »	» »
cer33	» »	» »	» »	» »
cer34	» »	» »	» »	» »
cerEXP8	DECT	prenatally+1month after birth	female	2 months
cerC3.1	control	none	» »	» »

Πίνακας 3. Ιστοί δέρματος αρουραίου. Κάθε δείγμα περιλαμβάνει δύο ιστούς, τον ακτινοβολημένο και τον control.

RAT SKIN			
code	type of stress	dose (full-body)	age
sample1	γ-radiation	5Gy	2months
	control	none	» »
sample2	γ-radiation	5Gy	» »
	control	none	» »



Εικόνα 18. Ιστός δέρματος αρουραίου τοποθετημένος στο κάτω ηλεκτρόδιο. Ένα δεύτερο ηλεκτρόδιο γνωστής διαμέτρου τοποθετείται από πάνω και σχηματίζεται ο πυκνωτής.

Οι ανθρώπινοι ιστοί πνεύμονα προέρχονται από βιοψίες που έγιναν από την ομάδα Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Οι ιστοί, αφού αποκτηθούν κατά τη χειρουργική βιοψία, αποθηκεύονται στους -80°C , χωρίς την προσθήκη κρυοπροστατευτικού. Κάθε ζευγάρι δειγμάτων αποτελείται από ένα τμήμα ιστού από την παθολόγο περιοχή και ένα δεύτερο, από μια περιοχή απομακρυσμένη από τη βλάβη, που χρησιμεύει ως control. Για κάθε ένα από τα ιστοτεμάχια, πάρθηκαν λεπτές τομές για χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη (βλέπε παράγραφο 3,6) και έγινε αξιολόγηση των ιστών στο μικροσκόπιο σε δεύτερο χρόνο. Οι πληροφορίες που προέκυψαν από την αξιολόγηση αυτή βρίσκονται επιγραμματικά στην τελευταία στήλη του πίνακα 4.

Πίνακας 4. Ιστοί ανθρώπινου πνεύμονα με τα αποτελέσματα της αξιολόγησης τους

Lungs (human)			
code	type of stress	Ιστολογία	Μικροσκόπιο
32T	Αδενοκαρκίνωμα	Στάδιο 2, χαμηλής διαφοροποίησης	Περιφερικά υπάρχουν βιώσιμα καρκινικά κύτταρα, κεντρικά υπάρχει νέκρωση (~25% του όγκου)
sample1			Εικόνα πνευμονικού παρεγχύματος χωρίς στοιχεία νεοπλασματικού ιστού, με παρουσία σε μεγάλη έκταση αδενοκυψέλων που
32N	control	απομακρυσμένος ιστός	

				περικλείουν αέρα.
sample2	43T	Πλακώδες καρκίνωμα	Στάδιο άγνωστο, χαμηλής διαφοροποίησης	Υπερισχύει ποσοτικά ο νεκρωμένος ιστός (~75%)
	43N	control	απομακρυσμένος ιστός	
sample3	28T	Αδενοκαρκίνωμα	Στάδιο άγνωστο, μέτριας διαφοροποίησης	
	28N	control	απομακρυσμένος ιστός	

Οι ιστοί προστάτη προέρχονται από βιοψίες με βελόνα (18-core needle biopsies) που έγιναν στο διαγνωστικό κέντρο «Ηχοδιαγνωστική Τομογραφία», με την έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς. Ασθενείς που θα υποβάλλονταν σε βιοψία με βελόνα για να αξιολογηθεί η κλινική τους κατάσταση, δέχθηκαν να παραχωρήσουν δύο επιπλέον ιστοτεμάχια για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης: ένα από την περιοχή που έκρινε ο γιατρός ως ύποπτη για βλάβη και ένα από απομακρυσμένο υγιές σημείο (control). Ακολουθούσαν εντελώς ανεξάρτητα η DRS μέτρηση και η ιστολογικές εξετάσεις και τα αποτελέσματα συγκρίνονται στο τέλος για την εύρεση πιθανής συστηματικότητας. Το σχήμα των ιστών είναι κυλινδρικό, διαμέτρου ~1mm και μήκους 10-15cm.

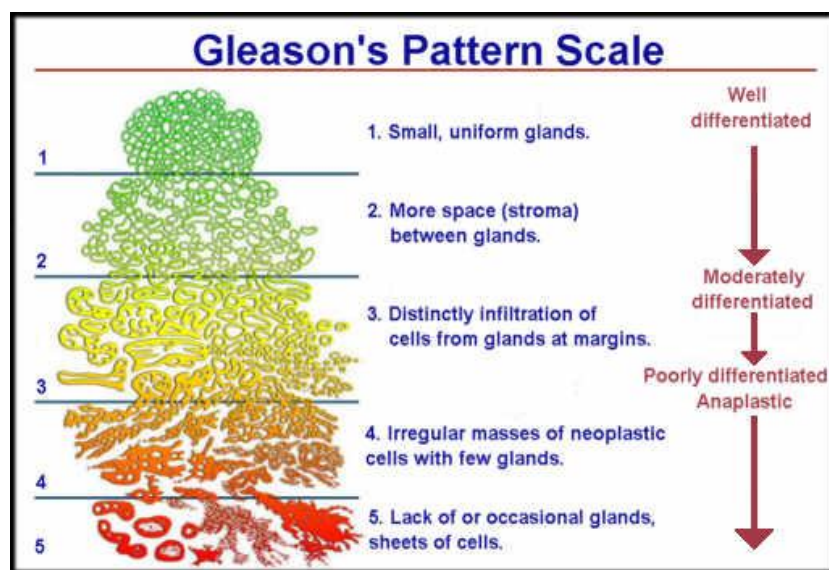
Πίνακας 5. Ιστοί ανθρώπινου προστάτη και τα αποτελέσματα της αξιολόγησής τους από παθολογοανατόμο. Τα σχόλια επεξηγούν τα αποτελέσματα της ιστοπαθολογικής ταξινόμησης της προηγούμενης στήλης.

Prostate (human)				
code	Βιοψία	Gleason score	Ιστοπαθολογική ταξινόμηση pTNM (Tumor-Nodes-Metastasis) ³	σχόλια
prostate1	malignant Διθητικό αδενοκαρκίνωμα	8	T3cNxMx	ο όγκος είναι καθηλωμένος ή διηθεί γειτονικές περιοχές, μη εκτιμήσιμοι λεμφαδένες και μετάσταση
	normal	control		

³ Για τη σταδιοποίηση του καρκίνου του προστάτη χρησιμοποιείται η 7^η έκδοση του TNM (Tumor-Node-Metastasis) της Διεθνούς Ένωσης κατά του Καρκίνου (UICC) που περιγράφει την κατάσταση του όγκου, των λεμφαδένων και της μετάστασης αν υπάρχουν.

prostate2	malignant	Διθηθητικό αδενοκαρκίνωμα	8	T2bNxMx	ο όγκος καταλαμβάνει παραπάνω από το μισό του ενός λοβού, μη εκτιμήσιμοι λεμφαδένες και μετάσταση
	normal	control			
prostate3	malignant	Διθηθητικό αδενοκαρκίνωμα	6	T2cNxMx	Ο όγκος εκτίνεται και στους δύο λοβούς, μη εκτιμήσιμοι λεμφαδένες και μετάσταση
	normal	control			

Το Gleason score είναι πληροφορία που παρέχεται από τον παθολογοανατόμο, μετά από εφαρμογή χρώσης αιματοξυλίνης-ηωσίνης (παράγραφος 3.6) και αξιολόγηση στο μικροσκόπιο. Είναι ένα σύστημα 10 βαθμίδων που δείχνει πόσο έχουν χάσει την δομή τους τα κύτταρα του προστάτη. Όσο πιο επιθετικός είναι ο καρκίνος, τόσο πιο ασχημάτιστα (αδιαφοροποίητα) είναι τα κύτταρα και τόσο μεγαλύτερο το score. Τιμές στο Gleason score μέχρι 4 υποδηλώνουν καρκίνο σε πρώιμο στάδιο, γεγονός που στις μεγάλες ηλικίες (πάνω από 70 έτη) συνήθως χρειάζεται μόνο παρακολούθηση καθώς ο καρκίνος του προστάτη σε αυτή την μορφή και ηλικία εξελίσσεται πολύ αργά. Τιμές στο Gleason score 5 έως 7 σημαίνουν καρκίνο ο οποίος πρέπει να αντιμετωπιστεί με ολική αφαίρεση του προστάτη (ριζική προστατεκτομή) ή ακτινοβολία, ενώ Gleason score από 8 έως 10 υποδηλώνει έναν ιδιαίτερα επιθετικό καρκίνο, ο οποίος –εάν δεν είναι ήδη μεταστατικός- πιθανότατα θα εξελιχθεί σε 6 έως 24 μήνες, ανεξάρτητα από τη θεραπεία.

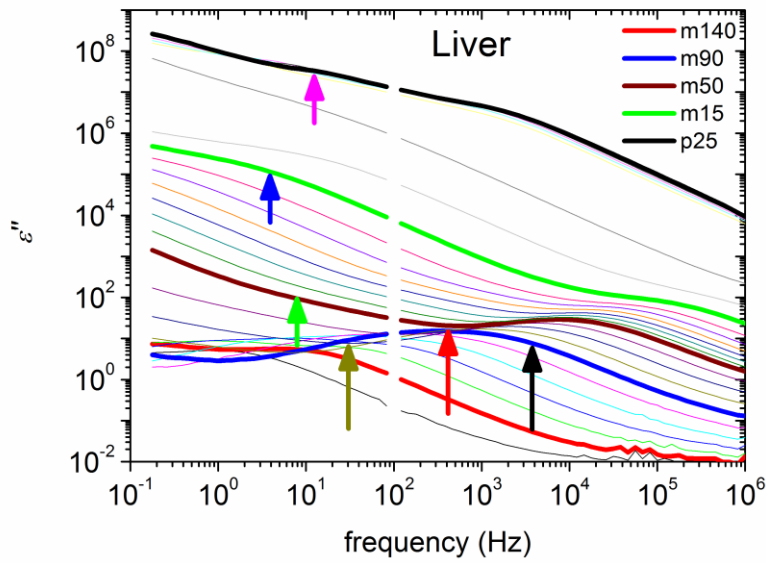
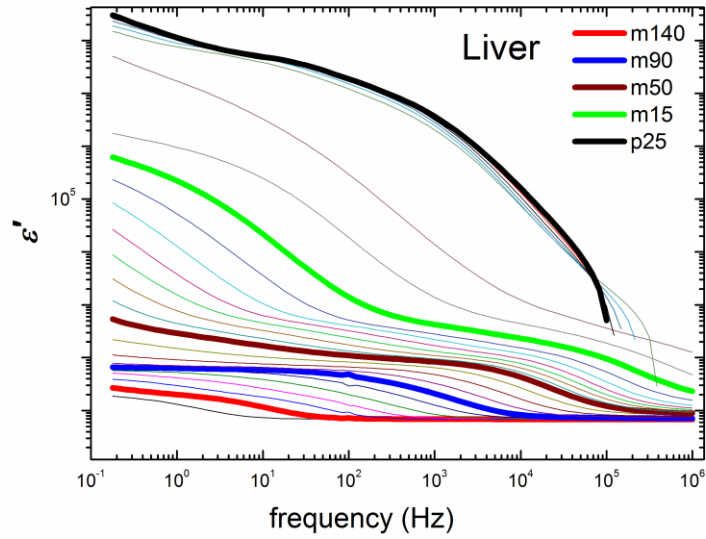


Εικόνα 19. Σχηματική αναπαράσταση της κλίμακας Gleason [82].

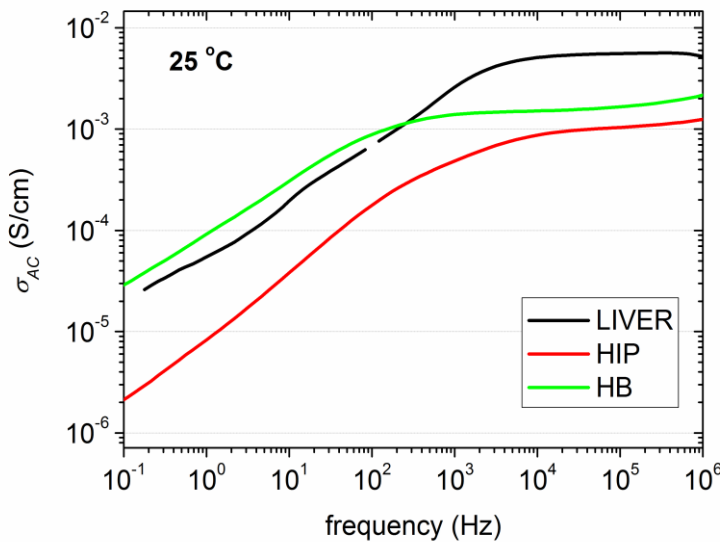
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΑΡΤΥΡΑ (CONTROL)

Οι πρώτες μετρήσεις έγιναν σε διάφορους ιστούς ενός control αρουραίου (rat32 πίνακας 1) και είχαν σκοπό μια πρώτη δοκιμή μέτρησης τέτοιων «δοκιμίων» με την τεχνική της Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας Εναλλασσόμενου Πεδίου ως προς τον χειρισμό, την ποιότητα του πυκνωτή και του σήματος που καταγράφεται. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά, καθώς καταγράφηκε ένα πλήρες φάσμα σε θερμοκρασίες 25 °C ως -150°C για κάθε δοκίμιο, χωρίς προβλήματα επαφής στον πυκνωτή, καθώς υπήρχε ο κίνδυνος να χάσει τον όγκο του το υλικό και να καταρρεύσει εντός της κυψελίδας. Κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε ούτε κατά τη μέτρηση, ούτε και κατά την αφαίρεση του πυκνωτή από την κυψελίδα. Αντίθετα, τα φάσματα που καταγράφηκαν είχαν χαρακτηριστικά πολλούς μηχανισμούς, για τους οποίους θα μιλήσουμε παρακάτω, στην ανάλυση των αποτελεσμάτων. Ακολουθούν αντιπροσωπευτικά φάσματα ε' και ε'' (σχήμα 1) καθώς και η αγωγιμότητα (διάγραμμα και πίνακας τιμών, σχήμα 2) που καταγράφηκε τους 25 °C. Περισσότερα πλήρη φάσματα, βρίσκονται στο Παράρτημα.



Σχήμα 1. Το φάσμα του πραγματικού (ϵ') και του φανταστικού (ϵ'') μέρους της διηλεκτρικής συνάρτησης (πάνω και κάτω αντίστοιχα) για θερμοκρασίες 25 °C ως -150°C για το ήπαρ αρουραίου (rat liver). Στο ϵ'' , που σχετίζεται με τις διηλεκτρικές απώλειες, τονίζονται με βέλη οι διαφορετικοί μηχανισμοί που εντοπίζονται. Η συχνότητα 10²Hz έχει διαγραφεί στην προκειμένη περίπτωση για τεχνικούς λόγους (πρόκειται για τη διπλάσια συχνότητα από αυτή του ηλεκτρικού ρεύματος του κτιρίου και σε ορισμένες περιπτώσεις εμφανίζει ασυνέχειες στα αποτελέσματα)

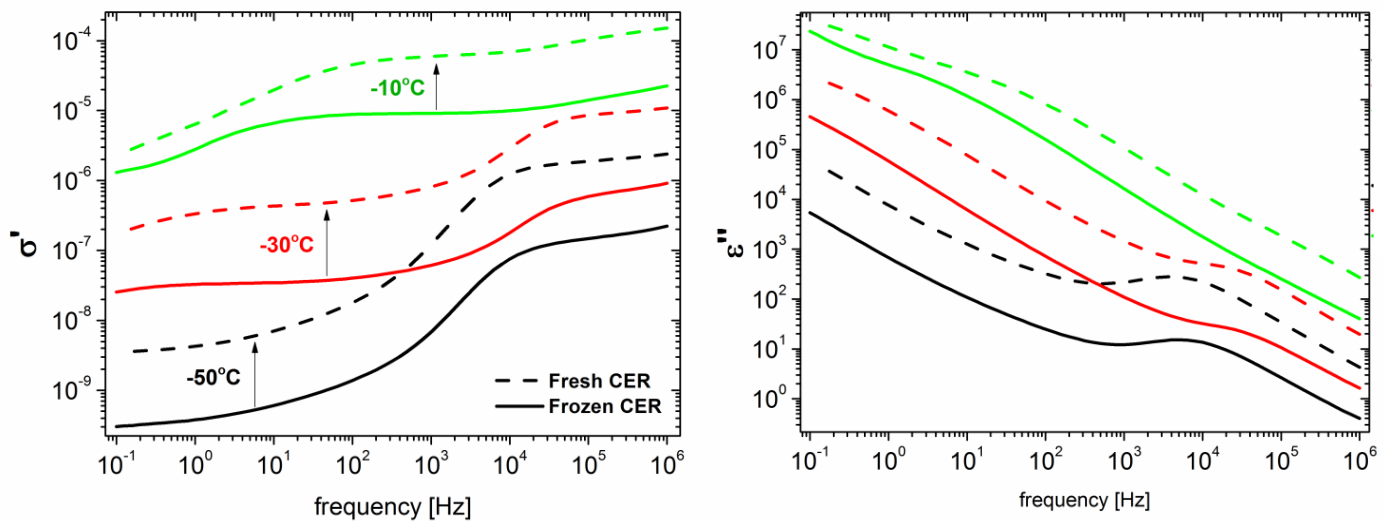


at T=25° C	σ_{DC} (S/cm)
Liver	$5,6 \cdot 10^{-3}$
Hippocampus	$1,5 \cdot 10^{-3}$
Half Brain	$1 \cdot 10^{-3}$
Cerebellum	No plateau

Σχήμα 2. Το φάσμα του πραγματικού μέρους της αγωγιμότητας (σ_{AC}) στους 25 °C και οι τιμές της αγωγιμότητας συνεχούς (όπου σχηματίζεται πλατώ) στον πίνακα.

Ο λόγος που δίνετε έμφαση στη θερμοκρασία των 25 °C είναι το γεγονός της εγγύτητάς της με τη θερμοκρασία του οργανισμού σε συνθήκες λειτουργίας. Είναι η υψηλότερη θερμοκρασία που μπορούμε να μετρήσουμε με ασφάλεια μέσα στην κυψελίδα. Οι τιμές που δίνονται στον πίνακα (τιμές εκεί που υπάρχει πλατώ $\sim 10^5$ Hz) είναι πολύ κοντά σε εκείνες της βιβλιογραφίας [7, 83].

Οι ιστοί του rat32, μετά την θανάτωση του πειραματόζωου αποθηκεύτηκαν στους -80 °C και τα DRS πειράματα έγιναν σε δεύτερο χρόνο. Επιχειρήθηκε μια σύγκριση με τα αποτελέσματα ενός παλιότερου πειράματος της Δρ. Παναγοπούλου Άνας σε ιστούς που δεν είχαν καταψυχθεί (fresh Vs frozen). Παρατίθεται το συγκριτικό διάγραμμα των fresh και frozen ιστών παρεγκεφαλίδας (σχήμα 3). Όπως και στα υπόλοιπα είδη ιστών, παρατηρήθηκε σχεδόν παραλληλία στη συμπεριφορά (ποιοτική ομοιότητα) των ιστών σε όλα τα μεγέθη, καθώς επίσης είναι αξιοσημείωτη η εμφάνιση κοινών μηχανισμών. Αυτό αποτελεί μια ένδειξη για το πόσο ανέπαφος παραμένει ένας ιστός που καταψύχεται στους 80 °C. Η ποσοτική διαφορά ενδεχομένως κα κρύβει μείωση στα ποσοστά νερού στον παγωμένο ιστό. Δεδομένου όμως του γεγονότος ότι πρόκειται για δύο πειράματα που έγιναν από δύο διαφορετικούς ανθρώπους και σε διαφορετικό χρόνο (ενδεχομένως και συνθήκες), δε μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα, όμως η σύγκριση αυτή αποτέλεσε την αφορμή για EDI μετρήσεις σε επόμενους ιστούς.



Σχήμα 3. Παρεγκεφαλίδα αρουραίου (CER): Συγκριτικά διαγράμματα διαφόρων θερμοκρασιών ιστού που έχει καταψυχθεί (frozen) με ιστό που έχει μόλις ληφθεί από θανάτωση ζώου (fresh). Είναι εμφανής η ομοιότητα των μηχανισμών που καταγράφονται (ϵ'') και στις δύο περιπτώσεις.

EDI ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

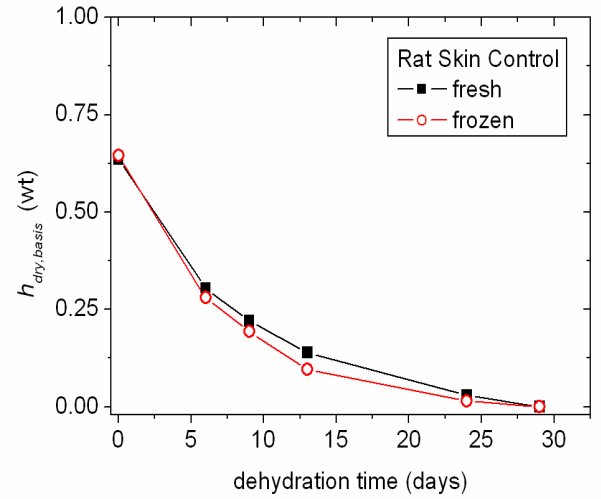
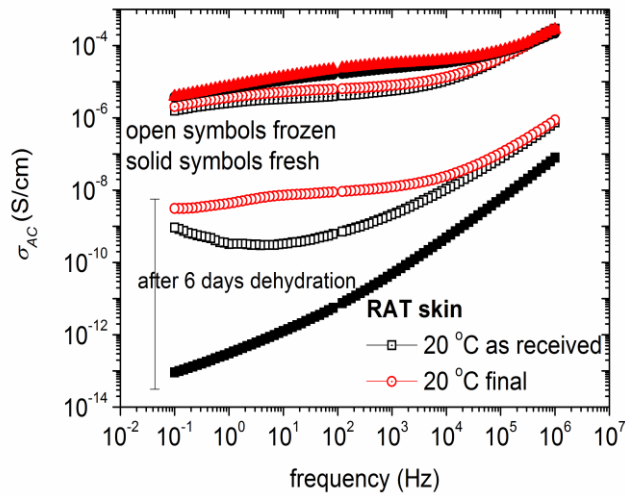
Τα πειράματα ισόθερμης αφυδάτωσης έδειξαν ότι δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά στο ποσοστό νερού των ιστών κατά τη διάρκεια των μετρήσεων ($h_{\text{during measurement}} - h_{\text{ambience}}$), παρά τη ροή αζώτου από την κυψελίδα και τη θερμική καταπόνηση στην οποία υπόκεινται. Επιβεβαιώνεται η ύπαρξη μεγάλου ποσοστού νερού στους ιστούς των πνευμόνων και του εγκεφάλου και λιγότερο στο δέρμα, χωρίς να μπορεί να θεωρηθεί ότι οι τιμές που προέκυψαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ακριβή ποσοστά νερού σε ένα οργανισμό, διότι η συγκεκριμένη μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για κάτι τέτοιο. Τα αποτελέσματα βρίσκονται στον ακόλουθο πίνακα. Το τελευταίο σεντ μετρήσεων του πίνακα, αφορά μια εκτίμηση του ποσοστού νερού ενός τμήματος δέρματος αρουραίου control που είχε υποστεί φύλαξη στους $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (frozen) και ενός δεύτερου που είχε μόλις αφαιρεθεί από το πειραματόζωο (fresh). Οι EDI εκτίμηση του νερού των δύο ιστών, δε δείχνει ουσιαστική διαφορά μεταξύ τους. Συνεπώς αποφασίστηκε να συνεχιστούν τα πειράματα χρησιμοποιώντας κατεψυγμένους ιστούς, για τη διευκόλυνση της ροής των απαιτούμενων εργασιών (θανάτωση πειραματόζωων, εξαγωγή ιστών, μεταφορά στο εργαστήριο και άμεση διεξαγωγή DRS μετρήσεων), διότι ο συντονισμός τους στα πλαίσια μίας ημέρας είναι πολύ δύσκολος ως ανέφικτος.

Πίνακας 6. Τα αποτελέσματα του πειράματος EDI για ιστούς παρεγκεφαλίδας και δέρματος αρουραίου, αλλά και ανθρώπινου δέρματος.

Tissue type	Stress	Sample code	$h_{ambience}$ (wt, on dry basis)	$h_{during\ measurement}$ (wt, on dry basis)
RAT cerebellum	DECT	exp8	0.79	0.76
		E1.4	0.80	0.75
	control	C3.1	0.81	0.77
		C3.3	0.80	0.77
HUMAN lung	cancer	32T	0.81	0.76
		43T	0.79	-
	control	32N	0.77	0.72
		43N	0.77	-
RAT skin	Fresh (control)		0.47	0.44
	frozen		0.49	0.46

Με αφορμή τις μετρήσεις EDI και αφού οι πυκνωτές του δέρματος αρουραίου (fresh-frozen που προαναφέρθηκαν) παρέμεναν ανέπαφοι για αρκετό καιρό λόγω της γεωμετρίας και της φύσης του ιστού, έγινε επαναληπτική μέτρηση DRS έπειτα από 6 ημέρες παραμονής τους στον ξηραντήρα (σχήμα 4). Σκοπός ήταν να δούμε αν και πως καταγράφεται η απώλεια νερού από το σύστημα. Στο διάγραμμα αγωγιμότητας που ακολουθεί παρουσιάζονται δύο θερμοκρασίες που αντιστοιχούν στην πρώτη (as received) και τη δεύτερη φορά (final) που το πείραμα φτάνει στους 20 °C. Υπενθυμίζεται ότι ο κύκλος θερμοκρασίας μιας μέτρησης ξεκινά από 20 °C ως -150 °C και επιστρέφει στους 20 °C.

Πράγματι, παρατηρήθηκε μείωση στην τιμή της αγωγιμότητας και ποιοτική αλλαγή στο φάσμα μέτρησης. Η μετακίνηση ή η εξαφάνιση ορισμένων μηχανισμών ήταν αναμενόμενη. Συγκεκριμένα αυτός που ονομάζεται α -dispersion είναι ο πρώτος που εξαφανίζεται μετά τον θάνατο του ιστού [84]. Η διαφορά της αρχικής με την μετά από 6 ημέρες μέτρηση, εξηγείται από την απώλεια νερού που καταγράφεται με τη μορφή απώλειας υδάτωσης (σχήμα 4 δεξιά), ωστόσο η διαφορά στην αγωγιμότητα μετά από 6 ημέρες μεταξύ fresh και frozen, δε μπορεί να αποδοθεί στο ποσοστό νερού (σχεδόν ίδιο $h_{dry\ basis}$).



Σχήμα 4. (αριστερά) Η αγωγιμότητα του δέρματος αρουραίου (rat skin) κατά την αρχική μέτρηση και την επαναληπτική (μετά από 6 ημέρες αφυδάτωσης) και η προφανής διαφορά τους. Οι θερμοκρασίες αντιστοιχούν στην πρώτη (as received) και τη δεύτερη φορά (final) που φτάνει στους 20 °C. (δεξιά) Η σταδιακή πτώση της υδάτωσης του ίδιου ιστού σε διάρκεια ενός μήνα.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ (RAT CEREBELLUM)

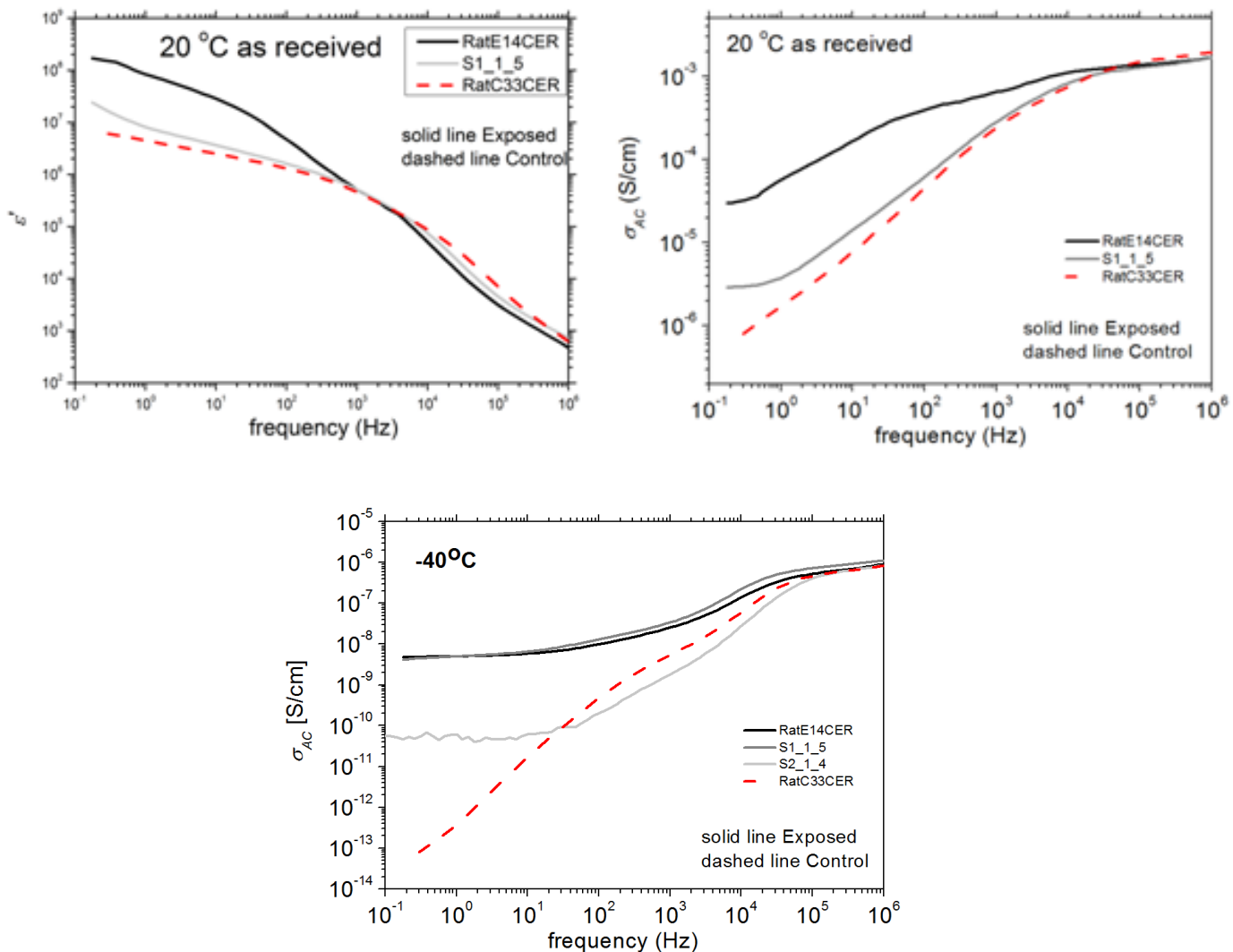
Οι ιστοί παρεγκεφαλίδας αρουραίων που υποβλήθηκαν σε DRS μέτρηση, ομαδοποιούνται στον ακόλουθο πίνακα με σκοπό να γίνει πιο εύκολη η σύγκριση τους ανά φύλο, ηλικία και «δόση» ακτινοβολίας. Ακολουθούν τα αποτελέσματα των ϵ' και σ_{AC} για τους 20 °C καθώς και η αγωγιμότητα σ_{AC} στους -40 °C. Τα φάσματα των αποτελεσμάτων ακολουθούν εν γένει το αναμενόμενο από τη βιβλιογραφία trend (εισαγωγικό κεφάλαιο). Ο σχηματισμός πλατώ αγωγιμότητας στις πολύ μικρές συχνότητες (0,1Hz) δηλώνει πως οι καταγραμμένες πολώσεις είναι ιδιότητες του υλικού (bulk properties) και δεν είναι blocking των ηλεκτροδίων.

Πίνακας 7. Ομαδοποίηση των ιστών ανά ηλικία, φύλο και δόση ακτινοβολίας προς σύγκριση. Τα I και II αντιπροσωπεύουν την ηλικιακή διαφορά, ενώ τα a και b τα exposed και controls αντίστοιχα.

RAT CEREBELLUM					
group	code	type of stress	dose	sex	age
Ia	cerE1.4	DECT	prenatally	male	3 months
	cerS1.1.5	» »	» »	» »	» »
	cerS2.1.4	» »	» »	» »	» »
Ib	c3.3	control	none	» »	» »
	cer3.1b	» »	none	» »	» »
IIa	cerE2.1	DECT	prenatally+1 month after birth	» »	1 month
	cerE2.2	» »	» »	» »	» »
IIb	cer31	control	none	» »	1.5-2 months
	cer32	» »	» »	» »	» »
	cer33	» »	» »	» »	» »
	cer34	» »	» »	» »	» »
IIc	cerEXP8	DECT	prenatally+1 month after birth	female	2 months
IIId	cerC3.1	control	none	» »	» »

Η προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία αρσενικών αρουραίων στον τρίτο μήνα της ζωής τους, δεν παρουσιάζει κάποια συστηματική διαφοροποίηση στη διηλεκτρική απόκριση των cerebellum στους 20 °C (σχήμα 5). Αντίθετα στους -40 °C καταγράφεται πλατό στις χαμηλές

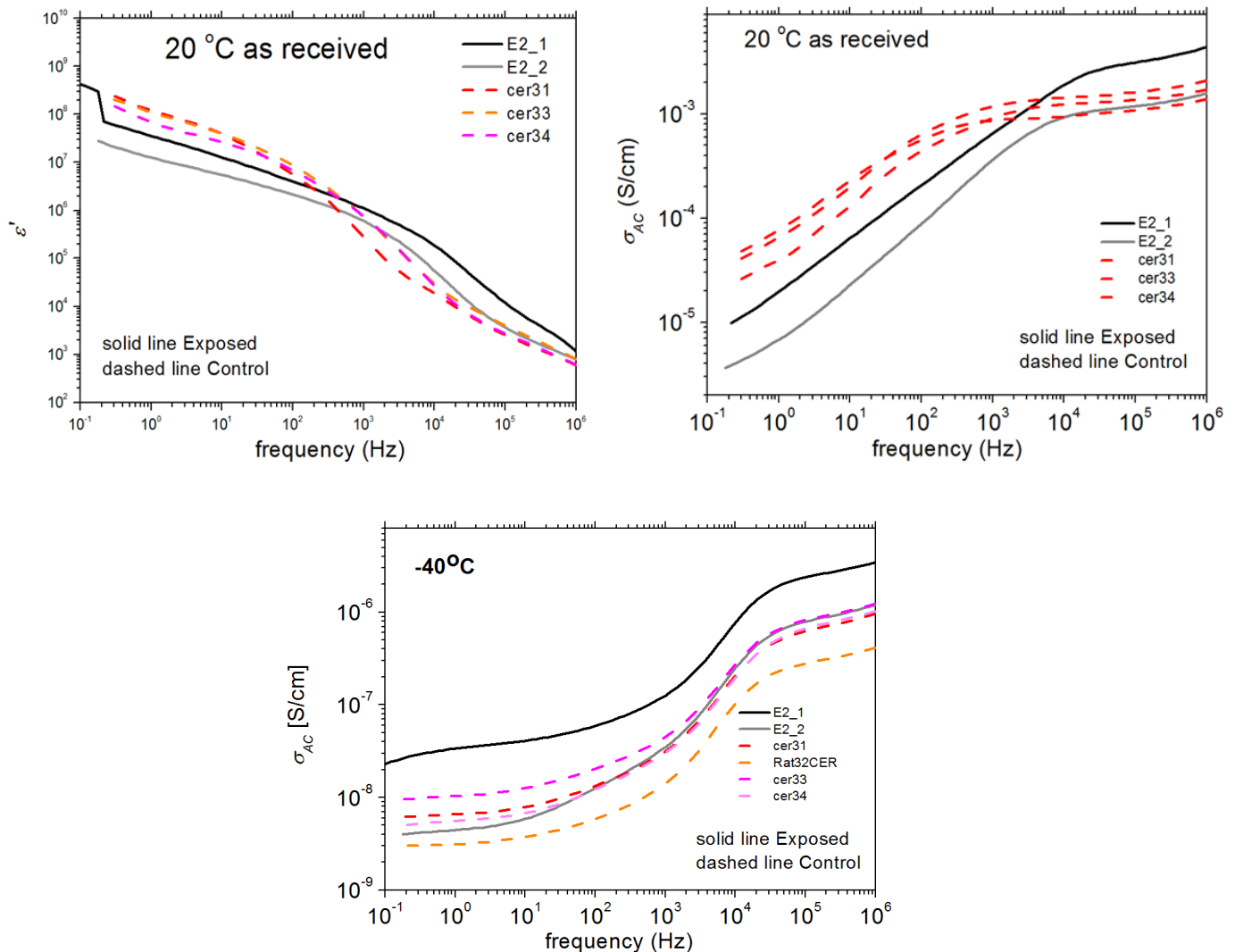
συχρότητες στα ζώα που ακτινοβολήθηκαν, χωρίς όμως να μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα, λόγω της ύπαρξης ενός μοναδικού control. Ωστόσο, στις μεγάλες συχνότητες οι τιμές αγωγιμότητας συγκλίνουν και ειδικότερα στους 20 °C συμφωνούν με τις βιβλιογραφικές τιμές [83], όπως θα δούμε και παρακάτω.



Σχήμα 5. Φάσματα του πραγματικού μέρους της διηλεκτρικής συνάρτησης, ϵ'' , και της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 και -40 °C ιστών παρεγκεφαλίδας αρσενικών αρουραίων ηλικίας 3 μηνών που έχουν υποστεί προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία (groups Ia και Ib του πίνακα7).

Αυξάνοντας τα επίπεδα έκθεσης, προσθέτοντας μια ακόμη ολόσωμη ακτινοβολία στον πρώτο μήνα ζωής των ζώων, αλλά μηδενίζοντας παράλληλα το χρόνο έμμεσης δράσης της ακτινοβολίας (τα πειραματόζωα που ακτινοβολήθηκαν θανατώθηκαν αμέσως μετά), καταγράφηκαν τα αποτελέσματα του σχήματος 6. Ομοίως με τα προηγούμενα, αν και υπάρχει μεγαλύτερος αριθμός δοκιμίων, δε μπορεί να ισχυριστεί κανείς με βεβαιότητα αν η ακτινοβολία DECT έχει

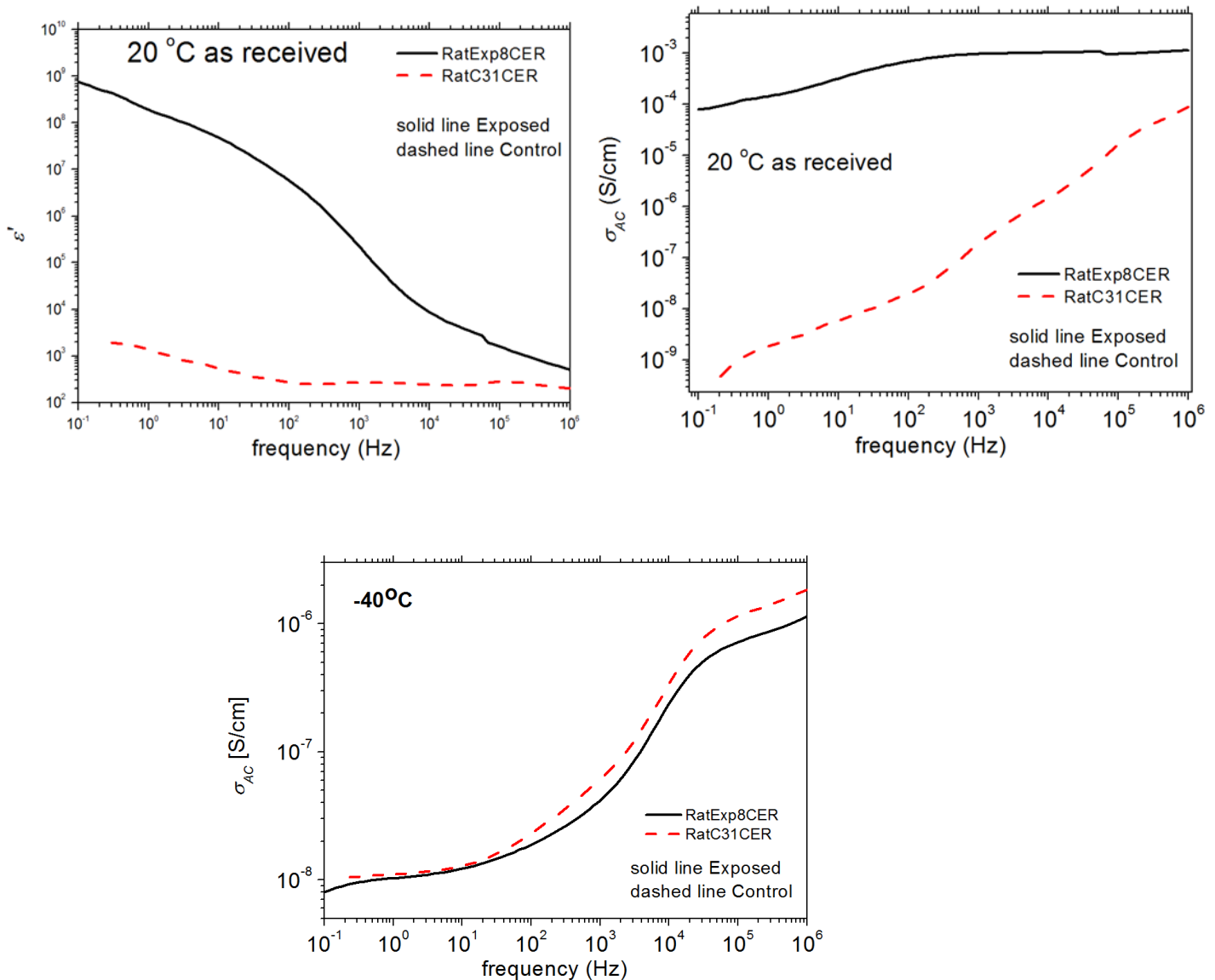
σαφή επίδραση στον εγκέφαλο. Ωστόσο είναι αξιοσημείωτη η ταύτιση των αποτελεσμάτων για τα control αυτού του είδους καθώς επίσης και η σύγκλιση τιμών αγωγιμότητας υπό τη μορφή πλατό στις μεγάλες συχνότητες στους 20 °C. Όμοια και στον πάγο, δεν εντοπίζεται σαφής διαφορά στις διηλεκτρικές ιδιότητες.



Σχήμα 6. Το πραγματικό μέρος της διηλεκτρικής συνάρτησης, ϵ' , και της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 και -40 °C ιστών παρεγκεφαλίδας αρσενικών αρουραίων ηλικίας 1-2 μηνών που έχουν υποστεί προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία και θανάτωση έπειτα από επαναληπτική έκθεση σε ηλικία 1μήνα (groups IIa-IIb του πίνακα7).

Αλλάζοντας το φύλο, εφαρμόζοντας την ίδια καταπόνηση, αλλά παρατείνοντας το χρόνο θανάτωσης κατά ένα μήνα (female rat exposed prenatally and 1 month after birth, 2 months old Vs 2 months old control), η εικόνα αλλάζει στους 20 °C (σχήμα 7 πάνω). Σε όλο το φάσμα, ϵ' και σ_{AC} του καταπονημένου ιστού ξεπερνούν κατά ολόκληρες τάξεις μεγέθους εκείνα του control, έχοντας όμως συγκλίνουσα τάση στις μεγαλύτερες συχνότητες. Ενδεχομένως τα μεγέθη αυτά να συμφωνούσαν σε μια περιοχή συχνοτήτων εκτός παραθύρου. Εν όψη της σχετικής ταύτισης των

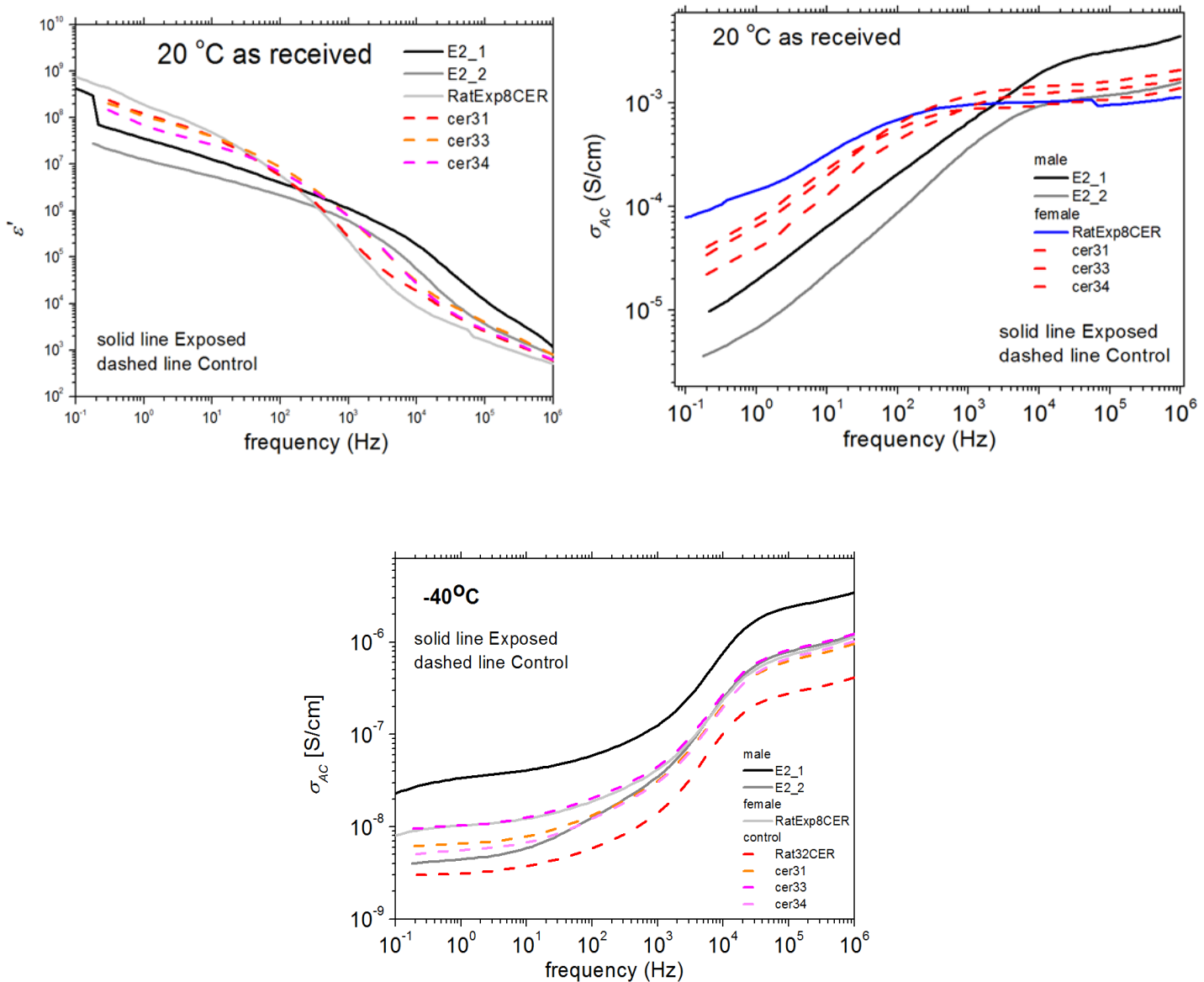
μεγεθών στους $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (σχήμα 7 κάτω) και της αδυναμίας επανάληψης του πειράματος, δε μπορεί να ισχυριστεί κανείς σε αυτήν την περίπτωση πως υπάρχει σαφής ανίχνευση αλλαγής των διηλεκτρικών μεγεθών που οφείλεται στην DECT ακτινοβολία.



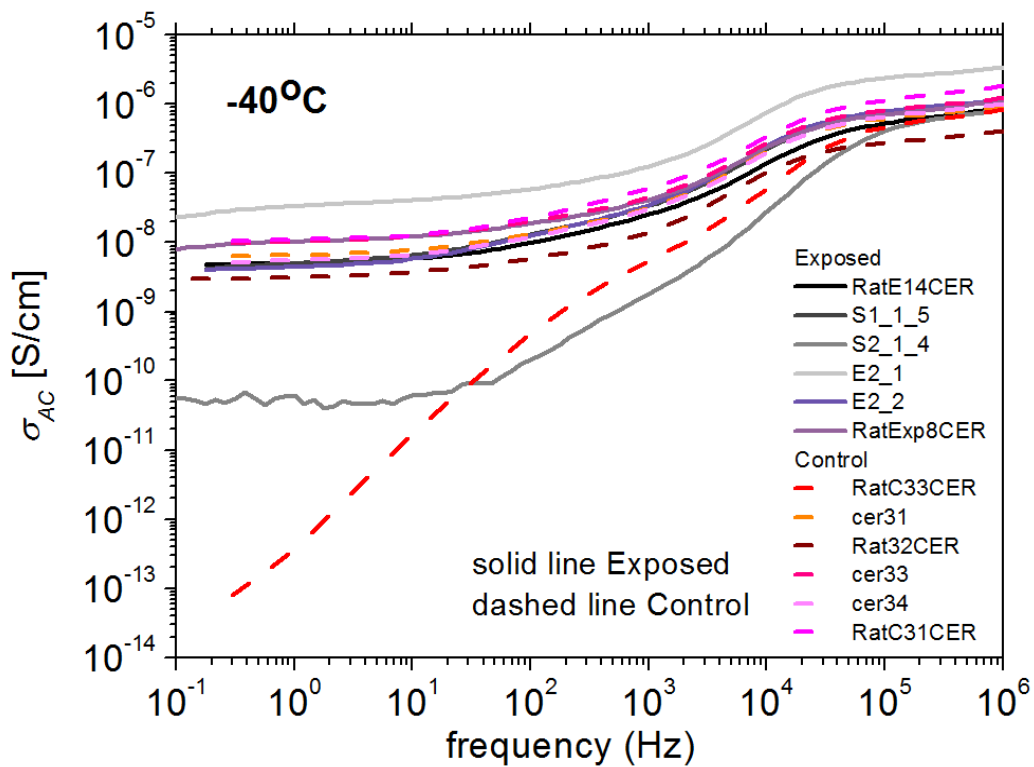
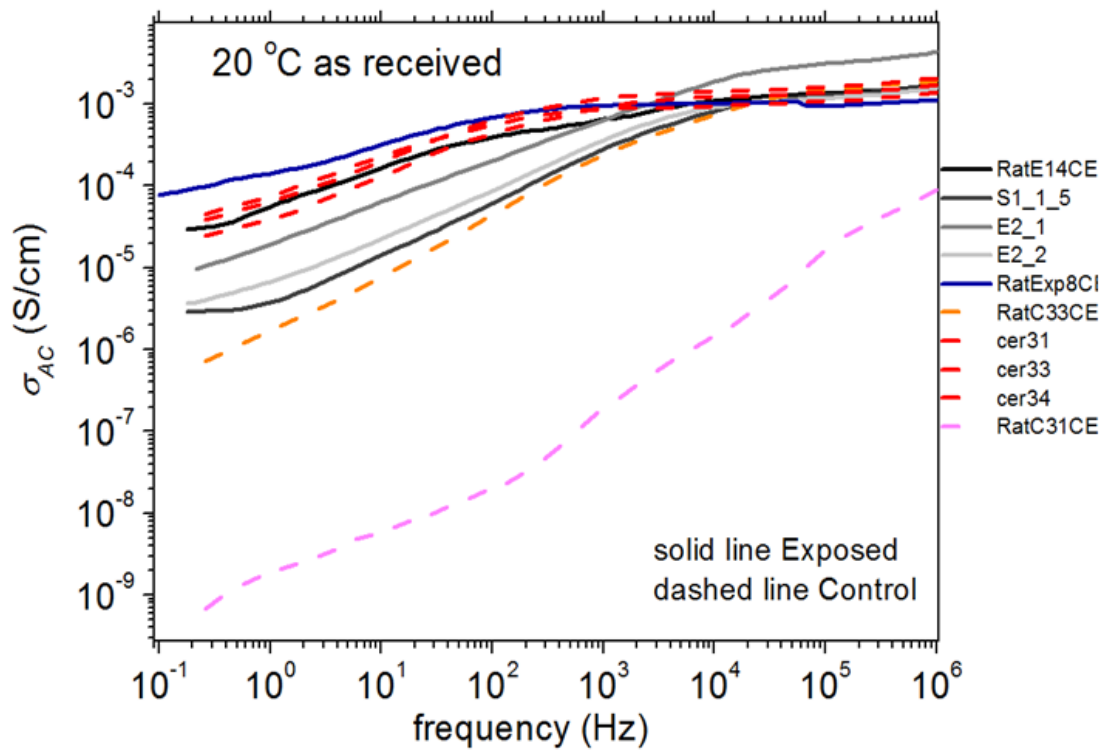
Σχήμα 7. Το πραγματικό μέρος της διηλεκτρικής συνάρτησης, ϵ' , και της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 και $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ιστών παρεγκεφαλίδας θηλυκών αρουραίων ηλικίας 2 μηνών. Το exp8 έχει υποστεί προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία, επαναληπτική έκθεση σε ηλικία ενός μήνα και θανάτωση σε ηλικία 2 μηνών (groups IIc-IId του πίνακα7). Το c3.1 είναι το control αντίστοιχης ηλικίας.

Ακόμη κι αν αγνοηθεί η παράμετρος του φύλου και του χρόνου θανάτωσης, συγκρίνοντας δηλαδή γενικότερα ιστούς που έχουν υποστεί προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία και επαναληπτική έκθεση σε ηλικία 1 μήνα, με αντίστοιχους control ιστούς (σχήμα 8), δεν προκύπτει

περαιτέρω συμπέρασμα, πέραν της εντυπωσιακής σύγκλισης των αποτελεσμάτων υπό τη μορφή πλατό στις μεγάλες συχνότητες στους 20 °C. Το ίδιο ισχύει για τη συντριπτική πλειοψηφία των μετρήσεων, όπως φαίνεται και στο σχήμα 9 όπου έχουν συμπεριληφθεί όλες οι μετρήσεις rat cerebellum. Εξαιρέση αποτελεί το δείγμα C31 (θηλυκός αρουραίος που έχει ακτινοβοληθεί πριν και μετά τη γέννησή του) η μέτρηση του οποίου έδωσε διαφορετική εικόνα αποτελεσμάτων στους 20 °C, όπως προαναφέρθηκε.



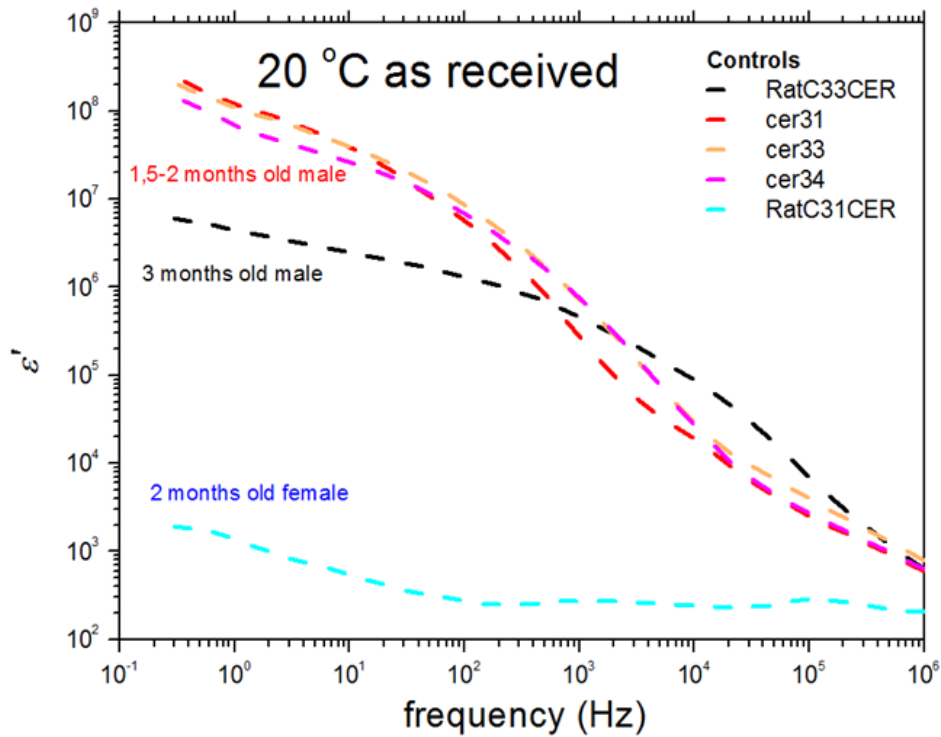
Σχήμα 8. Το πραγματικό μέρος της διηλεκτρικής συνάρτησης, ϵ' , και της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 και -40 °C ιστών παρεγκεφαλίδας αρουραίων που έχουν υποστεί προγεννητική έκθεση σε DECT ακτινοβολία, επαναληπτική έκθεση σε ηλικία ενός μήνα και θανάτωση σε ηλικία 1-2 μηνών (συμπαγείς γραμμές) και σύγκριση με τα αντίστοιχα controls (διακεκομμένες γραμμές) (groups IIa+c Vs IIb+d του πίνακα7).



Σχήμα 9. Το φάσμα της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 °C (έπάνω) και -40 °C (κάτω) ιστών παρεγκεφαλίδας αρουραίων που έχουν υποστεί έκθεση σε DECT ακτινοβολία (συμπαγείς γραμμές) και σύγκριση με control ιστούς (διακεκομμένες γραμμές).

ΓΗΡΑΝΣΗ

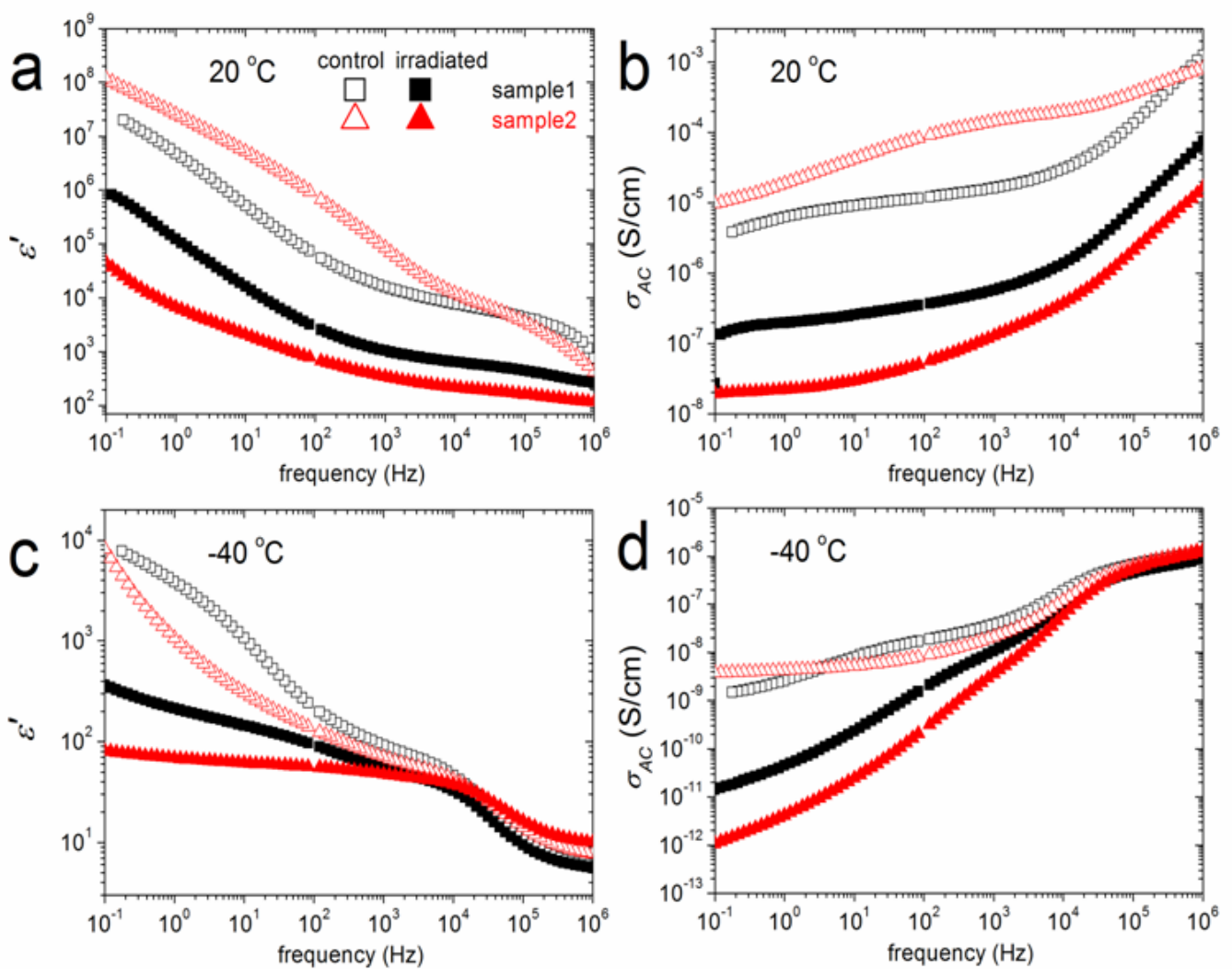
Διερευνήθηκε επίσης η πτώση της αγωγιμότητας των ιστών του εγκεφάλου με την πάροδο του χρόνου, γεγονός επιβεβαιωμένο από τη βιβλιογραφία στα 900MHz [85]. Στις χαμηλές συχνότητες, που είναι πολύ μικρότερες από αυτές της βιβλιογραφίας, και αν εξαιρέσει κανείς την ούτως ή άλλως «εξωτική» μέτρηση του δοκιμίου C3.1 (2 months old female), τα αποτελέσματα (σχήμα 10) δε φαίνεται να διαφωνούν με τη βιβλιογραφία.



Σχήμα 10. Το φάσμα της αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20 °C ιστών παρεγκεφαλίδας αρουραίων που έχουν δεν έχουν υποστεί κάποιο είδος καταπόνηση σε σχέση με την ηλικία των ζώων(groups Ib-IIb-IId του πίνακα7).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΙΟΝΤΙΖΟΥΣΑΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ (γ-ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΣΕ RAT SKIN)

Σε αντίθεση με την μη ιοντίζουσα ακτινοβολία, η γ-ακτινοβολία είναι πιο ισχυρή, το ίδιο και τα αποτελέσματά της σε έναν οργανισμό. Για το λόγο αυτό ενδεχομένως να δίνει και πιο ξεκάθαρα αποτελέσματα. Στο σχήμα 11 είναι εμφανείς οι μειωμένες τιμές ϵ' και σ_{AC} των ιστών που έχουν εκτεθεί σε τέτοια ακτινοβολία. Συστήνεται περαιτέρω διερεύνηση των δυνατοτήτων της μεθόδου ως προς την ανίχνευση βλαβών που προκαλείται από τόσο ισχυρή ακτινοβολήση. Ο μεγαλύτερος αριθμός πειραματόζων κρίνεται απαραίτητος.



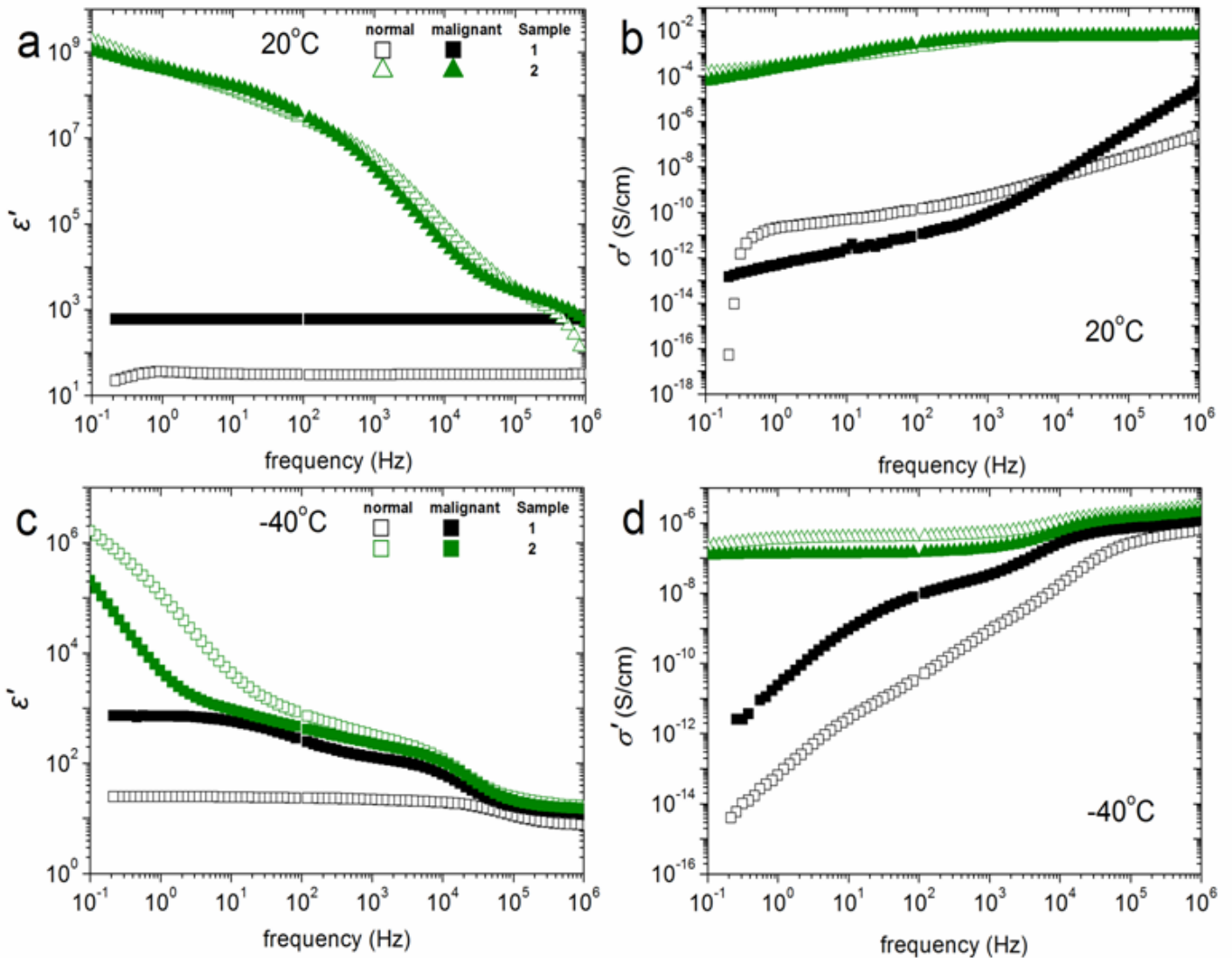
Σχήμα 11. Συγκριτικό DRS φάσμα του (a) πραγματικού μέρους της διηλεκτρικής συνάρτησης, ϵ' (f), και (b) της AC αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20°C και τους -40°C (c και d αντίστοιχα) του δέρματος αρουραίου. Τα συμπαγή σύμβολα (*) αναφέρονται στους ιστούς που έχουν εκτεθεί σε 5Gy γ-ακτινοβολίας, ενώ τα ανοιχτά σύμβολα (□) στα αντίστοιχα control.

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Μελετήθηκαν τρία ιστοτεμάχια ανθρώπινου πνεύμονα (πίνακας 4 προηγούμενου κεφαλαίου). Κατά τη μέτρηση του ιστού παθολογικού περιοχής του δεύτερου σετ στους 20 °C , καταγράφηκε ένα «άλμα» στη μέτρηση, που οφείλεται σε τεχνικούς λόγους και για το λόγο αυτό η συγκεκριμένη μέτρηση δε λαμβάνεται υπόψη στη συμπερασματολογία.

Τα φάσματα που καταγράφηκαν για τα δύο άλλα σετ (samples 1 και 3 normal and malignant) ακολουθούν τη γενικότερη μορφή των φασμάτων ιστών, αλλά με πολύ μεγάλη διαφορά στα διηλεκτρικά μεγέθη στις μικρές συχνότητες και σύγκλιση στις μεγάλες. Γνωρίζοντας την ευαισθησία των μεγεθών στην περιεκτικότητα σε νερό, αλλά και αέρα [14] , συστήνεται περισσότερη έρευνα επί του θέματος σε περισσότερους ιστούς.

Συγκρίνοντας την αγωγιμότητα στους 20 °C και στη συχνότητα των 10⁵Hz, οι τιμές συμφωνούν με εκείνες της βιβλιογραφίας [83] (πίνακας στην παράγραφο με θέμα την αγωγιμότητα), καθώς επίσης σε πρώτο στάδιο φαίνεται πως στη συγκεκριμένη συχνότητα οι υγιείς ιστοί εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές από τους καρκινικούς. Συστήνεται περαιτέρω έρευνα της ενδεχόμενης εξάρτησης των διηλεκτρικών μεγεθών από το ποσοστό νερού στον ιστό, αλλά και του τρόπου οργάνωσής του, καθώς όγκοι διαφορετικής διαφοροποίησης έχουν διαφορετική αρχιτεκτονική δομή.

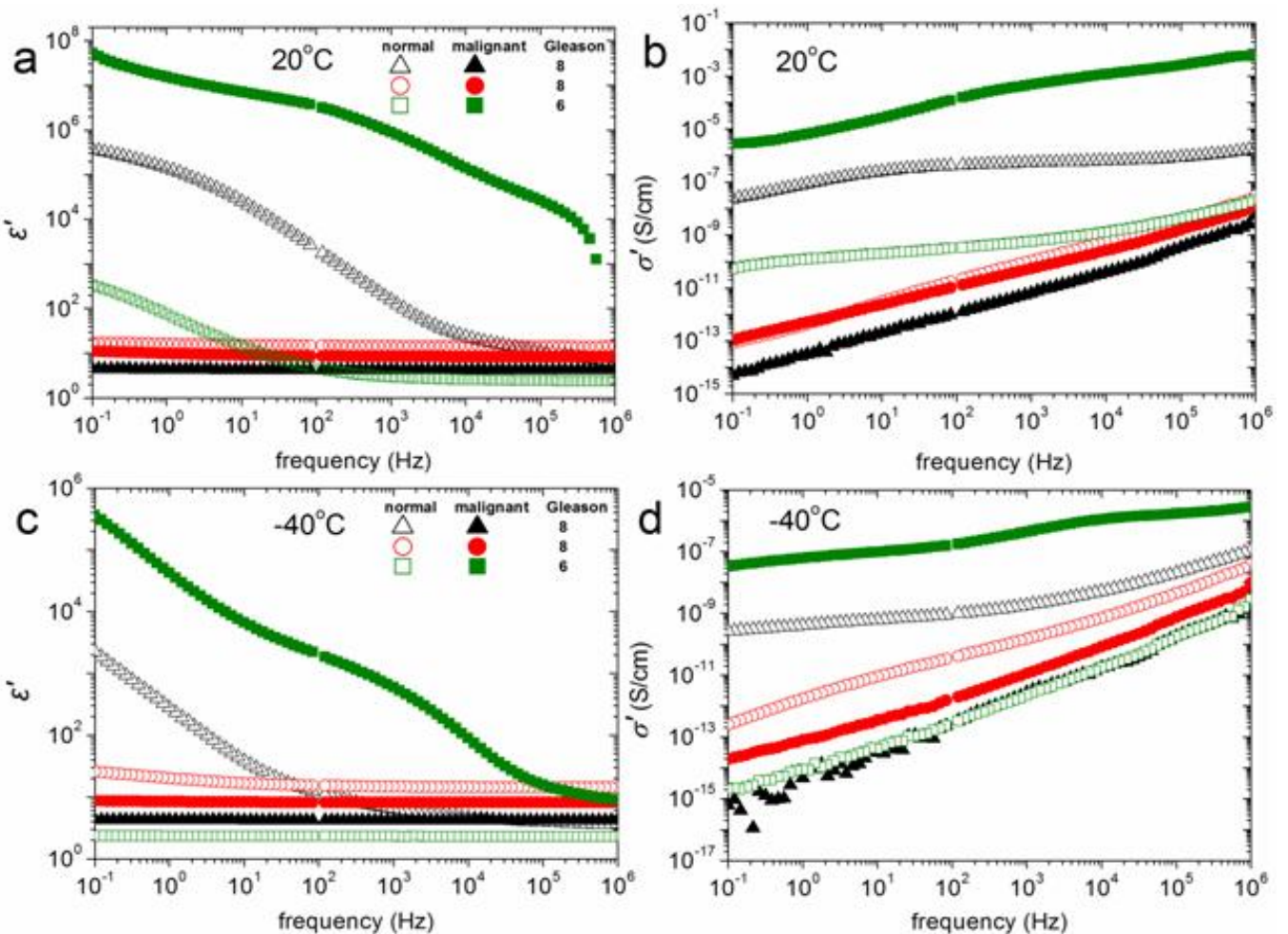


Σχήμα 12. Συγκριτικό DRS φάσμα (a) του πραγματικού μέρους της διηλεκτρικής επιδεκτικότητας, $\epsilon'(f)$, και (b) της AC αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20°C και τους -40°C (c και d αντίστοιχα) του ανθρώπινου ιστού διαφορετικών καρκινωμάτων του πνεύμονα. Τα συμπαγή σύμβολα(*) αναφέρονται στα καρκινώματα, ενώ τα ανοιχτά σύμβολα (□) σε ιστούς απομακρυσμένους από τη βλάβη, που χρησιμοποιούνται σαν control.

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Οι ηλεκτρικές ιδιότητες του προστάτη εξαρτώνται από την κυτταρική μορφολογία και φαίνεται να μπορούν να διακρίνουν τους καλοήθεις και τους κακοήθεις σχηματισμούς [86]. Επειδή και η διαβάθμιση Gleason βασίζεται στην αρχιτεκτονική των κυτταρικών δομών, εξετάζεται αν οι διηλεκτρικές ιδιότητες μπορούν να διακρίνουν μεταξύ καρκίνων με υψηλό και χαμηλό Gleason score.

Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τους 20 °C και τους 40 °C και για τα 3 σετ που μελετήθηκαν. Σε όλα τα μεγέθη φαίνεται να υπερισχύει ποσοτικά, αλλά και να διαφέρει και ποιοτικά, το σήμα του malignant με Gleason score 6, ενώ οι τιμές των άλλων δύο καρκινικών ιστών με Gleason 8 είναι κατά πολύ μικρότερες.



Σχήμα 13. Συγκριτικό DRS φάσμα (a) του πραγματικού μέρους της διηλεκτρικής επιδεκτικότητας, ϵ' (f), και (b) της AC αγωγιμότητας, σ_{AC} , στους 20°C και τους -40°C (c και d αντίστοιχα) του ανθρώπινου ιστού προστάτη διαφορετικού βαθμού Gleason. Τα συμπαγή σύμβολα (■) αναφέρονται στους κακοήθεις ιστούς, ενώ τα ανοιχτά σύμβολα (□) σε ιστούς απομακρυσμένους από τη βλάβη, που χρησιμοποιούνται σαν control.

Τα αποτελέσματα για κακοήθεις ιστούς μεγάλου Gleason score συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας [21, 87, 88], που θέλει τους καρκινικούς ιστούς προστάτη να έχουν μικρότερη μέση τιμή αγωγιμότητας σε σχέση με άλλες περιοχές του οργάνου. Πράγματι, η αγωγιμότητα των καρκινικών ιστοτεμαχίων στους 20 °C και τους 40 °C είναι μικρότερη από εκείνη των απομακρυσμένων από τη βλάβη ιστών. Φυσικά, είναι απαραίτητη η επανάληψη των πειραμάτων, με ιστούς που προέρχονται από προστατεκτομές. Με αυτόν τον τρόπο θα είναι δυνατή η καλύτερη πλήρωση του πυκνωτή, ενώ παράλληλα ενδέχεται να είναι δυνατή και η επαναληψιμότητα των μετρήσεων, καθώς θα υπάρχει περισσότερος ιστός. Επιπρόσθετα, η εξασφάλιση καλής πλήρωσης του πυκνωτή, θα οδηγήσει και σε πιο αξιόπιστες αριθμητικές τιμές των διηλεκτρικών μεγεθών, για να ξεφύγουμε από την ποιοτική σύγκριση και να περάσουμε σε πραγματικά μετρήσιμα μεγέθη.

ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

Στους πίνακες που ακολουθούν καταγράφονται οι τιμές της αγωγιμότητας, σ_{DC} (S/cm), για δύο θερμοκρασίες: τους 20 °C ως την πλησιέστερη στη θερμοκρασία λειτουργίας του οργανισμού και τους -40 °C για την παρατήρηση του πάγου. Στην αγωγιμότητα έχουμε συνεισφορά από διαφορετικούς μηχανισμούς, αλλά σε υλικά με υψηλή υδάτωση κυριαρχεί η ιοντική αγωγιμότητα. Σε μεγάλες συχνότητες η ιοντική αγωγιμότητα μηδενίζεται.

Το πλατώ που καταγράφεται στις μικρές συχνότητες υποδηλώνει την καταγραφή bulk ιδιοτήτων και όχι πολώσεων (μπλοκάρισμα) των ηλεκτροδίων. Για το λόγο αυτό καταγράφηκαν οι τιμές της αγωγιμότητας σε συχνότητα 1Hz.

Το δεύτερο πλατώ που σχηματίζεται σε μια γκάμα συχνοτήτων περί τα 10^5 Hz, αντιστοιχεί στα δίπολα του νερού και γενικά η αύξηση ή η μείωσή του αποτελεί χρήσιμο μέγεθος ένδειξης παθογένειας [18, 86]. Για το λόγω αυτό το κατεξοχήν χρήσιμο μέγεθος σε αυτή τη μελέτη είναι η αγωγιμότητα στους 20°C στα 10^5 Hz. Για να αποκτηθεί μια εικόνα της αξιοπιστίας των ποσοτήτων, συγκρίθηκαν οι τιμές των πινάκων με εκείνες της βιβλιογραφίας [83]. Όπου υπάρχει ικανός αριθμός δειγμάτων υπολογίζεται ο μέσος όρος, ενώ οι τιμές που συμφωνούν σε τάξη μεγέθους με τις βιβλιογραφικές εμφανίζονται στους πίνακες με πιο έντονους χαρακτήρες.

Τα σχόλια που ακολουθούν αφορούν μόνο τη θερμοκρασία των 20°C, καθώς η βιβλιογραφία που σχετίζεται με τις θερμοκρασίες στην περιοχή του πάγου είναι αρκετά φτωχή.

Πίνακας 8. Πίνακας τιμών αγωγιμότητας συνεχούς, έτσι όπως εκτιμήθηκε σε συχνότητα 10^5Hz όπου υπήρχε σχηματισμός πλατό στους 20°C και -40°C και στο 1Hz στους -40°C . Ο μέσος όρος στα 10^5Hz στην πλησιέστερη στον οργανισμό θερμοκρασία, υπολογίστηκε στα $1,13 \cdot 10^{-3} \text{ S/cm}$, τιμή πολύ κοντά στην βιβλιογραφική [83].

RAT CEREBELLUM CONDUCTIVITY, σ_{DC} (S/cm)						20°C at 10^5Hz	-40°C at 10^5Hz	-40°C at 1Hz
group	Code	type of stress	dose	sex	age			
Ia	cerE1.4	DECT	prenatally	male	3 months	$1,40 \cdot 10^{-03}$	$5,30 \cdot 10^{-07}$	$5,00 \cdot 10^{-09}$
	cerS1.1.5	» »	» »	» »	» »	$1,30 \cdot 10^{-03}$	$7,30 \cdot 10^{-07}$	$5,00 \cdot 10^{-09}$
	cerS2.1.4	» »	» »	» »	» »	$1,80 \cdot 10^{-08}$	$4,10 \cdot 10^{-07}$	$6,20 \cdot 10^{-11}$
Ib	c3.3	control	none	» »	» »	$1,50 \cdot 10^{-03}$	$4,70 \cdot 10^{-07}$	$3,80 \cdot 10^{-13}$
	cer3.1b	» »	none	» »	» »	$6,00 \cdot 10^{-10}$	$6,00 \cdot 10^{-07}$	$3,00 \cdot 10^{-09}$
IIa	cerE2.1	DECT	prenatally+1 month	» »	1 month	$3,10 \cdot 10^{-03}$	$2,40 \cdot 10^{-06}$	$3,40 \cdot 10^{-08}$
	cerE2.2	» »	after birth	» »	» »	$1,20 \cdot 10^{-03}$	$7,90 \cdot 10^{-07}$	$4,40 \cdot 10^{-09}$
IIb	cer31	control	none	» »	1,5-2 months	$1,10 \cdot 10^{-03}$	$6,20 \cdot 10^{-07}$	$6,60 \cdot 10^{-09}$
	cer32	» »	» »	» »	» »		$2,80 \cdot 10^{-07}$	$3,00 \cdot 10^{-09}$
	cer33	» »	» »	» »	» »	$1,60 \cdot 10^{-03}$	$8,20 \cdot 10^{-07}$	$1,00 \cdot 10^{-08}$
	cer34	» »	» »	» »	» »	$1,40 \cdot 10^{-03}$	$6,70 \cdot 10^{-07}$	$5,60 \cdot 10^{-09}$
IIc	cerEXP8	DECT	prenatally+1 month after birth	female	2 months	$1,00 \cdot 10^{-03}$	$7,20 \cdot 10^{-07}$	$1,00 \cdot 10^{-08}$
IIId	cerC3.1	control	none	» »	» »	$1,70 \cdot 10^{-05}$	$1,10 \cdot 10^{-06}$	$1,10 \cdot 10^{-08}$
					mean value	$1,13 \cdot 10^{-03}$		

Η αγωγιμότητα του rat skin (πίνακας 9) συγκλίνει σε ορισμένες περιπτώσεις με εκείνη που δίνεται από τη βιβλιογραφία για το dry skin ($4,5 \cdot 10^{-6} \text{ S/cm}$), ενώ σε άλλες με εκείνη του wet skin ($\sim 6,5 \cdot 10^{-4} \text{ S/cm}$). Οι τιμές του πίνακα κυμαίνονται σε αυτές τις τάξεις μεγέθους, γεγονός που ενδέχεται να σχετίζεται με τη μη αυστηρή οριοθέτηση των στρωμάτων δέρματος που μετρήθηκαν. Δεδομένης της λεπτεπίλεπτης φύσης των ιστών τέτοιου είδους, κρίνεται απαραίτητη μια πιο εκτεταμένη μελέτη με περισσότερα δείγματα και στοχευόμενη στην ποσοτική αυστηροποίηση της αγωγιμότητας μέσω καλύτερης στατιστικής.

Πίνακας 9. Πίνακας τιμών αγωγιμότητας συνεχούς του δέρματος αρουραίου, έτσι όπως εκτιμήθηκε σε συχνότητα 10^5Hz όπου υπήρχε σχηματισμός πλατό στους 20°C και -40°C και στο 1Hz -40°C .

sample		Skin Conductivity, σ_{DC} (S/cm)			
		Type of stress	20°C at 10^5Hz	-40°C at 10^5Hz	-40°C at 1Hz
Rat_Skin_Fresh		CTRL	$6,60 \cdot 10^{-05}$		
Rat_Skin_Frozen		CTRL	$4,40 \cdot 10^{-05}$		
IR_freshRatSkin	Sample1	γ -irradiation	$9,00 \cdot 10^{-06}$	$4,60 \cdot 10^{-07}$	$4,60 \cdot 10^{-11}$
CON_freshRatSkin		CTRL	$1,00 \cdot 10^{-04}$	$6,60 \cdot 10^{-07}$	$2,60 \cdot 10^{-09}$
CON_frozen_RatSkin	Sample2	CTRL	$1,40 \cdot 10^{-04}$	$2,20 \cdot 10^{-07}$	$1,00 \cdot 10^{-09}$
IR_frozen_RatSkin		γ -irradiation	$2,00 \cdot 10^{-04}$	$5,30 \cdot 10^{-07}$	$2,30 \cdot 10^{-09}$

Η αγωγιμότητα των ιστών του πνεύμονα συμφωνεί σε μεγάλο βαθμό με τις βιβλιογραφικές τιμές για τον πνεύμονα με αέρα και χωρίς ($1,07 \cdot 10^{-3}$ και $2,72 \cdot 10^{-3}$ S/cm αντίστοιχα). Εστιάζοντας στα δείγματα που παρουσίασαν σύμφωνες τιμές (πίνακας 10), παρατηρεί κανείς πιο αυξημένη τιμή αγωγιμότητας για τους control ιστούς από εκείνη των παθογόνων. Για να αποτελέσει αυτό γενικότερο συμπέρασμα, πρέπει να μελετηθεί βαθύτερα με περισσότερα δείγματα ιστών.

Πίνακας 10. Πίνακας τιμών αγωγιμότητας συνεχούς του ανθρώπινου πνεύμονα, έτσι όπως εκτιμήθηκε σε συχνότητα 10^5Hz όπου υπήρχε σχηματισμός πλατό στους 20°C και -40°C και στο 1Hz -40°C .

sample		Lung Conductivity, σ_{DC} (S/cm)			
		Type of stress	20°C at 10^5Hz	-40°C at 10^5Hz	-40°C at 1Hz
sample 1	32T_DS	cancer	$3,40 \cdot 10^{-07}$	$7,30 \cdot 10^{-07}$	$2,40 \cdot 10^{-11}$
	32N_DS	CTRL	$2,80 \cdot 10^{-08}$	$2,60 \cdot 10^{-07}$	$7,20 \cdot 10^{-14}$
sample 2	43T_DS	cancer	$1,90 \cdot 10^{-04}$	$1,40 \cdot 10^{-06}$	$8,90 \cdot 10^{-08}$
	43N_DS	CTRL	$6,40 \cdot 10^{-03}$	$2,20 \cdot 10^{-06}$	$1,20 \cdot 10^{-07}$
sample 3	28T_DS	cancer	$5,50 \cdot 10^{-03}$	$1,40 \cdot 10^{-06}$	$1,30 \cdot 10^{-07}$
	28N_DS	CTRL	$6,20 \cdot 10^{-03}$	$1,90 \cdot 10^{-06}$	$3,50 \cdot 10^{-07}$

Η βιβλιογραφική τιμή του υγιούς προστάτη στα 10^5Hz και σε θερμοκρασία λειτουργίας του οργανισμού είναι $4,4 \cdot 10^{-3} \text{ S/cm}$, τιμή σχετικά κοντά σε αυτή του καρκινικού δείγματος του Prostate 3 (πίνακας 11). Δεδομένης της μη επιβεβαίωσης του αποτελέσματος και της μη πληρότητας του πυκνωτή από τα κυλινδρικά ιστοτεμάχια, όπως προαναφέρθηκε, θα πρέπει πιθανότατα να επαναληφθεί το πείραμα με ιστούς μεγαλύτερου όγκου και μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων, για να αποκτηθεί σαφέστερη εικόνα της διακριτικής ικανότητας της μεθόδου σε τέτοιου είδους δείγματα.

Πίνακας 11. Πίνακας τιμών αγωγιμότητας συνεχούς του ανθρώπινου προστάτη, έτσι όπως εκτιμήθηκε σε συχνότητα 10^5Hz όπου υπήρχε σχηματισμός πλατό στους 20°C και -40°C και στο 1Hz -40°C .

Prostate Conductivity, σ_{DC} (S/cm)				
code	Type of stress	20°C at 10^5Hz	-40°C at 10^5Hz	-40°C at 1Hz
Prostate1	cancer		$2,00 \cdot 10^{-10}$	$4,60 \cdot 10^{-15}$
	CTRL		$2,00 \cdot 10^{-08}$	$4,00 \cdot 10^{-10}$
Prostate2	cancer		$7,50 \cdot 10^{-10}$	$7,60 \cdot 10^{-14}$
	CTRL		$4,30 \cdot 10^{-09}$	$1,80 \cdot 10^{-12}$
Prostate3	cancer	$2,50 \cdot 10^{-03}$	$1,70 \cdot 10^{-06}$	$6,20 \cdot 10^{-08}$
	CTRL	$4,20 \cdot 10^{-09}$	$1,70 \cdot 10^{-10}$	$8,00 \cdot 10^{-15}$

Γενικότερα, τα αποτελέσματα της αγωγιμότητας στη θερμοκρασία των 20°C είναι αρκετά ενθαρρυντικά για την συνέχιση της μελέτης ιστών με τη συγκεκριμένη μέθοδο. Προτείνεται η επέκταση του πρωτοκόλλου μέτρησης σε υψηλότερες θερμοκρασίες, αφού η εμπειρία έδειξε πως στους 25°C ή και 30°C δεν παρουσιάζουν πρόβλημα ούτε οι ιστοί ούτε και η συσκευή (αρκεί να καθαριστεί ενδελεχώς μετά το πείραμα).

Η μη επαναληψιμότητα των μετρήσεων σε ευρύ θερμοκρασιακό φάσμα αποτελεί ένα μόνιμο πρόβλημα σε πειράματα τέτοιας φύσης, ωστόσο είναι απαραίτητη η μελέτη περισσότερων δειγμάτων ώστε να εξασφαλιστεί ένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Εστιάζοντας στην υψηλότερη θερμοκρασία ($20\text{-}30^\circ\text{C}$), κρίνεται τόσο δυνατό, όσο και σκόπιμο, να μετράται ο ιστός δύο ή και τρεις φορές προτού ξεκινήσει η ψύξη του. Με τον τρόπο αυτό θα μπορεί αφενός να ελεγχθεί η αξιοπιστία των αριθμητικών μεγεθών που προκύπτουν από τη μέθοδο, αφετέρου θα είναι διαθέσιμος μεγαλύτερος αριθμός αποτελεσμάτων, ώστε να εξασφαλιστεί καλύτερη στατιστική μελέτη. Αυτό θα είναι επίσης χρήσιμο στον υπολογισμό του σφάλματος της μεθόδου, πράγμα που δε μπορούσε να γίνει στην παρούσα μελέτη, καθώς οι τιμές αγωγιμότητας σε ορισμένες περιπτώσεις (κυρίως στις χαμηλές συχνότητες) διέφεραν ακόμη και σε τάξεις μεγέθους και

δεδομένου του περιορισμένου αριθμού δειγμάτων, το οποίο εγχείρημα υπολογισμού σφάλματος θα χαρακτηριζόταν αυθαίρετο.

Κρίνοντας από τα αποτελέσματα, η μέθοδος της διηλεκτρικής φασματοσκοπίας ενδεχομένως να μην ενδείκνυται για τη μελέτη των αποτελεσμάτων της ακτινοβολίας DECT, διότι εκτιμάται πως η αλληλεπίδρασή της με τους ιστούς είναι πολύ ήπια. Αντίθετα, μεγάλο ενδιαφέρον παρουσίασαν οι περιπτώσεις έκθεσης ιστών σε ακτινοβολία γ , η οποία είναι πιο βαριάς μορφής καταπόνηση και ενός είδους στρες και φέρει πιο βαριές επιπτώσεις στις δομές και τη λειτουργικότητα των κυττάρων και κατά συνέπεια των ιστών. Επιπλέον είναι σχεδόν σίγουρο ότι παρατηρούμε και κάποιου είδους συστημική δράση λόγω έκθεσης στην ακτινοβολία.

Εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη της συμπεριφοράς των διηλεκτρικών μεγεθών καρκινικών ιστών σε σύγκριση με τους αντίστοιχους control, καθώς η επιβεβαίωση της διαφορετικής δομής των όγκων με τη μέθοδο DRS μπορεί να οδηγήσει στο μέλλον στην καθιέρωσή της ως διαγνωστική μέθοδο χαμηλού κόστους και επεμβατικότητας. Στην κατεύθυνση αυτή, προτείνεται εντατική μελέτη ιστών που προέρχονται από αυστηρά καθορισμένα και όμοια είδη ιστών και παθήσεων, ώστε να εξεταστεί εκτενώς η ύπαρξη ή όχι συστηματικότητας στα χαρακτηριστικά μεγέθη των δυσπλασιών. Σε περίπτωση που επιβεβαιωθεί η συστηματικότητα αυτή, θα πρέπει να οριστεί και η αντίστοιχη τιμή κατωφλίου για την αγωγιμότητα που θα χαρακτηρίζει την κάθε πάθηση.

Φυσικά υπάρχει ενδιαφέρον και στο επίπεδο βασικής έρευνας, σε ότι αφορά μηχανισμούς χαλάρωσης σχετιζόμενους με τις δομές που μελετώνται, καθώς και στην αλληλεπίδραση των κυττάρων με το νερό και τις πληροφορίες που κρύβονται πίσω από αυτές τις σχέσεις. Η εργασία αυτή στράφηκε στο πρώιμο κιάλας στάδιό της στη διερεύνηση των μηχανισμών που καταγράφονται, όπως έχει περιγραφεί σε προηγούμενο κεφάλαιο. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται στην ακόλουθη παράγραφο.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ

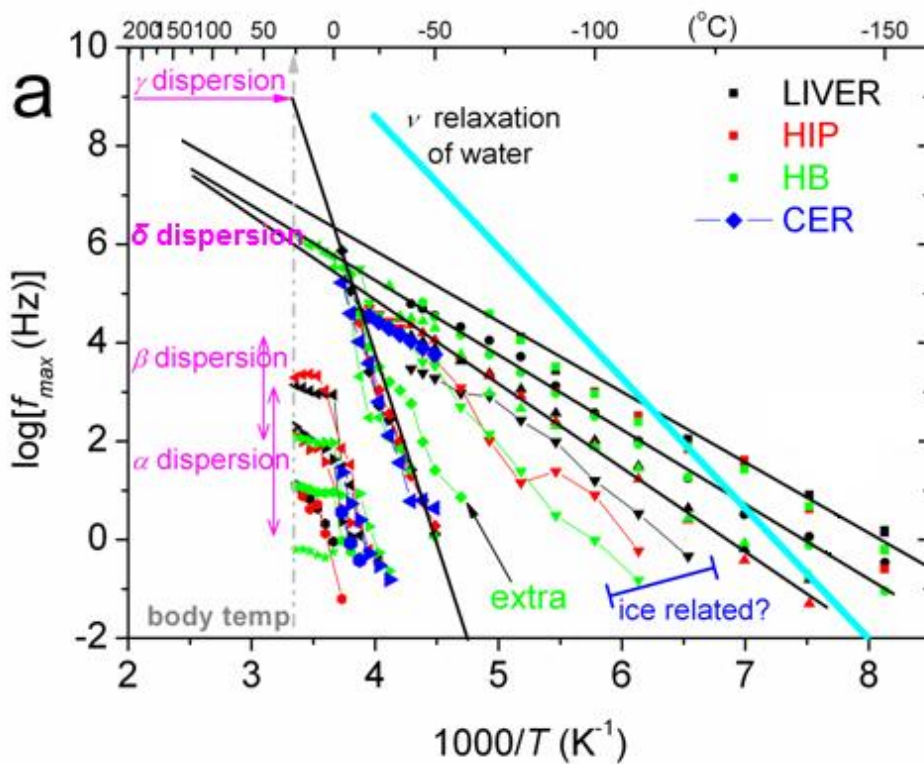
Υπάρχει μια αναλογία μεταξύ της δυναμικής των βιολογικών μορίων και της «κλασικής» χαλαρής ύλης με πολλές ομοιότητες και πολλές διαφορές. Υπάρχει καθαρή αναλογία μεταξύ των ενεργειακών μοντέλων που χρησιμοποιούνται για τη χαλαρή ύλη και την ιεραρχική δομή των βιομορίων. Η αναλογία αυτή επιβεβαιώνεται και στην παρούσα εργασία, μελετώντας ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, πολύ μακριά από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος των ιστών (20 °C ως -150°C). Παρά το γεγονός ότι αυτές οι θερμοκρασίες δεν σχετίζονται άμεσα με της διάφορες λειτουργίες και διαδικασίες του οργανισμού (με εξαίρεση την βιο- και κρύο- συντήρηση), είναι μια συνήθης προσέγγιση της φυσικής, που συντελεί στην απεμπλοκή και το διαχωρισμό πολλών δυναμικών διεργασιών, στην ανάλυση του ενεργειακού τοπίου, στο διαχωρισμό ενθάλπικών και εντροπικών συνεισφορών [89].

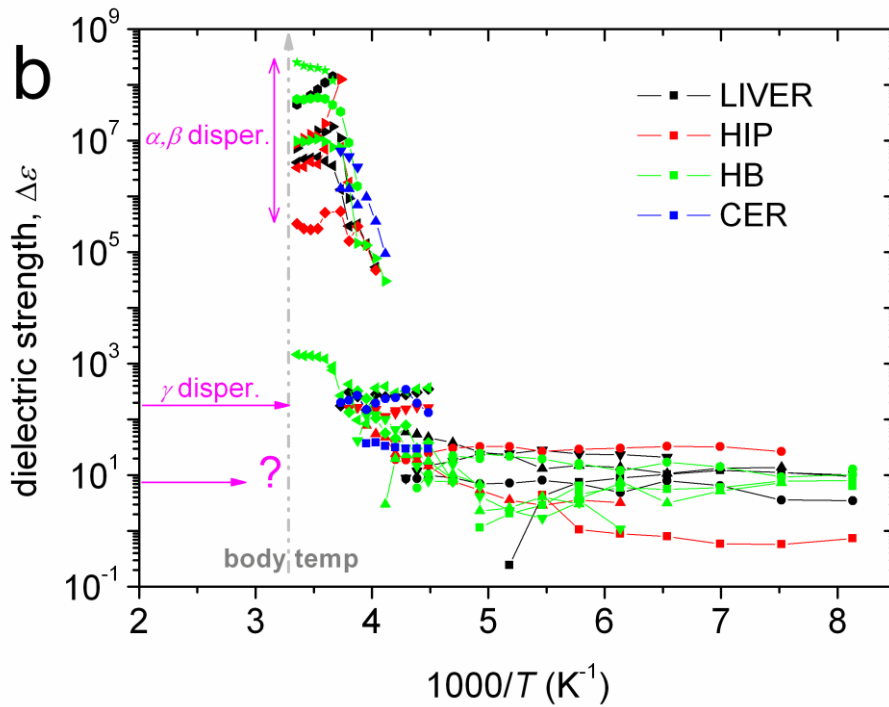
Η ανάλυση των αποτελεσμάτων DRS επιβεβαιώνει την παρουσία μηχανισμών γνωστών από τη βιβλιογραφία, επιβεβαιώνοντας παράλληλα τις δυνατότητες της μεθόδου. Οι μηχανισμοί που αναφέρονται στη βιβλιογραφία αφορούν πάντα θερμοκρασίες κοντά στη θερμοκρασία σώματος. Ωστόσο, μετά την ανάλυση, παρατηρήθηκε πως αν ακολουθήσει κανείς το trend των μηχανισμών συναντά τα βιβλιογραφικά δεδομένα (μαύρες ευθείες διαγράμματος α).

Σε αντίθεση με τα soft materials, όπου οι μηχανισμοί που απαντώνται είναι περισσότερο εντοπισμένοι και σαφείς, οι μηχανισμοί που συναντά κανείς στα βιομόρια αλληλεπικαλύπτονται και αν ανάγει κανείς το πρόβλημα σε επίπεδο ιστών, που η πολυπλοκότητα των δομών είναι ακόμη μεγαλύτερη, καταλήγει κανείς να βλέπει μέσα στο παράθυρο μέτρησης πολλούς “μηχανισμούς” (dispersions) [33]. Η πολυπλοκότητα αυτή οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην ύπαρξη μεγάλου ποσοστού νερού στις δομές αυτές. Οι γνωστοί από τη βιβλιογραφία μηχανισμοί που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, είναι στην ουσία ομάδες μηχανισμών γι’ αυτό και καλούνται “dispersions” και όχι ξεκάθαρα «μηχανισμοί» και είναι οι ακόλουθοι:

- α- dispersions: σχετίζονται με τη διάχυση ιόντων, επομένως συνδέονται με το δυναμικό των κυτταρικών μεμβρανών [27], το ενδοπλασματικό δίκτυο [28], τους χασμοσυνδέσμους (υδροφίλοι δίαυλοι που γεφυρώνουν το διακυτταρικό χώρο μεταξύ των γειτονικών κυττάρων) [29], και τη μετακίνηση ανταγωνιστικών ιόντων στον περιβάλλοντα χώρο των φορτισμένων μεμβρανών [30].
- β- dispersions: οφείλονται στην πόλωση διεπιφανειών κατά μήκος των πλασματικών μεμβρανών των κυττάρων και τις αλληλεπιδράσεις τους με ηλεκτρολύτες που βρίσκονται στο εσωτερικό και το εξωτερικό των κυττάρων [26].

- δ - dispersions: (ερωτηματικό στο figure (a)) πρωτο-χαρακτήριστηκαν από τον Pethig το 1984 [4]. Είναι σχεδόν ανεπαίσθητοι υπο-μηχανισμοί μεταξύ των β και γ dispersions και αποδίδονται στις διπολικές ροπές μεγάλων βιομορίων, όπως οι πρωτεΐνες. Για το λόγο αυτό σχετίζονται με βιοπολυμερή [30], πρωτεΐνες [29], νερό δέσιμο στις πρωτεΐνες [29] και κυτταρικά οργανίδια [30]. Πρόκειται για τον κατεξοχήν μηχανισμό διαφοροποίησης των βιολογικών υλικών από όλες τις υπόλοιπες κατηγορίες υλικών και αποτελεί χαρακτηριστικό τους.
- γ - dispersions: πρωτο-χαρακτήριστηκαν από τους Foster and Schwan, 1989 [29] , και οφείλονται στο νερό των βιολογικών ειδών και στην παρουσία μικρών μορίων.



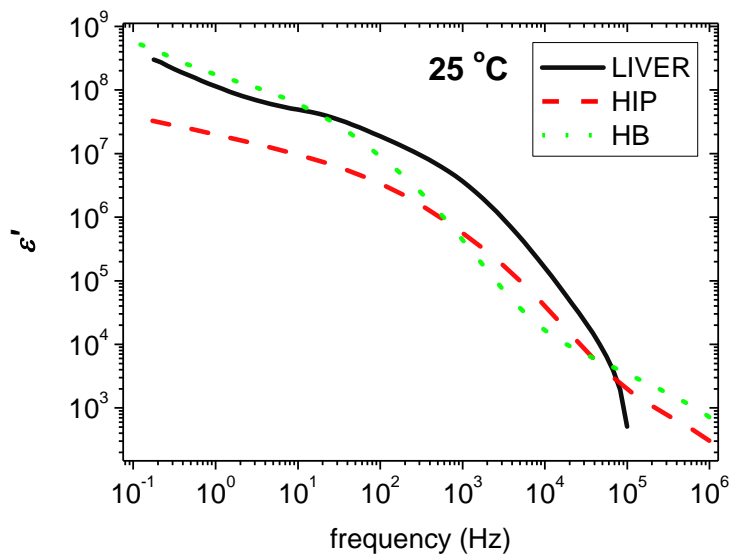
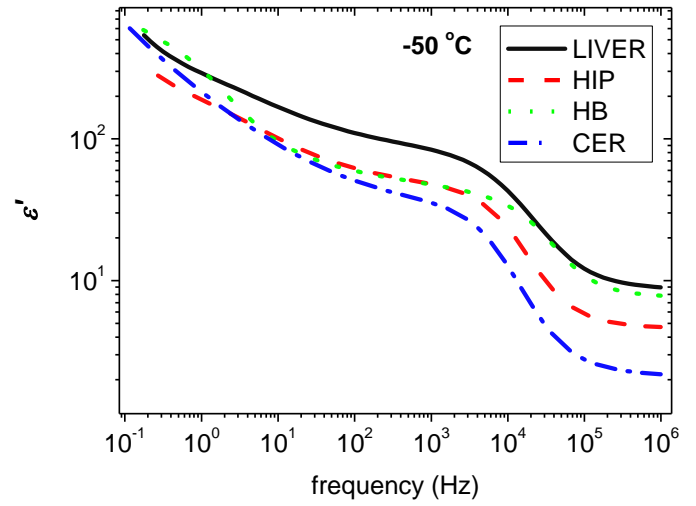
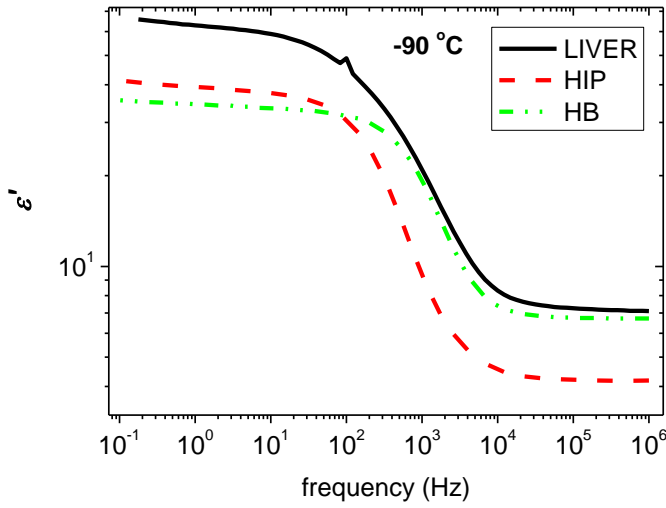


Σχήμα 14. Διαγράμματα (a) Arrhenius και (b) διηλεκτρικής ισχύος των μηχανισμών χαλάρωσης που καταγράφηκαν για τους ιστούς του control RAT32. Τα διαφορετικά χρώματα αντιστοιχούν σε διαφορετικού είδους ιστούς (ήπαρ, ιππόκαμπος, half brain και παρεγκεφαλίδα), ενώ οι διαφορετικοί μηχανισμοί του ίδιου ιστού παρουσιάζονται με διαφορετικό σχήμα. Οι μαύρες γραμμές (a) αποτελούν γραμμές-οδηγούς. Στο διάγραμμα Arrhenius συμπεριλαμβάνεται ο ν-μηχανισμός του νερού [90]. Παρατίθενται βιβλιογραφικά δεδομένα για τους μηχανισμούς α, β και γ σε βιολογικούς ιστούς [37] προς σύγκριση με τη θερμοκρασία του σώματος (~35°C).

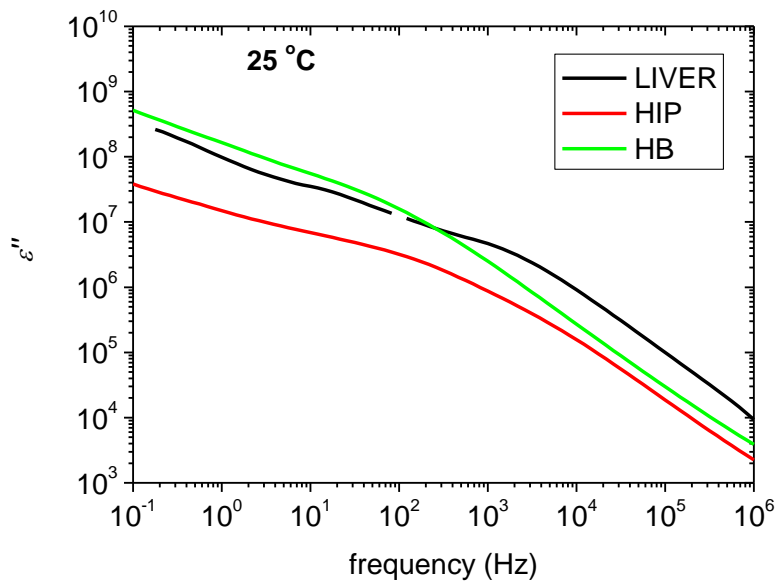
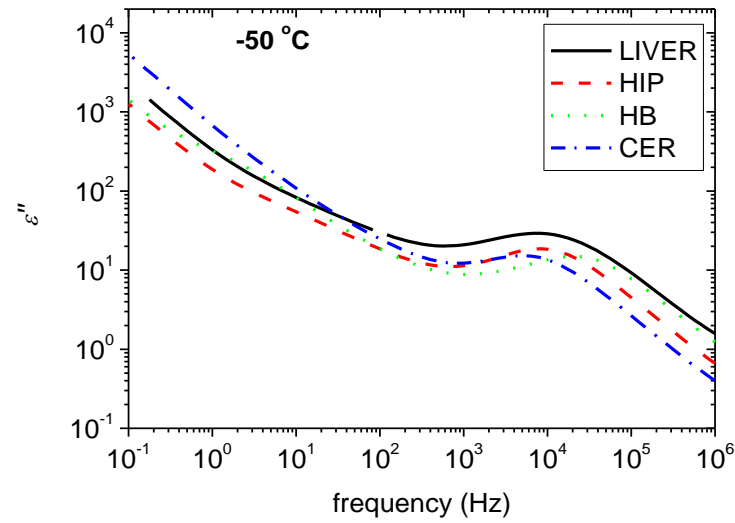
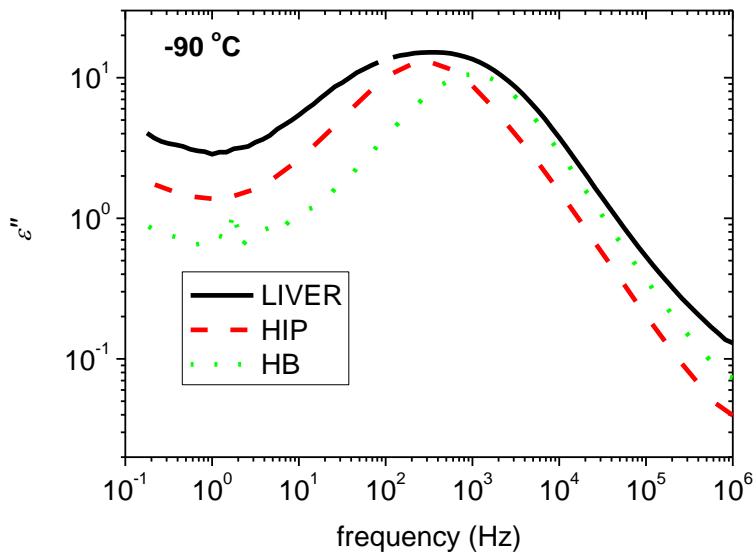
Τα συμπεράσματα της ανάλυσης, εφόσον διασταυρώθηκαν με αυτά της βιβλιογραφίας (διαφορετικές μέθοδοι και διατάξεις), καταδεικνύουν τη δυνατότητα επέκτασης της χρήσης της συγκεκριμένης διάταξης για μετρήσεις σε υλικά βιολογικής προέλευσης. Προτείνεται περαιτέρω έρευνα και ανάλυση αποτελεσμάτων που προέρχονται από διάφορους ιστούς που έχουν υποβληθεί σε διάφορα ήδη stress, όπως ιστοί όγκων και εκτεθειμένοι σε ιοντίζουσα ακτινοβολία. Η μέθοδος ανάλυσης δεν ενδείκνυται για τη μελέτη επιδράσεων ακτινοβολίας DECT και ενδεχομένως γενικότερα της ήπιας φύσης μη ιοντίζουσας ακτινοβολίας, καθώς από ότι φάνηκε στην ανάλυση των παρόντων φασμάτων παρεγκεφαλίδας αρουραίων, δε μπόρεσε να γίνει κάποια συγκεκριμένη διάκριση των υγείων από τους καταπονημένους ιστούς.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

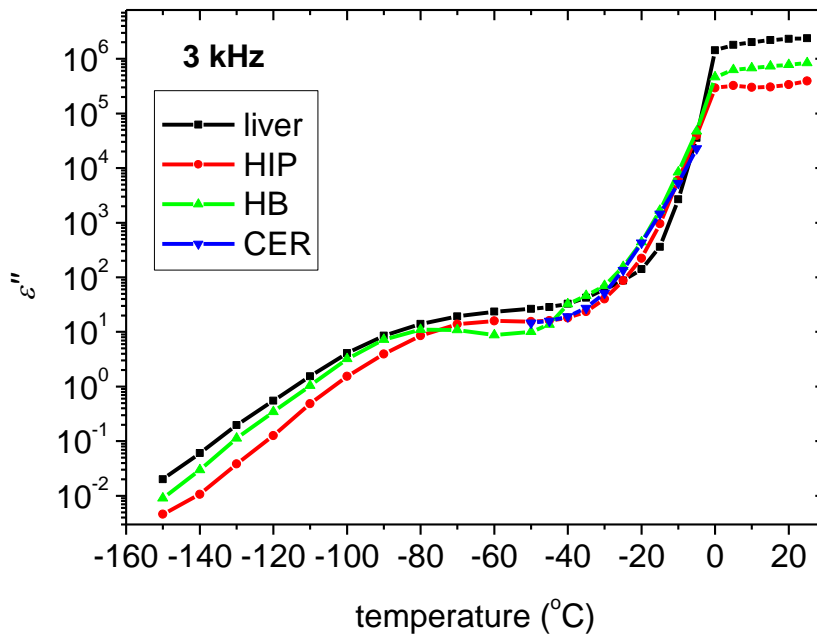
RAT 32 results: Αποτελέσματα ϵ' για τους ιστούς ήπατος (LIVER), υπόκαμπου (HIP), half brain (HB) και παρεγκεφαλίδας (CER) control αρουραίου σε διάφορες θερμοκρασίες.



Αποτελέσματα ϵ'' (δείκτης διηλεκτρικών απωλειών) για τους ιστούς ήπατος, υπόκαμπου, half brain και παρεγκεφαλίδας control αρουραίου σε διάφορες θερμοκρασίες.



Ισόχρονο διάγραμμα του φανταστικού μέρους της διηλεκτρικής συνάρτησης (σχετιζόμενο με τις απώλειες) για τα 3kHz για τους ιστούς ήπατος, ιππόκαμπου, half brain και παρεγκεφαλίδας control αρουραίου στις διάφορες θερμοκρασίες.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία αποτελεί μια βιοφυσική μελέτη των διηλεκτρικών ιδιοτήτων βιολογικών ιστών θηλαστικών και της επίδρασης της ιοντίζουσας και μη ακτινοβολίας σε αυτούς. Επίσης, ανθρώπινοι όγκοι (προστάτη και πνεύμονα) μελετήθηκαν στα πλαίσια της ίδιας μεθοδολογίας. Βασικός στόχος είναι η εισαγωγή της μεθόδου της Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας Εναλλασσομένου Πεδίου (Dielectric Relaxation Spectroscopy- DRS) στη μελέτη της δομής βιολογικών ιστών που έχουν υποστεί διαφόρων μορφών καταπονήσεις και η μελέτη της ενδεχόμενης χρήσης της μεθόδου ως διαγνωστικό εργαλείο διαφόρων παθήσεων.

Μελετήθηκαν ιστοί αρουραίων και ανθρώπων, υγείων και καταπονημένων, είτε από τον ίδιο οργανισμό (ιστοί απομακρυσμένοι από τη βλάβη) είτε από αντίστοιχο control, ώστε να είναι εφικτή η μεταξύ τους σύγκριση. Συγκεκριμένα, αρουραίοι εκτέθηκαν σε γ -ακτινοβολία (δόση 5Gy) ή σε ραδιοκυματικές συχνότητες DECT (Digital Enhanced Cordless Telecommunications) και μελετήθηκαν το δέρμα ή η παρεγκεφαλίδα τους αντίστοιχα. Ένα ακόμη είδος καταπόνησης ιστού που μελετήθηκε είναι ο καρκίνος του πνεύμονα και του προστάτη στον άνθρωπο. Στο ίδιο πνεύμα με τα πειράματα ακτινοβολήσης, έγινε εκτομή ιστού από παθολόγο περιοχή και από ένα τμήμα του οργάνου που ήταν απομακρυσμένο από τη βλάβη. Σε όλα τα ιστοτεμάχια εφαρμόστηκε η τεχνική της Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας Εναλλασσομένου Πεδίου (DRS), έγινε δηλαδή ισόθερμη καταγραφή της μιγαδικής διηλεκτρικής συνάρτησης για διεγείρον πεδίο 10^{-1} - 10^{-6} Hz, σε θερμοκρασίες -150 °C ως 20 °C. Όπου κρίθηκε απαραίτητο χρησιμοποιήθηκε συμπληρωματικά η μέθοδος της ισόθερμης αφυδάτωσης σε ισορροπία (Equilibrium water Desorption Isotherm- EDI) για να εκτιμηθεί η υδάτινη συνιστώσα του ιστού στα διάφορα στάδια των πειραμάτων.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων και κάποια χρήσιμα υπολογισθέντα μεγέθη, όπως η αγωγιμότητα, παρατέθηκαν σε πίνακες και συγκριτικά διαγράμματα, ενώ από την ανάλυση των αποτελεσμάτων σε συνδυασμό με την υπάρχουσα βιβλιογραφία εξήχθησαν χρήσιμα συμπεράσματα για την ορθότητα των μετρήσεων και τον χειρισμό τέτοιου είδους δοκιμίων.

Πιο συγκεκριμένα, η μέθοδος εφαρμόστηκε με επιτυχία σε αυτά τα ιδιαίτερης γεωμετρίας και ευαισθησίας «υλικά» και τα φάσματα των διηλεκτρικών μεγεθών που καταγράφηκαν ακολουθούν το βιβλιογραφικό πρότυπο. Πολύ σημαντικό είναι το γεγονός ότι μετά από αμερόληπτη ανάλυση εντοπίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι α -, β -, γ - μηχανισμοί (α -, β -, γ -dispersions της βιβλιογραφίας), αλλά και το συνονθύλευμα υπο-μηχανισμών, δ -dispersion, που αφορά τις διπολικές ροπές των βιομορίων (πρωτεΐνες) και δέσμιο σε αυτά νερό και αποτελεί το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των βιολογικών υλικών σε σχέση με τα υπόλοιπα φυσικά ή τεχνικά υλικά.

Η ήπια φύσης ακτινοβολία DECT δε φαίνεται να προκαλεί συγκεκριμένη διαφοροποίηση στο πραγματικό, ε', και το φανταστικό, ε'', μέρος της διηλεκτρικής συνάρτησης της παρεγκεφαλίδας των αρουραίων, ενδεχομένως λόγω της εξίσου ήπιας αλληλεπίδρασης με τους ιστούς. Αντίθετα, καταγράφηκαν κάποιες πρώτες ενδείξεις μείωσης της αγωγιμότητας, σ_{AC} , των ιστών δέρματος αρουραίων που έχουν εκτεθεί στην κατά πολύ ισχυρότερη γ -ακτινοβολία. Εστιάζοντας στην αγωγιμότητα στους 20°C, για πρακτικούς λόγους, και στη συχνότητα 10⁵Hz, όπως προτείνει η βιβλιογραφία, παρατηρήθηκε ικανοποιητική συμφωνία της με τις βιβλιογραφικές τιμές για την πλειοψηφία των δειγμάτων. Αυτό ισχύει και για τα δείγματα ανθρώπινου πνεύμονα που μελετήθηκαν, με τις τιμές αγωγιμότητας των καρκινικών ιστών να είναι μεγαλύτερες, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή ικανοποιητική διακριτική ικανότητα της μεθόδου στην κατεύθυνση της ιατρικής διάγνωσης. Αντίθετα με τους ιστούς πνεύμονα, οι περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη μεγάλου δείκτη Gleason εμφανίζουν μικρότερη τιμή αγωγιμότητας στη συγκεκριμένη συχνότητα, όπως και στη βιβλιογραφία.

Τέλος, η εξαγωγή αυτών των αποτελεσμάτων, τα οποία είναι άκρως ενδιαφέροντα αλλά αρκετά σύνθετα και πρώιμα, και η αντιπαραβολή τους με τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας καταδεικνύουν την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη των βιολογικών δομών με τη συγκεκριμένη μέθοδο με στόχο την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων μέσω καλύτερης στατιστικής, για την ανάδειξη ενός συγκεκριμένου πρωτοκόλλου μέτρησης, τον υπολογισμό της ευαισθησίας της μεθόδου και τον καθορισμό συγκεκριμένων ποσοτικοποιημένων ανώτερων/κατώτερων ορίων για κάθε παθολόγο κατάσταση.

ABSTRACT

The present work constitutes a biophysical study of the dielectric properties of biological mammalian tissues and the effects of ionizing and non-ionizing radiation. In addition human tumor (prostate and lung) tissues were studied following the specific methodologies. The aim was the use of the Dielectric Relaxation Spectroscopy (DRS) in the field of structural studies of tissues with different types of stresses and the examination as to whether the method employed is sufficient enough for use in non-invasive diagnostics.

This study includes rat and human tissues, healthy and stressed, excised either from the same organism (parts remote from the malignancy) or from a healthy animal used as control, in order to allow comparison between them as counterparts. Specifically, rats were exposed to γ -irradiation (a dose of 5Gy) or to DECT radiofrequencies (Digital Enhanced Cordless Telecommunications) and their skin or cerebellum (respectively) was studied. Furthermore, another type of stress was included, ie lung and prostate cancer in humans. In the same experimental philosophy, tumor and remote from tumor tissues were excised. All samples were subjected into DRS measurements, which means isothermal recording of the complex dielectric permittivity responding to 10^{-1} - 10^{-6} Hz alternate electric field for temperatures between -150°C and 20°C . Additionally, Equilibrium Water Desorption Isotherm (EDI) method was employed when necessary to evaluate the water content of tissues during the different experimental stages.

Measurements and some critical calculated quantities like conductivity are presented in comparative diagrams and tables. Useful conclusions were extracted from data analysis, in combination with respective literature, regarding the measurement accuracy and tissue handling.

More specifically, DRS method was successfully employed in biopolymeric materials with such a complex geometry and high sensitivity and the recorded dielectric magnitudes spectra form meets the bibliographic standards. A fact of utmost importance is the detection of multiple relaxation mechanisms after unbiased data analysis, the identification of them as literature's α -, β - and γ - dispersions and the confirmation of δ - dispersions' existence, which are faint overlapping sub-dispersions attributed to the dipolar moments of large bio-molecules (proteins) and their bound water. The later dispersion is a particular feature of the biological matter in relation to the other physical or artificial polymeric materials.

The mild nature of DECT does not appear to cause an actual difference in the dielectric permittivity, ϵ' , and the dielectric loss, ϵ'' , spectra of rat cerebellum, possibly due to equally mild interaction of electromagnetic radiation with this particular part of the brain tissue. On the other hand, some first signs of reduction in conductivity, σ_{AC} , were recorded in the measurements of rat skin which was exposed to the more effective γ - irradiation. Focusing on the magnitude of

conductivity in 20°C, for practical reasons, and in the frequency of 10⁵Hz, as suggested in literature, there was observed satisfactory agreement with the literature values for the majority of samples. This also includes the human lung tissues, which, furthermore, showed greater values of conductivity in case of malignancy than in the healthy ones. This fact indicates the possible satisfactory resolution of DRS technique towards its potential contribution in medical diagnosis. Unlike lung tissues, the conductivity of high Gleason score prostate adenocarcinoma appears to be of lower value in this particular frequency, as suggested in literature.

Finally it should be marked that the extraction of these interesting, but rather complex and insufficient, results and their comparison with the previous relative work, underline the need for further investigation of biological structures with the DRS method. Better statistics are of vital importance in the direction of establishing a standard protocol, exploiting the sensitivity of the method, determining specific quantified thresholds for each pathogenic situation and drawing univocal conclusions.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Athens, D.R.G.-N.T.U.o.; Available from: <http://dielectricsgroup.physics.ntua.gr/people>.
2. Schwan, H.P. and E.L. Carstensen, *Dielectric properties of the membrane of lysed erythrocytes*. Science, 1957. **125**(3255): p. 985-986.
3. Schwan, H.P. and K.R. Foster, *RF-field interactions with biological systems: Electrical properties and biophysical mechanisms*. Proceedings of the IEEE, 1980. **68**(1): p. 104-113.
4. Pethig, R., *Dielectric Properties of Biological Materials: Biophysical and Medical Applications*. Electrical Insulation, IEEE Transactions on, 1984. **EI-19**(5): p. 453-474.
5. Pethig, R. and D.B. Kell, *The passive electrical properties of biological systems: their significance in physiology, biophysics and biotechnology*. Physics in Medicine and Biology, 1987. **32**(8): p. 933.
6. Kell, R.P.a.D.B., *Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review*. . Physics in medicine and biology, 1987. **32**(8): p. 933-970.
7. Gabriel, C., S. Gabriel, and E. Corthout, *The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey*. Physics in Medicine and Biology, 1996. **41**(11): p. 2231.
8. Prager, D.J., *Principles of Applied Biomedical Instrumentation*. L. A. Geddes and L. E. Baker. Wiley, New York, 1968. xvi + 480 pp., illus. \$13.50. Science, 1969. **165**(3896): p. 887-888.
9. Stuchly, M.A., M.A. Stuchly, and S.S. Stuchly, *Coaxial Line Reflection Methods for Measuring Dielectric Properties of Biological Substances at Radio and Microwave Frequencies—A Review*. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 1980. **IM-29**(3): p. 176-183.
10. Duck, F.A., *Physical properties of tissue : a comprehensive reference book*. 1990, London; San Diego: Academic Press.
11. Gabriel, S., R.W. Lau, and C. Gabriel, *The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz*. Physics in Medicine and Biology, 1996. **41**(11): p. 2251.
12. Gabriel, S., R.W. Lau, and C. Gabriel, *The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues*. Phys Med Biol, 1996. **41**(11): p. 2271-93.
13. Peyman, A. and C. Gabriel, *Cole–Cole parameters for the dielectric properties of porcine tissues as a function of age at microwave frequencies*. Physics in Medicine and Biology, 2010. **55**(15): p. N413.
14. Yamashiro, T., et al., *Dielectric behavior of pulmonary edema induced in the rat lung*. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2005. **145**(1): p. 91-100.
15. Marzec, E., et al., *Dielectric relaxation of normothermic and hypothermic rat corneas*. Bioelectrochemistry, 2015. **101**: p. 132-137.
16. Marzec, E., *Analysis of the dielectric properties of keratin in the α -dispersion electric field region*. Medical and Biological Engineering and Computing, 2001. **39**(5): p. 558-561.
17. Ann, P.O.R., et al., *Dielectric properties of human normal, malignant and cirrhotic liver tissue: in vivo and ex vivo measurements from 0.5 to 20 GHz using a precision open-ended coaxial probe*. Physics in Medicine and Biology, 2007. **52**(15): p. 4707.
18. Abd El-Hakam, R., S. Khalil, and R. Mahani, *Dielectric and FT-Raman spectroscopic approach to molecular identification of breast tumor tissues*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2015. **151**: p. 208-12.
19. Mariya, L., et al., *A large-scale study of the ultrawideband microwave dielectric properties of normal, benign and malignant breast tissues obtained from cancer surgeries*. Physics in Medicine and Biology, 2007. **52**(20): p. 6093.
20. Sundararajan, R., et al. *The dielectric properties of electroporated human breast cancer cells*. in *Properties and Applications of Dielectric Materials (ICPADM), 2012 IEEE 10th International Conference on the*. 2012.
21. Halter, R.J., et al., *Electrical Properties of Prostatic Tissues: I. Single Frequency Admittivity Properties*. The Journal of urology, 2009. **182**(4): p. 1600-1607.
22. Halter, R.J., et al., *Electrical Impedance Spectroscopy of Benign and Malignant Prostatic Tissues*. The Journal of Urology, 2008. **179**(4): p. 1580-1586.
23. Lee, B.R., et al., *Bioimpedance: Novel Use of a Minimally Invasive Technique for Cancer Localization in the Intact Prostate*. The Journal of Urology. **162**(4): p. 1546-1547.

24. Margaret Campbell, A., *Measurements and analysis of the microwave dielectric properties of tissues*, in *Department of Physics and Astronomy* 1990, University of Glasgow: Glasgow.
25. Markx, G.H. and C.L. Davey, *The dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: applications in biotechnology*. Enzyme and Microbial Technology, 1999. **25**(3–5): p. 161-171.
26. Heileman, K., J. Daoud, and M. Tabrizian, *Dielectric spectroscopy as a viable biosensing tool for cell and tissue characterization and analysis*. Biosensors and Bioelectronics, 2013. **49**: p. 348-359.
27. Prodan, C., et al., *Low-frequency, low-field dielectric spectroscopy of living cell suspensions*. Journal of Applied Physics, 2004. **95**(7): p. 3754-3756.
28. Orjan G. Martinsen, S.G., Herman P. Schwan, *Interface Phenomena and dielectric properties of biological tissue*. Encyclopedia of Surface and Colloid Science. 2002, New York: Marcel Dekker.
29. Stoy, R.D., K.R. Foster, and H.P. Schwan, *Dielectric properties of mammalian tissues from 0.1 to 100 MHz: A summary of recent data*. Physics in Medicine and Biology, 1982. **27**(4): p. 501-513.
30. Asami, K., *Characterization of biological cells by dielectric spectroscopy*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2002. **305**(1–3): p. 268-277.
31. Surowiec, A.J., et al., *Dielectric properties of breast carcinoma and the surrounding tissues*. Biomedical Engineering, IEEE Transactions on, 1988. **35**(4): p. 257-263.
32. Panagopoulou, A., et al., *Dynamics of uncrystallized water and protein in hydrated elastin studied by thermal and dielectric techniques*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics, 2013. **1834**(6): p. 977-988.
33. Wolf, M., et al., *Broadband dielectric spectroscopy on human blood*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2011. **1810**(8): p. 727-740.
34. Becker, F.F., et al., *Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1995. **92**(3): p. 860-864.
35. Hayashi, Y., et al., *Principles of Dielectric Blood Coagulometry as a Comprehensive Coagulation Test*. Analytical Chemistry, 2015. **87**(19): p. 10072-10079.
36. Hayashi, Y., et al., *Dielectric inspection of erythrocytes*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2010. **356**(11–17): p. 757-762.
37. Miklavčič, D., N. Pavšelj, and F.X. Hart, *Electric Properties of Tissues*, in *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*. 2006, John Wiley & Sons, Inc.
38. Blad, B., et al., *An electrical impedance index to distinguish between normal and cancerous tissues*. Journal of Medical Engineering & Technology, 1999. **23**(2): p. 57-62.
39. Ultchin, Y., U. Nachaliel, and A. Ori, *Indirect calculation of breast tissue impedance values*. Physiological Measurement, 2002. **23**(1): p. 177.
40. Ραυτόπουλος, Κ., *Μελέτη της σχέσης δομής-ιδιοτήτων σε νανοδομημένα πολυμερικά υλικά*. 2011: Αθήνα.
41. Δ. Παπαδημητρίου, Π.Π., *Σημειώσεις για το μάθημα Μέθοδοι Χαρακτηρισμού Υλικών*. 2002: Αθήνα
42. Κλώνος, Π., *Μετρήσεις ενυδάτωσης και μοριακής κινητικότητας σε νανοσύνθετες πολυμερικές υδροπηκτές*. 2007, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
43. Fitzgerald, J.J. and J.P. Runt, *Dielectric Spectroscopy of Polymeric Materials: Fundamentals and Applications*. 1997: American Chemical Society.
44. Κλώνος, Π., *Μοριακή δυναμική και αλλαγές φάσης σε πολυμερή προσροφημένα σε νανοσωματίδια οξειδίων*. 2009, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο: Αθήνα.
45. Havriliak, S. and S. Negami, *A complex plane representation of dielectric and mechanical relaxation processes in some polymers*. Polymer, 1967. **8**: p. 161-210.
46. Fragiadakis, D. <http://grafitylabs.com/>.
47. Kremer F, S.A., *Broadband dielectric spectroscopy*. 2002, Berlin: Springer.
48. Greenspan, L., *Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions*. JOURNAL OF RESEARCH of the National Bureau of Standards - A. Physics and Chemistry, 1977. **81 A**: p. 89–96.
49. Anagnostopoulou-Konsta, A., et al., *Dielectric Study of the Hydration Process in Biological Materials*, in *Biologically Inspired Physics*, L. Peliti, Editor. 1991, Springer US: Boston, MA. p. 229-240.
50. Konsta, A.A., et al., *Dielectric and conductivity studies of the hydration mechanisms in plant seeds*. Biophysical Journal. **70**(3): p. 1485-1493.

51. Takashima, S., et al., *Dielectric behavior of DNA solution at radio and microwave frequencies (at 20 degrees C)*. Biophysical Journal. **46**(1): p. 29-34.
52. Anagnostopoulou-Konsta, A., et al., *Proceedings of the International Discussion Meetings on Relaxations in Complex Systems Dielectric study of DNA—water systems by the thermally stimulated currents method*. Journal of Non-Crystalline Solids, 1991. **131**: p. 1182-1185.
53. Pedone, F. and A. Bonincontro, *Temperature dependence of DNA dielectric dispersion at radiofrequency*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 1991. **1073**(3): p. 580-584.
54. Konsta, A.A., et al., *Detecting radiation-induced DNA damage: from changes in dielectric properties to programmed cell death*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2002. **305**(1–3): p. 295-302.
55. Georgakilas, A.G., et al., *Dielectric study of the double helix to single coil transition of DNA*. Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on, 1998. **5**(1): p. 26-32.
56. Grassi, H. and D. Vasilescu, *Etude dielectrique de la transconformation thermique du Na DNA en solution*. Biopolymers, 1971. **10**(9): p. 1543-1557.
57. Lee, R.S. and S. Bone, *Dielectric studies of chain melting and denaturation in native DNA*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression, 1998. **1397**(3): p. 316-324.
58. Bothe, E., D. Schulte-Frohlinde, and G.A. Qureshi, *Rate of oh radical induced strand break formation in single stranded dna under anoxic conditions.an investigation in aqueous solutions using conductivity methods*. Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences, 1983. **38**(11-12): p. 1030-1042.
59. Adinarayana, M., E. Bothe, and D. Schulte-Frohlinde, *Hydroxyl radical-induced Strand break formation in single-stranded polynucleotides and single-stranded DNA in aqueous solution as measured by light scattering and by conductivity*. International Journal of Radiation Biology, 1988. **54**(5): p. 723-737.
60. Μαρία, Μ.Β.κ.Α.-Μ., *Βιολογία Κυττάρου- μοριακή προσέγγιση*. 2000, Πάτρα: Τυροαμα.
61. Cevc, G., *How membrane chain-melting phase-transition temperature is affected by the lipid chain asymmetry and degree of unsaturation: an effective chain-length model*. Biochemistry, 1991. **30**(29): p. 7186-93.
62. Cevc, G., *Membrane electrostatics*. Biochim Biophys Acta, 1990. **1031**(3): p. 311-82.
63. Moeendarbary, E., et al., *The cytoplasm of living cells behaves as a poroelastic material*. Nat Mater, 2013. **12**(3): p. 253-261.
64. Parry, Bradley R., et al., *The Bacterial Cytoplasm Has Glass-like Properties and Is Fluidized by Metabolic Activity*. Cell. **156**(1): p. 183-194.
65. Wowk, B., *Thermodynamic aspects of vitrification*. Cryobiology, 2010. **60**(1): p. 11-22.
66. Kuleshova, L.L., S.S. Gouk, and D.W. Hutmacher, *Vitrification as a prospect for cryopreservation of tissue-engineered constructs*. Biomaterials, 2007. **28**(9): p. 1585-1596.
67. Panagopoulou, A., et al., *Protein and water dynamics in bovine serum albumin-water mixtures over wide ranges of composition*. Journal of Physical Chemistry B, 2012. **116**(15): p. 4593-4602.
68. Treuting, P.M., S.M. Dintzis, and K.S. Montine, *1 - Introduction*, in *Comparative Anatomy and Histology*. 2012, Academic Press: San Diego. p. 1-6.
69. Wheeler P. R., B.H.G., Daniels V. G., *Λειτουργική ιστολογία*. 2002. 642.
70. Anatomie-Amsterdam. Available from: http://www.anatomie-amsterdam.nl/sub_sites/anatomie-zenuwwerking/123_neuro/html_pages/details/details_rat_brain_lb.htm.
71. Brainmaps. Available from: <http://brainmaps.org/ajax-viewer.php?datid=107&sname=n12a&hname=cerebellum&hlabel=CB>.
72. Βούρδα, Α.Χ., *Μελέτη της έκφρασης παραγόντων αγγειογένεσης σε σχέση με την απόπτωση και το βαθμό κακοήθειας στο αδενοκαρκίνωμα του προστάτη: ο ρόλος κλειδί της κυκλοοξυγενάσης-2*, in *Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής*. 2009, Πανεπιστήμιο Πατρών: Πάτρα.
73. Μαργαρίτης, Λ., *ΡΑΔΙΟΒΙΟΛΟΓΙΑ: Ακτινοβολίες και ζωή*. 1987, Αθήνα.
74. Georgakilas, A.G., *Bystander and non-targeted effects: a unifying model from ionizing radiation to cancer*. Cancer Lett, 2015. **356**(1): p. 3-4.
75. Georgakilas, A.G., *Role of the immune system and inflammation in ionizing radiation effects*. Cancer Lett, 2015. **368**(2): p. 154-5.
76. Belyaev, I., *Non-thermal Biological Effects of Microwaves*. Microwave Review, 2005. **11**: p. 13-29.

77. Lai, H. and N.P. Singh, *Melatonin and a Spin-Trap Compound Block Radiofrequency Electromagnetic Radiation-Induced DNA Strand Breaks in Rat Brain Cells*. *Bioelectromagnetics*, 1997. **18**(6): p. 446-454.
78. Belyaev, I.Y., et al., *Microwaves from UMTS/GSM mobile phones induce long-lasting inhibition of 53BP1/ γ -H2AX DNARepair foci in human lymphocytes*. *Bioelectromagnetics*, 2009. **30**(2): p. 129-141.
79. *IEEE Standard for Safety Levels with Respect to Human Exposure to Radio Frequency Electromagnetic Fields, 3 kHz to 300 GHz*. IEEE Std C95.1-2005 (Revision of IEEE Std C95.1-1991), 2006: p. 1-238.
80. Institute, E.T.S.; Available from: <http://www.etsi.org/technologies-clusters/technologies/dect>.
81. Otto, M. and K.E. von Mühlendahl, *Electromagnetic fields (EMF): Do they play a role in children's environmental health (CEH)?* *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2007. **210**(5): p. 635-644.
82. *Human pathology*. Available from: <http://www.humphath.com/spip.php?article18060>.
83. ITALIAN NATIONAL RESEARCH COUNCIL, I.f.A.P.N.C. *An Internet resource for the calculation of the Dielectric Properties of Body Tissues in the frequency range 10 Hz - 100 GHz*. Available from: <http://niremf.ifac.cnr.it/tissprop/>.
84. Sverre, G. and G.M. Ørjan, *Alpha-dispersion in human tissue*. *Journal of Physics: Conference Series*, 2010. **224**(1): p. 012073.
85. Peyman, A., A.A. Rezazadeh, and C. Gabriel, *Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies*. *Physics in Medicine and Biology*, 2001. **46**(6): p. 1617.
86. Halter, R.J., et al., *Passive bioelectrical properties for assessing high- and low-grade prostate adenocarcinoma*. *The Prostate*, 2011. **71**(16): p. 1759-1767.
87. Halter, R.J., et al., *Electrical Properties of Prostatic Tissues: II. Spectral Admittivity Properties*. *The Journal of Urology*. **182**(4): p. 1608-1613.
88. Mishra, V., et al., *Electrical property sensing biopsy needle for prostate cancer detection*. *The Prostate*, 2013. **73**(15): p. 1603-1613.
89. Khodadadi, S. and A.P. Sokolov, *Protein dynamics: from rattling in a cage to structural relaxation*. *Soft Matter*, 2015. **11**(25): p. 4984-4998.
90. Ngai, K.L., et al., *Resolving the ambiguity of the dynamics of water and clarifying its role in hydrated proteins*. *Philosophical Magazine*, 2011. **91**(13-15): p. 1809-1835.