



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

Δυναμική καρκινικών όγκων υπό την
επίδραση χημειοθεραπείας: Φαινόμενα
αντίστασης

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΥ

ΝΙΚΟΛΑΟΥ Μ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ

Επιβλέπων: Ιωάννης Κομίνης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούνιος 2018



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών
Τομέας Φυσικής

Δυναμική καρκινικών όγκων υπό την επίδραση χημειοθεραπείας: Φαινόμενα αντίστασης

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΥ

ΝΙΚΟΛΑΟΥ Μ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ

Επιβλέπων: Ιωάννης Κομίνης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 14η Ιουνίου 2018.

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

(Υπογραφή)

.....
Ιωάννης Κομίνης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....
Γεώργιος Μήτσης
Καθηγητής McGill

.....
Κωνσταντίνος Σιέττος
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούνιος 2018

(Υπογραφή)

.....

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ

Διπλωματούχος Φυσικός Εφαρμογών Ε.Μ.Π.

© 2018 – All rights reserved



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών
Τομέας Φυσικής

Copyright ©–All rights reserved Νικόλαος Δημητρίου, 2018.
Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

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

Ευχαριστίες

Θα ήθελα καταρχήν να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Κομίνη για την επίβλεψη αυτής της διπλωματικής εργασίας και την πολύτιμη καθοδήγηση σε θέματα της παρούσας έρευνας. Ευχαριστώ τους καθηγητές, το διδακτικό και ερευνητικό προσωπικό της Σχολής Ε.Μ.Φ.Ε. για την συνεισφορά τους στην ακαδημαϊκή μου πορεία. Επίσης, ευχαριστώ τον καθηγητή κ. Μήτση για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο πανεπιστήμιο McGill και την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την καθοδήγηση και την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφεραν όλα αυτά τα χρόνια.

Περίληψη

Η χημειοθεραπεία είναι εδώ και πολλά χρόνια μια από τις κύριες μεθόδους αντιμετώπισης του καρκίνου. Η μέθοδος αυτή στοχεύει κυρίως στην πρόκληση τοξικών για το κύτταρο συνθηκών με αποτέλεσμα το κύτταρο να οδηγείται στη θανάτωσή του. Ο καρκίνος ως μια εξελικτική ασθένεια μπορεί να αναπτύξει μηχανισμούς άμυνας στην κυτταροτοξική θεραπεία με αποτέλεσμα την αποτυχία της. Για το σύνθετο αυτό φαινόμενο αντίστασης στη χημειοθεραπεία δεν έχει βρεθεί μέχρι στιγμής κάποια αποδοτική θεραπευτική στρατηγική και ειδικότερα στο παρελθόν ήταν υπεύθυνο για το 90% των θανάτων λόγω καρκίνου. Στη λύση του προβλήματος αυτού έρχεται να συνεισφέρει ένας ανερχόμενος κλάδος της επιστήμης και αυτός είναι η μαθηματική ογκολογία. Η μαθηματική μοντελοποίηση του καρκίνου μπορεί να λειτουργήσει σε πολλά επίπεδα, από τις μεταλλάξεις στο γονιδίωμα του κυττάρου, μέχρι την εξάπλωση μεγάλων όγκων και στοχεύει στην κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών του καρκίνου καθώς επίσης και στον σχεδιασμό αποδοτικότερων θεραπευτικών στρατηγικών.

Στόχος της διπλωματικής εργασίας είναι η μαθηματική προτυποποίηση του φαινομένου της αντίστασης στη χημειοθεραπεία η οποία προκαλείται από μια δραστική ουσία, και η ανάλυση της δυναμικής των ευαίσθητων και των ανθεκτικών στη χημειοθεραπεία καρκινικών κυττάρων, με τη χρήση της θεωρίας δυναμικών συστημάτων.

Λέξεις Κλειδιά

Καρκίνος, αντίσταση στη χημειοθεραπεία, μαθηματική προτυποποίηση, μη-γραμμική δυναμική, ανάλυση ευστάθειας, πλάνο θεραπείας, ανάλυση ευαισθησίας

Abstract

For a long time, chemotherapy is one of the primary methods of treatment in cancer. Its main aim is to cause cytotoxic conditions, forcing the cell to apoptosis. Considering the fact that cancer is an evolutionary disease, it can adapt to these chemotherapeutic conditions, leading to treatment failure. This phenomenon is termed drug resistance and, in majority of cases, there is no effective solution to this problem. In the past, around 90% of cancer related deaths were, to some extent, influenced by the emergence of drug resistance. A new developing field of cancer research, mathematical oncology, can contribute towards the solution of this problem. The mathematical modelling of cancer can function on many levels, from the genome of cancer cells to the spread of large tumors and aims to better understand of the biological mechanisms underlying cancer, as well as the design of more effective therapeutic regimens.

This diploma thesis aims to mathematical modelling of single-drug-induced resistance in cancer and the analysis of the dynamics of two subpopulations of cancer cells, the sensitive and drug-resistant cells, by employing the theory of dynamical systems.

Keywords

Cancer, drug resistance, mathematical modelling, nonlinear dynamics, stability analysis, therapeutic plan, sensistivity analysis

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	1
Περίληψη	3
Abstract	5
Περιεχόμενα	7
Κατάλογος Σχημάτων	10
Κατάλογος Πινάκων	11
1 Εισαγωγή	13
1.1 Αντικείμενο της διπλωματικής	13
1.2 Οργάνωση του τόμου	14
2 Τι είναι ο καρκίνος;	15
2.1 Παράγοντες καρκινογένεσης	15
2.2 Τα χαρακτηριστικά του καρκίνου	17
3 Τρόποι αντιμετώπισης του καρκίνου: Χημειοθεραπεία	21
3.1 Το φαινόμενο της αντίστασης στη χημειοθεραπεία	22
4 Μαθηματική προτυποποίηση του φαινομένου αντίστασης στη χημειοθεραπεία	25
4.1 Δυναμική καρκίνου με αντίσταση σε χημειοθεραπεία	25
4.1.1 Σημεία ισορροπίας & Ανάλυση ευστάθειας	27
4.2 Φαρμακοκινητικό Μοντέλο	35
4.2.1 Εφαρμογή πλάνου θεραπείας	36
4.3 Σύζευξη Καρκινικού και Φαρμακοκινητικού μοντέλου	41
4.3.1 Διαταραχή της θεραπείας γύρω από σημείο ισορροπίας	43
4.4 Αβεβαιότητα στο αποτέλεσμα της θεραπείας	47
5 Επίλογος	49
5.1 Μελλοντικές επεκτάσεις	50
Βιβλιογραφία	52

Κατάλογος Σχημάτων

- 4.1 Σημεία ισορροπίας ευαίσθητων καρκινικών κυττάρων (κυανό χρώμα) και καρκινικών κυττάρων αντίστασης (κόκκινο χρώμα) για κάθε συνδυασμό u και μ_{RS} . • Πάνω: άξονες σε γραμμική κλίμακα. • Κάτω: $T_{R,S}$ -άξονας σε λογαριθμική κλίμακα. 28
- 4.2 Διαγράμματα ροών για ευαίσθητα κύτταρα, T_S και κύτταρα αντίστασης, T_R . • Πάνω αριστερά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.01, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$. • Πάνω δεξιά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.7, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$. • Κάτω αριστερά: $u = 0.9, \mu_{RS} = 0.01, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$. • Κάτω δεξιά: $u = 0.9, \mu_{RS} = 0.7, (T_{S1}^*, T_{R1}^*) = (0, 0)$ και $(T_{S2}^*, T_{R2}^*) = (435, 571)$ 29
- 4.3 • Πρώτη σειρά: ευσταθές (αριστερά) και ασταθές (δεξιά) σπειροειδές σημείο. • Δεύτερη σειρά: ευσταθής (αριστερά) και ασταθής (δεξιά) κόμβος. • Τρίτη σειρά: σαγματικό σημείο. 30
- 4.4 • Πάνω αριστερά: Αναγνώριση μη μηδενικών σημείων ισορροπίας για τις διάφορες τιμές των u και μ_{RS} . Με κίτρινο χρώμα απεικονίζονται τα ευσταθή σπειροειδή σημεία, με πράσινο χρώμα οι ευσταθείς κόμβοι, με ανοιχτό μπλε τα σημεία σάγματος και με κλειστό μπλε χρώμα λοιπά ασταθή σημεία. • Πάνω δεξιά: Αναγνώριση μηδενικών σημείων ισορροπίας για τις διάφορες τιμές των u και μ_{RS} . Με ανοιχτό μπλε χρώμα απεικονίζονται σημεία σάγματος και με κλειστό μπλε λοιπά ασταθή σημεία. • Κάτω: Ρυθμός σύγκλισης στα ευσταθή σπειροειδή σημεία. 33
- 4.5 Αριθμητική επίλυση του μοντέλου για διάφορες συνθήκες. Με μπλε συμβολίζονται τα ευαίσθητα καρκινικά κύτταρα και με πορτοκαλί τα καρκινικά κύτταρα με αντίσταση. • Πάνω αριστερά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.01$ (σημείο A, σχήμα 4.4). • Πάνω δεξιά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.7$ (σημείο B, σχήμα 4.4). • Κάτω αριστερά: $u = 0.97, \mu_{RS} = 0.01$ (σημείο C, σχήμα 4.4). • Κάτω δεξιά: $u = 0.97, \mu_{RS} = 0.7$ (σημείο D, σχήμα 4.4). 35
- 4.6 Πλάνο χορήγησης δόσης. Χορηγούνται $0.0714 (mg/day)$ 5-FU τις πρώτες 5 μέρες και Capecitabine τις υπόλοιπες 25 μέρες της θεραπείας. Η χορήγηση της δόσης για το 5-FU είναι ενδοφλέβια και θεωρούμε ότι διαρκεί 3 ώρες. Για λόγους απλότητας θεωρούμε ότι και η χορήγηση της Καπεσιταβίνης διαρκεί 3 ώρες. 37
- 4.7 Διάγραμμα του μέτρου των 500 πρώτων όρων των σειρών Fourier της χορηγούμενης δόσης, d_n , (πάνω) και της συγκέντρωσης φαρμάκου στον όγκο, $C_{2,n}$, (κάτω). 40

- 4.8 Διαγράμματα συγκεντρώσεων της δραστικής ουσίας συναρτήσει του χρόνου για τις τρεις διαμερίσεις του μοντέλου. Με μπλε απεικονίζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν με χρήση της μεθόδου Euler και με κόκκινο αυτά των σειρών Fourier. • Πάνω αριστερά: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο πλάσμα. • Πάνω δεξιά: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στους υπόλοιπους υγείς ιστούς. • Κάτω: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στη διαμέριση του όγκου. 41
- 4.9 Αποδοτικότητα της θεραπείας, u , συναρτήσει του χρόνου. Παρατηρούμε ότι για τις δεδομένες τιμές του ω και IC_{50} , η τιμή του u παρουσιάζει διακυμάνσεις γύρω από την τιμή $\langle u \rangle = 0.97$ 42
- 4.10 Συμπεριφορά ευαίσθητων (μπλε) και ανθεκτικών (πορτοκαλί) καρκινικών κυττάρων για τις τιμές του u που προέκυψαν από το φαρμακοκινητικό μοντέλο. • Αριστερά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.7$ (με αντίστοιχο σημείο ισορροπίας D του σχήματος 4.4) Με μαύρη γραμμή απεικονίζεται η 30ή ημέρα στην οποία διακόπτεται η θεραπεία. Για ενδεικτικούς λόγους, όμως, συνεχίζουμε τη θεραπεία μέχρι την 300ή ημέρα για να μελετήσουμε τη δυναμική των καρκινικών κυττάρων. • Δεξιά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.01$ (με αντίστοιχο σημείο ισορροπίας C του σχήματος 4.4). 43
- 4.11 Η συμπεριφορά των ευαίσθητων (μπλε) και ανθεκτικών (πορτοκαλί) καρκινικών κυττάρων για τις διακυμάνσεις τις θεραπείας, όταν αυτά βρίσκονται σε σημεία ισορροπίας. Με συνεχείς γραμμές απεικονίζεται η αριθμητική επίλυση (με μέθοδο Runge-Kutta) του μη γραμμικού μοντέλου και με διακεκομμένες γραμμές τα αποτελέσματα της γραμμικής προσέγγισης. • Αριστερά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.1$ (σχήμα 4.4, σημείο D). Πάνω σε γραμμική κλίμακα. Κάτω ο οριζόντιος άξονας είναι σε λο-γαριθμική κλίμακα. • Δεξιά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.06$ (σχήμα 4.4, σημείο E). Πάνω σε γραμμική κλίμακα. Κάτω ο κατακόρυφος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα. 45
- 4.12 Λεπτομερέστερη αναπαραγωγή του σχήματος 4.11 για την περίπτωση ευσταθούς σπειροειδούς σημείου ($u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.1$, πάνω) και ευσταθούς κόμβου ($u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.06$, κάτω). 46
- 4.13 Κατανομή ευαίσθητων (κόκκινο), ανθεκτικών (κίτρινο) και του συνόλου (μπλε) των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων μετά από 1000 προσομοιώσεις στις οποίες οι παράμετροι του μοντέλου έχουν ποσοστό θορύβου 10%. • Αριστερά: Οι μέσες τιμές των παραμέτρων είναι σύμφωνα με τον πίνακα 1, ενώ η μέση τιμή του $\mu_{RS} = 0.7$ και το u χρησιμοποιείται όπως στο σχήμα 4.9. Οι άξονες είναι σε γραμμική κλίμακα. • Δεξιά: Ίδιες τιμές παραμέτρων με το αριστερό σχήμα αλλά $\mu_{RS} = 0.01$. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα. 47
- 4.14 Διαγράμματα μεταβολών των παραμέτρων για $N=1000$ προσομοιώσεις (trials). 48

Κατάλογος Πινάκων

4.1	Παράμετροι του μη-γραμμικού μοντέλου των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων. [1]	26
4.2	Παράμετροι του φαρμακοκινητικού μοντέλου. [1,2]	36

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Ο καρκίνος αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα της υγείας του ανθρώπου. Εδώ και πολλά χρόνια επιστήμονες προσπαθούν να προσεγγίσουν αυτό το πρόβλημα δίχως όμως να καταφέρουν να το κατανοήσουν πλήρως. Από το 4000 π.Χ. με τον Ιμούθη στην αρχαία Αίγυπτο να μιλά για σκληρές και ψυχρές μάζες στην περιοχή του μαστού οι οποίες δεν επιδέχονται θεραπείας [3], τον Ιπποκράτη (400 π.Χ.) να δίνει μια λε-πτομερή περιγραφή αυτών των μαζών και της περιβάλλοντος αγγείωσης, να την ονομάζει Καρκίνο και να την κατανοεί ως μια διαταραχή στα ρευστά του οργανισμού [4]. Αιώνες αργότερα, ο Γαληνός (160 μ.Χ.) ακολουθεί την προσέγγιση του Ιπποκράτη για μια πιθανή θεραπεία της ασθένειας. Μετά από αρκετά χρόνια ο καρκίνος έρχεται ξανά στο προσκύνιο της ιατρικής με χειρουργούς όπως ο Leonard Bertipaglia (1600 μ.Χ.) να αμφιβάλλουν για τη δυνατότητα θεραπείας με χειρουργική επέμβαση [5]. Το 1838 και αφού το μικροσκόπιο έχει ενταχθεί στους κλάδους της έρευνας, ο Virchow ονομάζει τον καρκίνο των λευκών αιμοσφαιρίων λευχαιμία και παράλληλα ο καρκίνος περιγράφεται ως *omnis cellula e cellula e cellula...*, δηλαδή κύτταρα που προέρχονται από άλλα κύτταρα που προέρχονται από άλλα κύτταρα... διαδικασία επαναλαμβανόμενη *ad infinitum*. Η πορεία του καρκίνου φτάνει στους 20ο και 21ο αιώνες και καταλαμβάνει την 1η θέση στις ασθένειες με τη μεγαλύτερη θνησιμότητα. Παράλληλα, πολλές έρευνες οδηγούν σε διαφορετικές προσεγγίσεις της θεραπείας του, με τον Halsted να εφαρμόζει “ριζικές” μαστεκτομές σε καρκίνους του μαστού, τον Gruppe να χρησιμοποιεί τις ακτίνες-X για την κατα-στροφή των όγκων, τον Farber να χορηγεί αντιφολικά σε παιδιά με οξεία λυμφοβλαστική λευχαιμία και τον πρόεδρο των ΗΠΑ, Nixon, να ξεκινά τη μεγαλύτερη εκστρατεία για την εξάλειψη του καρκίνου [5]. Παρόλες τις επιστημονικές και τεχνολογικές ε-ξελιξεις ο καρκίνος συνεχίζει να αποτελεί μια από τις πιο θανατηφόρες ασθένειες, ενώ το 2008 δημοσιεύεται στο περιοδικό Newsweek άρθρο με τίτλο *We fought cancer ... and cancer won*. [6]. Αντιμετωπίζοντας αυτή την πραγματικότητα επιστήμονες από πολλούς κλάδους όπως τα μαθηματικά, η φυσική, η πληροφορική, η μηχανική συνει-σφέρουν στην έρευνα για τον καρκίνο με διαφορετικούς τρόπους.

1.1 Αντικείμενο της διπλωματικής

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που προέκυπτουν κατά την χορήγηση χημειοθεραπείας για την εξάλειψη του όγκου, είναι το φαινόμενο της αντίστασης του

καρκίνου στη χημειοθεραπεία. Αφού, λοιπόν, εξηγήσουμε την έννοια του καρκίνου και το πρόβλημα της αντίστασης στη χημειοθεραπεία, θα αναλύσουμε τη δυναμική του φαινομένου αυτού. Συγκεκριμένα, θα αναλύσουμε τη δυναμική των ανθεκτικών και των ευαίσθητων στη χημειοθεραπεία καρκινικών κυττάρων με τη χρήση ενός μη-γραμμικού μοντέλου διαφορικών εξισώσεων το οποίο περιγράφει τη συμπεριφορά των δυο αυτών πληθυσμών κυττάρων, βασισμένη σε φαινομενολογικές παρατηρήσεις. Η ανάλυση αυτή θα δώσει μια μακροσκοπική εικόνα για τη συμπεριφορά του καρκίνου για διάφορες παραμετροποιήσεις του μοντέλου.

1.2 Οργάνωση του τόμου

Η εργασία αυτή είναι οργανωμένη σε τέσσερα κεφάλαια. Στο 2ο κεφάλαιο γίνεται εισαγωγή στην έννοια και τα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου. Στο 3ο κεφάλαιο αναλύεται η χημειοθεραπεία ως τρόπος αντιμετώπισης του καρκίνου και εξηγούνται οι βασικοί μηχανισμοί δράσης του φαινομένου αντίστασης στη χημειοθεραπεία. Στο 4ο κεφάλαιο ξεκινά η μαθηματική προτυποποίηση του φαινομένου αντίστασης και αναλύεται η συμπεριφορά των ανθεκτικών και ευαίσθητων καρκινικών κυττάρων με τη χρήση της θεωρίας δυναμικών συστημάτων. Στο ίδιο κεφάλαιο επιχειρείται σύζευξη του καρκινικού μοντέλου με ένα φαρμακοκινητικό με σκοπό μια πιο ρεαλιστική εκτίμηση της χορηγούμενης δόσης στην περιοχή του όγκου. Επίσης, εκτιμάται το μέγεθος του όγκου και η κατανομή του, για μικρές διακυμάνσεις των παραμέτρων του καρκινικού μοντέλου. Τέλος, στο 5ο κεφάλαιο συνοψίζονται τα κύρια σημεία της εργασίας, οι συνεισφορές της καθώς και μελλοντικές επεκτάσεις.

Κεφάλαιο 2

Τι είναι ο καρκίνος;

Η ανάπτυξη ενός υγιούς ανθρώπινου οργανισμού προϋποθέτει τη συνεργασία ενός μεγάλου αριθμού κυττάρων για το καλό του οργανισμού. Αυτή η συνεργασία διατηρείται μέσα από σήματα και κυτταρικούς ελέγχους οι οποίοι αποφασίζουν για τη διαίρεση, τον θάνατο ή τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Η έννοια του καρκίνου μπορεί να οριστεί σε πολλά επίπεδα. Στο πιο βασικό επίπεδο, ο καρκίνος αντιπροσωπεύει την κατάρρευση αυτής της συνεργασίας. Το αποτέλεσμα αυτής της κατάρρευσης είναι η ανεξέλεγκτη αύξηση στον αριθμό των κυττάρων η οποία οδηγεί τελικά σε θάνατο [7].

Έως τα τέλη της δεκαετίας του 1970, η φύση του καρκίνου δεν μπορεί να ερμηνευθεί. Μέχρι τότε θεωρίες υπέθεταν ότι ο καρκίνος είναι αποτέλεσμα ανεπάρκειας του ανοσοποιητικού συστήματος, ιών, ανωμαλιών στη διαφοροποίηση των κυττάρων, μεταλλάξεων κ.α. Χωρίς, όμως, την ύπαρξη αποδεικτικών στοιχείων κανείς δεν μπορούσε να αποδεχτεί ή να απορρίψει αυτές τις θεωρίες, γεγονός που κατέστησε την κατανόηση και κατά συνέπεια τη θεραπεία του αδύνατη [8].

Η κατάσταση αυτή άλλαξε δραματικά με την εξέλιξη των ερευνών του καρκίνου. Οι έρευνες οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος είναι μια γενετική ασθένεια [7–9]. Παρόλο που οι περιβαλλοντικοί και άλλοι μη γενετικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη αυτής της ασθένειας, η μεγάλη πρόοδος για την κατανόηση της καρκινογένεσης οφείλεται στην ανακάλυψη των γονιδίων τα οποία όταν μεταλλαχθούν, οδηγούν στην ανάπτυξη καρκίνου [8].

2.1 Παράγοντες καρκινογένεσης

Ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει γονίδια τα οποία διασφαλίζουν τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και αποτρέπουν μια ανεξέλεγκτη ανάπτυξή τους. Εάν αυτά τα γονίδια μεταλλαχθούν, τότε τα κύτταρα είναι επιρρεπή σε ανάπτυξη καρκινικού φαινότυπου. Τα γονίδια αυτά μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες: ογκογονίδια, ογκοκαταστολείς και επιδιορθωτικά γονίδια [8].

Ογκογονίδια Στα υγιή κύτταρα, τα ογκογονίδια ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων παρουσία κατάλληλων σημάτων αύξησης. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα για το οποίο είναι υπεύθυνα είναι η ανανέωση του επιθηλιακού ιστού, όπως το δέρμα. Όταν τα ογκογονίδια μεταλλάσσονται, προκαλούν τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό

των κυττάρων χωρίς να υπάρχει απαραίτητα κάποιο σήμα αύξησης. Σε αυτά τα γονίδια μια μόνο μετάλλαξη είναι αρκετή για την ενεργοποίηση του ογκογονιδίου. Εάν αυτή η μετάλλαξη εντοπιστεί μόνο σε ένα από τα δυο αντίγραφα του γονιδίου στο χρωμόσωμα, τότε το κύτταρο αποκτά καρκινικό φαινότυπο [7].

Ογκοκαταστολείς Τα γονίδια ογκοκαταστολείς είναι υπεύθυνα για την καταστολή του πολλαπλασιασμού φυσιολογικών κυττάρων. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων πρέπει να σταματήσει σε περίπτωση που το κύτταρο αποκτά κάποια βλάβη ή έχει μεταλλαχθεί ή ο κυτταρικός θάνατος είναι σημαντικός για τη διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται με την παύση του κυτταρικού κύκλου (γήρανση) ή με προγραμματισμένη διαδικασία του κυττάρου που οδηγεί στον θάνατό του (απόπτωση). Αυτοί οι μηχανισμοί οδηγούν στον περιορισμό των κυττάρων που μπορούν να επάγουν παθολογικές καταστάσεις. Ακολούθως, εάν τα γονίδια ογκοκαταστολείς απενεργοποιηθούν τότε η εξάπλωση των τροποποιημένων κυττάρων δεν μπορεί να περιοριστεί και ο οργανισμός οδηγείται σε ανάπτυξη καρκίνου. Για την απενεργοποίηση του γονιδίου ογκοκαταστολέα απαιτείται μετάλλαξη και στα δυο αντίγραφα του γονιδίου. Συνεπώς, υπάρχουν περιπτώσεις καρκίνου οι οποίες ξεκινούν με δυο μεταλλάξεις. Η ιδέα αυτή προτυποποιήθηκε από τον Knudson [10] και πήρε το όνομα “two hit hypothesis” [7].

Επιδιορθωτικά γονίδια Τα επιδιορθωτικά γονίδια είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση της ακεραιότητας των γονιδιωμάτων. Όταν το DNA αποκτά βλάβες, όπως για παράδειγμα κατά την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ή σε τροφή που περιέχει καρκινογόνα, τα γονίδια αυτά φροντίζουν για την επιδιόρθωση των βλαβών ώστε το κύτταρο να παραμένει υγιές. Εάν τα επιδιορθωτικά γονίδια μεταλλαχθούν, τότε τα κύτταρα τροποποιούνται με ταχύτερο ρυθμό με αποτέλεσμα την προώθηση της καρκινογένεσης [7]. Τα γονίδια αυτά χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες και είναι:

- Mismatch Repair (MMR): Διορθώνει τα λάθη τοποθέτησης ενός νουκλεοτιδίου ή “τυπογραφικά” λάθη που εμφανίζονται κατά την αντιγραφή του DNA (προσθήκη 1-4 βάσεων, απάλειψη 1-4 βάσεων, εισδοχή μη συμπληρωματικής βάσης) [11]
- Nucleotide Excision Repair (NER): Διορθώνει βλάβες οι οποίες παραμορφώνουν το σχήμα της διπλής έλικας του DNA, όπως ο σχηματισμός διμερών πυριμιδινών και η ομοιοπολική πρόσδεση ογκώδων χημικών ομάδων [12].
- Base Excision Repair (BER): Διορθώνει κυρίως αλλοιώσεις μιας μόνο βάσης νουκλεοτιδίου (οξειδωση, μεθυλίωση, αποπουρίνωση ή απαμίνωση) και μονόκλωνες θραύσεις [13].

Παρόλα αυτά υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες η ανάπτυξη του καρκίνου δεν επέρχεται από μια ή δυο μεταλλάξεις στους παραπάνω μηχανισμούς αλλά περιλαμβάνει μια σειρά μεταλλάξεων που συσσωρεύονται με το χρόνο, κυρίως στα ογκογονίδια και στους ογκοκαταστολείς. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο καρκίνος του παχέος εντέρου. Η πλειοψηφία των περιπτώσεων αυτού του καρκίνου συνιστά τέσσερα στάδια απώλειας ογκοκαταστολέων και ενεργοποίησης ογκογονιδίων τα οποία τελικά οδηγούν σε καρκίνωμα [7, 8, 14].

2.2 Τα χαρακτηριστικά του καρκίνου

Ως μια προσπάθεια οργάνωσης της παραχθείσας γνώσης οι D. Hanahan και R. Weinberg [15, 16] συνόψισαν τα βασικά χαρακτηριστικά τα οποία είναι κοινά για όλα τα είδη καρκίνου και εμφανίζονται κατά της διαδικασία σχηματισμού κακοηθών όγκων. Τα χαρακτηριστικά που αναφέρουν οι δυο ερευνητές είναι (1) Η αυτονομία σε σήματα αύξησης, (2) Παράκαμψη σημάτων καταστολής, (3) Η αντίσταση στην απόπτωση, (4) Η απεριόριστη δυνατότητα πολλαπλασιασμού, (5) Η αυτονομία στην αγγειογένεση, (6) Η διείσδυση στον περιβάλλοντα ιστό και η μετάσταση, (7) Ο τροποποιημένος μεταβολισμός, (8) Η παράκαμψη του ανοσοποιητικού συστήματος, (9) Η γενετική αστάθεια, (10) Η φλεγμονή.

Αυτονομία σε σήματα αύξησης Τα καρκινικά κύτταρα δεν χρειάζονται ερέθισμα από εξωτερικό σήμα για να πολλαπλασιαστούν, σε αντίθεση με τους υγιείς ιστούς οι οποίοι ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό διασφαλίζοντας το απαραίτητο πλήθος κυττάρων και συνεπώς την αρχιτεκτονική και την κανονική λειτουργία του ιστού. Το χαρακτηριστικό της αυτονομίας σε σήματα αύξησης είναι το πρώτο που παρατηρήθηκε σε μεγάλο βαθμό, επειδή το χαρακτηριστικό αυτό ρυθμίζεται συνήθως από τα ογκογονίδια. Πολλά καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ιδιότητα της σύνθεσης παραγόντων αύξησης, δημιουργώντας μια θετικής ανατροφοδότησης επαναληπτική διαδικασία σηματοδότησης η οποία ονομάζεται αυτοκρινής διέγερση [17]. Οι υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων οι οποίοι μεταφέρουν τα σήματα στο εσωτερικό τους επηρεάζονται επίσης από την παθολογία του καρκίνου. Σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου, οι υποδοχείς αυτοί υπερεκφράζονται με αποτέλεσμα το καρκινικό κύτταρο να είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε σήματα του περιβάλλοντος τα οποία κανονικά δεν επάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Επίσης, η υπερέκφραση των υποδοχέων, καθώς επίσης και η μορφολογική του αλλοίωσή τους μπορούν να προκαλέσουν σήματα αύξησης ανεξάρτητα του μορίου που προσδέεται στον υποδοχέα [16, 18, 19].

Παράκαμψη σημάτων καταστολής Σε έναν υγιή ιστό τα σήματα καταστολής της αύξησης ενεργούν για τη διατήρηση της κατάστασης ισορροπίας στον αριθμό των κυττάρων και στην ομοιότητα του ιστού. Τα σήματα καταστολής της αύξησης σχετίζονται με τα γονίδια ογκοκαταστολής και μπορούν να δράσουν με δυο μηχανισμούς. Ένας από αυτούς είναι η διατήρηση των κυττάρων στην κατάσταση ηρεμίας (G_0) του κυτταρικού κύκλου, μέχρι τα εξωκυττάρια σήματα να επιτρέψουν ξανά τον πολλαπλασιασμό τους. Ο δεύτερος μηχανισμός είναι η μόνιμη καταστολή της πολλαπλασιαστικής τους ικανότητας [16]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων εξαρτάται από την πυκνότητα του περιβάλλοντος τους. Η εξάρτηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων από την πυκνότητα του περιβάλλοντος χάνεται στα καρκινικά κύτταρα [20]. Συνεπώς, τα καρκινικά κύτταρα παρακάμπτουν την καταστολή του πολλαπλασιασμού τους μέσω της απενεργοποίησης των ογκοκαταστολέων και της ανεξέλεγκτης αύξησης του αριθμού τους, ανεξάρτητα από την πυκνότητα του περιβάλλοντος [15].

Αντίσταση στην απόπτωση Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να πληθαίνουν δεν καθορίζεται μόνο από τον ρυθμό πολλαπλασιασμού τους αλλά και από

τον ρυθμό θανάτωσης τους. Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος – απόπτωση – εκπροσωπεί την κύρια μορφή κυτταρικού θανάτου. Η ένδειξη της αντίστασης στην απόπτωση προέρχεται από μελέτες σε ποντίκια, κυτταρικές καλλιέργειες και από βιοψίες από όλα τα στάδια του ανθρώπινου καρκίνου. Το χαρακτηριστικό αυτό προέρχεται από διάφορους μηχανισμούς. Ο πιο κοινός μηχανισμός είναι η απώλεια του προαποπτωτικού ρυθμιστή μέσω μετάλλαξης στο p53 γονίδιο ογκοκαταστολέα. Αυτός ο μηχανισμός εμφανίζεται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των περιπτώσεων ανθρώπινου καρκίνου και έχει ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση μηχανισμών που εντοπίζουν βλάβες στο DNA και επάγουν την απόπτωση [16]. Εναλλακτικά, το χαρακτηριστικό αυτό επάγεται από την υπερέκφραση αντιαποπτωτικών ρυθμιστών (Bcl-2, Bcl-x_L) ή σημάτων επιβίωσης (Igf1/2), την μειορρύθμιση προαποπτωτικών παραγόντων (Bax, Bim, Puma), ή από την παράκαμψη εξωγενών σημάτων απόπτωσης [15, 21–23].

Απεριόριστη δυνατότητα πολλαπλασιασμού Μέχρι στιγμής έχουμε δώσει τρία χαρακτηριστικά του καρκίνου που σχετίζονται με την αύξηση του όγκου μέσω σημάτων μεταξύ των κυττάρων. Παρόλα αυτά, έρευνες των τελευταίων 50 ετών έδειξαν ότι αυτή η διαταραχή στα σήματα, από μόνη της, δεν είναι αρκετή για να προκαλέσει μακροσκοπικούς καρκινικούς όγκους. Πολλά και, ίσως, σχεδόν όλα τα κύτταρα των θηλαστικών έχουν περιορισμένο αριθμό διπλασιασμών, οι οποίοι σύμφωνα με τον Hayflick [24] κυμαίνονται στους 60-70 [16]. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ανικανότητα της DNA πολυμεράσης να αντιγράψει το άκρο 3' του DNA όπου βρίσκεται στα άκρα του χρωμοσώματος – και ονομάζεται τελομερές – κατά της φάση σύνθεσης S. Το τελομερικό DNA συρρικνώνεται με κάθε κυτταρική διαίρεση. Η προοδευτική αυτή απώλεια του DNA στα άκρα του χρωμοσώματος επάγει τελικά την απώλεια προστασίας των άκρων του χρωμοσωμικού DNA. Τότε τα εκτεθιμένα χρωμοσωμικά άκρα ξεκινούν μια διαδικασία σύντηξης του χρωμοσώματος με τελικό αποτέλεσμα τον αναπόφευκτο θάνατο του κυττάρου [16, 25]. Στα καρκινικά κύτταρα έχει παρατηρηθεί ότι το μήκος των τελομερών διατηρείται [16, 26]. Το 85-90% των χρωμοσωμάτων των καρκινικών κυττάρων διατηρούν τα τελομερή τους αυξορρυθμίζοντας την έκφραση του ενζύμου τελομεράση [16, 27] το οποίο προσθέτει επαναλήψεις εξανουκλεοτιδίων στα άκρα του τελομερικού DNA. Τα υπόλοιπα χρωμοσώματα έχουν “εφεύρει” έναν μηχανισμό με τον οποίο ανταλλάσσουν σειρές βάσεων και ονομάζεται εναλλαγκτική επιμήκυνση τελομερών [16, 28]. Με τους δυο αυτούς μηχανισμούς, τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να πολλαπλασιάζονται απεριόριστα. Με αυτόν τον τρόπο, άλλωστε, καταφέραμε να απομονώσουμε τις αιθάνες κυτταρικές γραμμές και να εκτελούμε πειράματα in vitro.

Αυτονομία στην αγγειογένεση Η αύξηση του αριθμού των καρκινικών κυττάρων συνεπάγεται με την αύξηση των αναγκών σε θρεπτικά συστατικά, οξυγόνο και παράλληλα την απομάκρυνση προϊόντων μεταβολισμού και διοξειδίου του άνθρακα. Ο καρκίνος, ως μια διαρκώς αυξανόμενη μάζα κυττάρων, έχει μια μόνιμη ανάγκη αυτών των παροχών [15, 29]. Συνεπώς, ενεργοποιούνται μηχανισμοί οι οποίοι προωθούν την ανάπτυξη αγγείων γύρω από τον καρκίνο. Ο μηχανισμός εκίνησης αυτής της διαδικασίας είναι ο VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Η έκφραση του γονιδίου VEGF μπορεί να αυξορρυθμιστεί σε συνθήκες υποξίας, όπου είναι απαραίτητη η μεταφορά οξυγόνου και σε περιπτώσεις σηματοδότησης από το ογκογονίδιο [15, 30–32]. Η αγγειογένεση ξεκινά στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του καρκίνου. Η αγγείωση του

καρκίνου περιγράφεται ακανόνιστη, με μεγάλο βαθμό διακλάδωσης, παραμορφωμένα και εκταμένα αγγεία, ασταθή ροή με μικρές διαρροές [15, 33, 34].

Διείσδυση στον περιβάλλοντα ιστό και μετάσταση Κατά την ανάπτυξη του καρκίνου υπάρχουν καρκινικά κύτταρα τα οποία αποκολλούνται από τον αρχικό όγκο, μεταναστεύουν σε άλλους ιστούς όπου δεν έχουν περιορισμό σε χώρο και θρεπτικά συστατικά, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται νέοι όγκοι σε διαφορετικά σημεία του σώματος. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται μετάσταση και ευθύνεται για το 90% των θανάτων σε περιπτώσεις καρκίνου [16, 35]. Η μετάσταση είναι αποτέλεσμα διαφοροποιήσεων στο σχήμα των κυττάρων και στον τρόπο με τον οποίο αυτά προσδένονται σε άλλα κύτταρα και στην εξωκυττάρια μήτρα. Ένα γνωστό χαρακτηριστικό των μεταστατικών κυττάρων είναι η απώλεια του μορίου E-cadherin το οποίο είναι υπεύθυνο για την προσκόλληση των κυττάρων. Η αυξημένη έκφραση αυτού του μορίου λειτουργεί ως εμπόδιο για τη μετάσταση, σε αντίθεση με τη μειωμένη έκφρασή του η οποία προωθεί φαινοτύπους μετάστασης [15, 36].

Ο τροποποιημένος μεταβολισμός Η χρόνια και ανεξέλεγκτη αύξηση του αριθμού των καρκινικών κυττάρων δεν περιλαμβάνει μόνο τους απορρυθμισμένους μηχανισμούς αύξησης. Ο καρκίνος χρειάζεται μεγάλα ποσά ενέργειας για να τροφοδοτήσει αυτή τη δραστηριότητα. Υπό αερόβιες συνθήκες, τα υγιή κύτταρα μεταβολίζουν τη γλυκόζη, πρώτα σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω γλυκόλυσης στο κυτταρόπλασμα και μετά σε διοξείδιο του άνθρακα στα μιτοχόνδρια. Υπο αναερόβιες συνθήκες προτιμάται η γλυκόλυση και στη συνέχεια το πυροσταφυλικό οξύ μεταβολίζεται σε γαλακτικό οξύ ή αιθανόλη, ενώ μικρή ποσότητα πυροσταφυλικού οξέος μεταβολίζεται στα μιτοχόνδρια. Πρώτος ο Warburg παρατήρησε ότι ακόμα και σε αερόβιες συνθήκες τα καρκινικά κύτταρα περιορίζουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης μόνο στη γλυκόλυση και εμποδίζουν τα μιτοχόνδρια να ολοκληρώσουν τον μεταβολισμό της [15, 37]. Αντί, λοιπόν, να παράγουν τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) μέσω της ολοκληρωμένης κυτταρικής αναπνοής, τα καρκινικά κύτταρα επωφελούνται από τα ενδιάμεσα στάδια της ώντας αυξημένης γλυκόλυσης για να παράγουν δομικά στοιχεία (νουκλεοτίδια, αμινοξέα και λιπίδια) για την σύνθεση νέων κυττάρων [15, 38].

Παράκαμψη του ανοσοποιητικού συστήματος Ένα ακατανόητο, μέχρι στιγμής, θέμα αφορά τον ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος στην άμυνα κατά τον σχηματισμό και την ανάπτυξη καρκινικών όγκων. Σύμφωνα με τη μακροχρόνια θεωρία για την άμυνα του οργανισμού, το ανοσοποιητικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την αναγνώριση και την εξάλειψη καρκινικών κυττάρων πριν τον σχηματισμό όγκων. Με αυτή τη λογική, οι καρκινικοί όγκοι καταφέρνουν με κάποιο τρόπο να παρακάμψουν αυτή την ανοσολογική απόκριση. Πράγματι, μελέτες σε ποντίκια με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα έδειξαν ότι η ανάπτυξη όγκων σε αυτά ήταν συχνότερη και ταχύτερη από τα αντίστοιχα ανοσοϊκανά ποντίκια [15, 39]. Παρόλα αυτά, δεν έχει γίνει ακόμα κατανοητή η λειτουργία απόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος σε διάφορα είδη καρκίνων, είτε είναι ιογενή είτε όχι [15].

Γενετική αστάθεια Σχεδόν όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά οφείλονται, σε μεγάλο βαθμό, σε μεταλλάξεις στο γονιδίωμα των καρκινικών κυττάρων. Ο μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων οφείλεται στην βλάβη ενός ή περισσότερων επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA, ενώ μεγάλο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει το γονίδιο P53. Η απενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των μεταλλάξεων στο γονιδίωμα. Ορισμένοι μεταλλαγμένοι γονότυποι θα επικρατήσουν μέσω της διάδοσης των μεταλλάξεων κατά την κυτταρική διαίρεση [15, 40, 41].

Φλεγμονή Έχει παρατηρηθεί ότι οι καρκινικοί όγκοι περιέχουν, επίσης, κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος τα οποία εντοπίζονται σε περιπτώσεις φλεγμονών. Αυτή η ανοσολογική απόκριση φαίνεται, παραδόξως, να ενισχύει την ανάπτυξη του καρκίνου. Συγκεκριμένα, μπορεί να συμβάλλει στην παροχή μορίων όπως αυξητικούς παράγοντες, παράγοντες επιβίωσης που περιορίζουν τον κυτταρικό θάνατο, προαγγειακούς παράγοντες, ένζυμα που τροποποιούν την εξωκυττάρια μήτρα με σκοπό την ανάπτυξη αγγειακού συστήματος και την προώθηση της μετάστασης [15, 42].

Κεφάλαιο 3

Τρόποι αντιμετώπισης του καρκίνου: Χημειοθεραπεία

Οι τρεις συχνότεροι τρόποι αντιμετώπισης του καρκίνου είναι (1) η χειρουργική επέμβαση, (2) η χημειοθεραπεία και (3) η ραδιοθεραπεία. Επίσης, σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται η υπερθερμία, η ορμονοθεραπεία, εμφύτευση βλαστικών κυττάρων και η ανοσοθεραπεία. Από τους βασικούς τρόπους, η χειρουργική επέμβαση αποτελεί μια από τις συχνότερες μορφές αντιμετώπισης και συνδυάζεται μαζί με χημειοθεραπεία ή ραδιοθεραπεία ή και τα δυο για την πλήρη εξάλειψη του καρκίνου. Σε περιπτώσεις όπως η λευχαιμία για την οποία δεν μπορεί να εφαρμοστεί χειρουργική επέμβαση, κύρια μορφή θεραπείας είναι η χημειοθεραπεία η οποία συνδυάζεται με εμφύτευση βλαστικών κυττάρων [43]. Στην παρούσα μελέτη θα εστιάσουμε στη χημειοθεραπεία ως μορφή θεραπείας και στο πρόβλημα της αντίστασης του καρκίνου στη χημειοθεραπεία, μέρος του οποίου θα αναλύσουμε τη δυναμική του.

Η χημειοθεραπεία, ως μορφή αντιμετώπισης του καρκίνου, ξεκίνησε το 1950 ως ανάγκη θεραπείας της λευχαιμίας. Ο βασικότερος τρόπος λειτουργίας αυτής της μεθόδου είναι η κυτταροτοξικότητα, ενώ παράλληλα αναπτύσσονται και φάρμακα που στοχεύουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του καρκίνου. Η κυτταροτοξική θεραπεία είναι μη επιλεκτική, δηλαδή δρα σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, χωρίς να ξεχωρίζει τα καρκινικά από τα υγιή κύτταρα με αποτέλεσμα μια σειρά παρενεργειών για τον ασθενή [44]. Ο μηχανισμός δράσης της χημειοθεραπείας είναι, συνήθως, η παρεμπόδιση των βημάτων σύνθεσης DNA ή της πρόσδεσης των νουκλεοτιδίων που αποτελούν το DNA (πουρίνες και πυριμιδίνες) ή η επίθεση στην ολότητα του DNA. Οι περισσότερες ουσίες μεγιστοποιούν τη δράση τους όταν τα κύτταρα βρίσκονται στη φάση σύνθεσης (S) του κυτταρικού κύκλου, άλλες ουσίες (αλκαλοϊδή, ταξάνες) παρεμποδίζουν τη μίτωση των κυττάρων, ενώ άλλες (αλκυλικοί παράγοντες) δρουν καθ'όλη την διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Η χημειοθεραπεία, πλέον, χρησιμοποιείται ως κύρια θεραπεία, ως συμπληρωματική θεραπεία πριν ή μετά την κύρια θεραπεία (χειρουργική επέμβαση ή ραδιοθεραπεία) και ως θεραπεία μείωσης συμπτωμάτων σε περιπτώσεις μεταστατικού καρκίνου [45].

3.1 Το φαινόμενο της αντίστασης στη χημειοθεραπεία

Η αντίσταση στη χημειοθεραπεία είναι ένα φαινόμενο κατά το οποίο ο καρκίνος αποκτά ανοχή στη φαρμακευτική θεραπεία και κατ' επέκταση η θεραπεία αποτυγχάνει να εκπληρώσει το στόχο της. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε πρώτα σε βακτήρια τα οποία αποκτούσαν ανθεκτικότητα σε κάποια αντιβιοτικά αλλά παρόμοιες παρατηρήσεις υπήρξαν αργότερα και στον καρκίνο. Οι μηχανισμοί που επάγουν το φαινόμενο αυτό είναι [46]

- Απενεργοποίηση του φαρμάκου. Πολλά αντικαρκινικά φάρμακα όταν εισέλθουν στον οργανισμό, πρέπει να περάσουν από μια σειρά μεταβολικών διαδικασιών για να ενεργοποιηθεί η δράση τους. Η μετάλλαξη ή μειорύθμιση των μηχανισμών ενεργοποίησης των φαρμάκων έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη ενοργότητα του φαρμάκου [46].
- Τροποποίηση των μοριακών στόχων του φαρμάκου. Ορισμένα φάρμακα δρουν στοχεύοντας συγκεκριμένα μόρια που εντοπίζονται στον καρκίνο. Η μετάλλαξη ή τροποποίηση των επιπέδων έκφρασης αυτών των μοριακών στόχων αποτελεί καθοριστικό κριτήριο για την έκβαση της θεραπείας [46].
- Εκροή του φαρμάκου από τα κύτταρα. Ένας από τους πιο μελετημένους μηχανισμούς του φαινομένου αντίστασης αποτελεί η εκροή του φαρμάκου από το κύτταρο, η οποία οδηγεί σε μειωμένη συγκέντρωση φαρμάκου εντός των καρκινικών κυττάρων. Η οικογένεια πρωτεϊνών ABC εντοπίζονται στις πλασματικές μεμβράνες των υγιών κυττάρων και ο ρόλος τους είναι η απομάκρυνση τοξινών από το κύτταρο. Η αυξημένη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών στα καρκινικά κύτταρα οδηγεί στην εμφάνιση φαινομένων αντίστασης [46].
- Επιδιόρθωση βλαβών DNA. Η επιδιόρθωση βλαβών DNA έχει καθοριστικό ρόλο στην αντίσταση του καρκίνου. Πολλά φάρμακα στοχεύουν έμμεσα ή άμεσα στη βλάβη του DNA έτσι ώστε να επάγουν απόπτωση. Η απόκριση των επιδιορθωτικών μηχανισμών μπορεί όμως να αντιστρέψει το αποτέλεσμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η θεραπεία με φάρμακο πλατίνας, όπως το Cisplatin το οποίο προκαλεί βλαβερές διασυνδέσεις στο DNA, οδηγώντας σε απόπτωση. Η αντίσταση σε αυτό το φάρμακο προέρχεται από τη δράση των επιδιορθωτικών μηχανισμών NER οι οποίοι επιδιορθώνουν τέτοιου είδους βλάβες, αναστρέφοντας έτσι την δράση της πλατίνας [46].
- Καταστολή κυτταρικού θανάτου. Η αντίσταση στην απόπτωση είναι ένα από τα χαρακτηριστικά του καρκίνου που συζητήθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο. Πολλές αντικαρκινικές στρατηγικές στοχεύουν στον μηχανισμό της απόπτωσης με σκοπό τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι μηχανισμοί απόπτωσης είναι ήδη απορυθμισμένοι και οδηγούν σε αποτυχία της θεραπείας [47].
- Επιθηλιακή - Μεσεγγυματική μετάβαση (EMT). Η επιθηλιακή - μεσεγγυματική μετάβαση είναι ο μηχανισμός κατά τον οποίο τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν

μεταστατικό φαινότυπο. Κατά το EMT, τα καρκινικά κύτταρα μειώνουν την έκφραση υποδοχέων που βοηθούν στην προσκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους και αυξάνουν την έκφραση υποδοχέων που προωθούν την κινητικότητα των κυττάρων. Η αντίσταση στη χημειοθεραπεία οφείλεται στη διαδικασία σηματοδότησης της διαφοροποίησης των μεταστατικών καρκινικών κυττάρων η οποία είναι απαραίτητη για το EMT [46].

- Ετερογένεια μεταξύ των κυττάρων. Μια ακόμη αιτία για το φαινόμενο αντίστασης στη χημειοθεραπεία είναι η παρουσία κυττάρων εξαρχής ανθεκτικών στη χημειοθεραπεία. Σύγχρονες μελέτες δείχνουν ότι ένα μέρος ενός πληθυσμού κυττάρων έχει τις ιδιότητες των βλαστικών κυττάρων και είναι, συνήθως, ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία [48, 49]. Επίσης, υπάρχει πιθανότητα να υπάρχει ένα μικρό μέρος καρκινικών κυττάρων τα οποία έχουν και αυτά ανθεκτικό φαινότυπο. Δεδομένου ότι η χημειοθεραπεία θα δράσει μόνο στα ευαίσθητα κύτταρα, τα υπόλοιπα ανθεκτικά θα επωφεληθούν από την απελευθέρωση του χώρου λόγω μείωσης των ευαίσθητων κυττάρων και θα επεκταθούν [46].
- Επιγενετικές τροποποιήσεις. Δυο μηχανισμοί οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν αντίσταση στη χημειοθεραπεία είναι η μεθυλίωση του DNA και η τροποποίηση των ιστονών μέσω ακετυλίωσης και μεθυλίωσης. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορούν να ρυθμίσουν την έκφραση γονιδίων σε όλο το χρωμόσωμα και με τη σειρά τους τα γονίδια να πυροδοτήσουν κάποιους ήδη προαναφερθέντες μηχανισμούς αντίστασης [46].

Η αντιμετώπιση του φαινομένου αντίστασης συνήθως προσεγγίζεται με μεγάλες δόσεις φαρμάκων και συνδυασμών πολλών δραστικών ουσιών. Οι στρατηγικές αυτές οδηγούν σε περισσότερες παρενέργειες για τους ασθενείς [44]. Σύγχρονες μελέτες ερευνούν, επίσης, την κατασκευή παραγόντων οι οποίοι στοχεύουν στην εξάλειψη των μηχανισμών της αντίστασης [50, 51].

Κεφάλαιο 4

Μαθηματική προτυποποίηση του φαινομένου αντίστασης στη χημειοθεραπεία

Η αντίσταση στη χημειοθεραπεία, όπως διαπιστώνεται, είναι ένα αρκετά περίπλοκο φαινόμενο. Μια πιθανή λύση σε αυτό το πρόβλημα έρχεται να δώσει η μαθηματική προτυποποίηση, συνεισφέροντας τόσο στην καθοδήγηση πειραμάτων όσο και στην κατανόηση διάφορων βιολογικών μηχανισμών και τον σχεδιασμό αποδοτικότερων θεραπειών [52].

Τα μαθηματικά μοντέλα που περιγράφουν το φαινόμενο της αντίστασης στη χημειοθεραπεία ποικίλουν από αιτιατά μέχρι στοχαστικά και από διακριτά μέχρι συνεχή, ανάλογα με την κλίμακα και τους μηχανισμούς που περιγράφουν [52]. Ορισμένα μοντέλα προσεγγίζουν το φαινόμενο αντίστασης η οποία προκαλείται από τη θεραπεία (therapy - induced drug resistance), με συνδυασμό φαρμάκων και στοχεύουν στη βελτιστοποίηση των πλάνων θεραπείας [52, 53]. Παράλληλα, κατασκευάζονται μοντέλα τα οποία περιγράφουν τις αλληλεπιδράσεις του όγκου με το μικροπεριβάλλον και το ρόλο του περιβάλλοντος ιστού στην πρόκληση του φαινομένου αντίστασης στη θεραπεία (environment-mediated drug resistance) [54].

4.1 Δυναμική καρκίνου με αντίσταση σε χημειοθεραπεία

Στην παρούσα μελέτη θα αναλύσουμε τη δυναμική ενός μοντέλου που περιγράφει τις αλληλεπιδράσεις σε δυο πληθυσμούς καρκινικών κυττάρων, κύτταρα ευαίσθητα και κύτταρα που παρουσιάζουν αντίσταση σε χημειοθεραπεία. Οι Ledzewicz και Schättler κατασκεύασαν, αρχικά, το μοντέλο ως ένα σύστημα από γραμμικές συνήθεις διαφορικές εξισώσεις [55], ενώ στη συνέχεια οι Χατζηανδρέου και Μήτσης [1] τροποποίησαν το μοντέλο προσθέτοντας μη-γραμμικούς όρους, ώστε να περιγράψουν τον ανταγωνισμό μεταξύ των δυο πληθυσμών σε φυσικές παροχές (οξυγόνο, θρεπτικά συστατικά). Το μοντέλο αποτελείται από δυο διαμερίσεις οι οποίες αντιστοιχούν στα ευαίσθητα κύτταρα, T_S , και στα κύτταρα με ανοχή στο φάρμακο, T_R . Ο ολικός όγκος εκφράζεται ως $T_T = T_S + T_R$. Κατά την κυτταρική διαίρεση ενός ευαίσθητου κυττάρου, ένα από τα

δύο θυγατρικά κύτταρα παραμένει ευαίσθητο. Το δεύτερο κύτταρο έχει πιθανότητα μ_{SR} , όπου $0 < \mu_{SR} < 1$, να μετατραπεί σε ανθεκτικό κύτταρο. Με παρόμοιο τρόπο, κατά τη διαίρεση ενός ανθεκτικού κυττάρου, ένα θυγατρικό κύτταρο εξακολουθεί να παρουσιάζει ανοχή στο φάρμακο, ενώ το δεύτερο θυγατρικό κύτταρο μετατρέπεται σε ευαίσθητο με πιθανότητα μ_{RS} , όπου $0 < \mu_{RS} < 1$.

$$\frac{dT_S}{dt} = -\alpha T_S(t) + (1 - u(t))(2 - \mu_{SR})\alpha T_S(t) + \mu_{RS}a\varphi T_R(t) - r_1 T_S T_R \quad (4.1)$$

$$\frac{dT_R}{dt} = -a\varphi T_R(t) + (2 - \mu_{RS})a\varphi T_R(t) + (1 - u(t))\mu_{SR}\alpha T_S(t) - r_2 T_R T_S \quad (4.2)$$

$$T(t) = T_S(t) + T_R(t) \quad (4.3)$$

Οι όροι $-\alpha T_S(t)$ και $-a\varphi T_R(t)$ των εξισώσεων (4.1) και (4.2) περιγράφουν τον κυτταρικό θάνατο του μητρικού κυττάρου, όπου a ο ρυθμός με τον οποίο επέρχεται, ενώ η παράμετρος φ αφορά τη “φυσική κατάσταση” των ανθεκτικών κυττάρων ως προς τον ρυθμό αύξησης και μείωσής τους αλλά και την ικανότητά τους ανταγωνιστούν τα ευαίσθητα κύτταρα για την εξασφάλιση των απαραίτητων αναγκών διαβίωσης. Ο όρος $(1 - u(t))(2 - \mu_{SR})\alpha T_S(t)$ της εξίσωσης 4.1 περιγράφει τη μείωση των ευαίσθητων κυττάρων λόγω χημειοθεραπείας και μετατροπής των ευαίσθητων κυττάρων σε ανθεκτικά κύτταρα. Εδώ η παράμετρος $u(t)$ αποτελεί το μέτρο απόδοσης της θεραπείας και παρακάτω θα συζητηθεί ο τρόπος με τον οποίο ποσοτικοποιείται. Αντίστοιχα, στην εξίσωση (4.2) ο όρος $(2 - \mu_{RS})a\varphi T_R(t)$ αφορά τη μείωση των ανθεκτικών κυττάρων λόγω μετατροπής τους σε ευαίσθητα κύτταρα. Επισημαίνουμε ότι η παράμετρος $u(t)$ απουσιάζει σε αυτό τον όρο διότι η θεραπεία δεν έχει καμία επίδραση στα ανθεκτικά κύτταρα. Συνεχίζοντας, οι όροι $\mu_{RS}a\varphi T_R(t)$ και $(1 - u(t))\mu_{SR}\alpha T_S(t)$ των εξισώσεων (4.1) και (4.2), αντίστοιχα, περιγράφουν την ανταλλαγή πληθυσμών από ανθεκτικά σε ευαίσθητα κύτταρα και αντιστρόφως, με τα ευαίσθητα κύτταρα να επηρεάζονται από τη θεραπεία. Ολοκληρώνοντας την περιγραφή, οι τελευταίοι όροι στο δεξί μέλος των εξισώσεων (4.1) και (4.2) είναι οι όροι ανταγωνισμού των δυο πληθυσμών με σταθερές r_1, r_2 , όπου $r_1 < r_2$. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η παράμετρος $u(t)$ αναφέρεται στην αποδοτικότητα της θεραπείας με $u(t) \in [0, 1]$, όπου 0 αντιστοιχεί σε απουσία θεραπείας, ενώ 1 σε πλήρη θεραπεία.

α (d^{-1})	0.171
$\mu_{S,R}$	0.109
φ	0.9
r_1 ($mm^{-3}d^{-1}$)	$5 \cdot 10^{-6}$
r_2 ($mm^{-3}d^{-1}$)	$1.1 \cdot 10^{-4}$
u	[0, 1]
$\mu_{R,S}$	[0, 1]

Πίνακας 4.1: Παράμετροι του μη-γραμμικού μοντέλου των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων. [1]

4.1.1 Σημεία ισορροπίας & Ανάλυση ευστάθειας

Σημεία ισορροπίας

Ορισμός 1. Ένα σημείο $\bar{x} \in \mathbb{R}$ ονομάζεται σημείο ισορροπίας του $\dot{x} = f(x)$, εάν $f(\bar{x}) = 0$. [56]

Η εύρεση των σημείων ισορροπίας θα μας βοηθήσει να καταλάβουμε τη συμπεριφορά των λύσεων του υπό μελέτη συστήματος. Τα σημεία ισορροπίας μπορεί να είναι ευσταθή, ασταθή ή ασυμπτωτικά ευσταθή.

Ορισμός 2. Ένα σημείο ισορροπίας \bar{x} της εξίσωσης $\dot{x} = f(x)$ ονομάζεται ευσταθές, εάν $\forall \varepsilon > 0$, υπάρχει $\delta > 0$, το οποίο εξαρτάται εν γένει από το ε , τέτοιο ώστε, $\forall x_0$ για το οποίο $|x_0 - \bar{x}| < \delta$, η λύση $\varphi(t, x_0)$ που διέρχεται από το σημείο x_0 τη χρονική στιγμή $t = 0$ να είναι κοντά στο \bar{x} , δηλαδή $|\varphi(t, x_0) - \bar{x}| < \varepsilon$ για όλα το $t \geq 0$. Ένα σημείο ισορροπίας το οποίο δεν είναι ευσταθές, ονομάζεται ασταθές. [56]

Ορισμός 3. Ένα σημείο ισορροπίας \bar{x} ονομάζεται ασυμπτωτικά ευσταθές εάν είναι ευσταθές και, επιπρόσθετα, υπάρχει $r > 0$ τέτοιο ώστε $|\varphi(t, x_0) - \bar{x}| \rightarrow 0$ καθώς το $t \rightarrow \infty$ για κάθε x_0 που ικανοποιεί τη σχέση $|x_0 - \bar{x}| < r$. [56]

Στην πράξη τα σημεία ισορροπίας μπορούν να μας δώσουν σημαντικές πληροφορίες για τη συμπεριφορά βιολογικών συστημάτων. Ειδικά για την μελέτη καρκίνου, τα σημεία ισορροπίας μεταξύ δυο τύπων κυττάρων μπορούν να μας δώσουν πληροφορίες για την ετερογένειά του, καθώς επίσης για τον προγραμματισμό αποδοτικότερων πλάων θεραπείας [57, 58]. Μάλιστα, σε πρόσφατη μελέτη οι Gupta et al. [59] έδειξαν ότι σε συγκεκριμένες συνθήκες κάθε υποπληθυσμός καρκινικών κυττάρων, ύστερα από διαταραχή της φαινοτυπικής τους κατάστασης, θα επιστρέψει σε ισορροπία των φαινοτυπικών του χαρακτηριστικών, με την πάροδο του χρόνου.

Ερχόμενοι, επομένως, στο μοντέλο καρκίνου με την επίδραση χημειοθεραπείας, βρίσκουμε τις εξής γενικές λύσεις των σημείων ισορροπίας των εξισώσεων (4.1) και (4.2):

$$T_S^* = \frac{\alpha \varphi [(1 - \mu_{RS})(1 - 2u) - (1 - u)\mu_{SR}]}{r_2(1 - 2u) - (1 - u)(r_2 + r_1)\mu_{SR}} \quad (4.4)$$

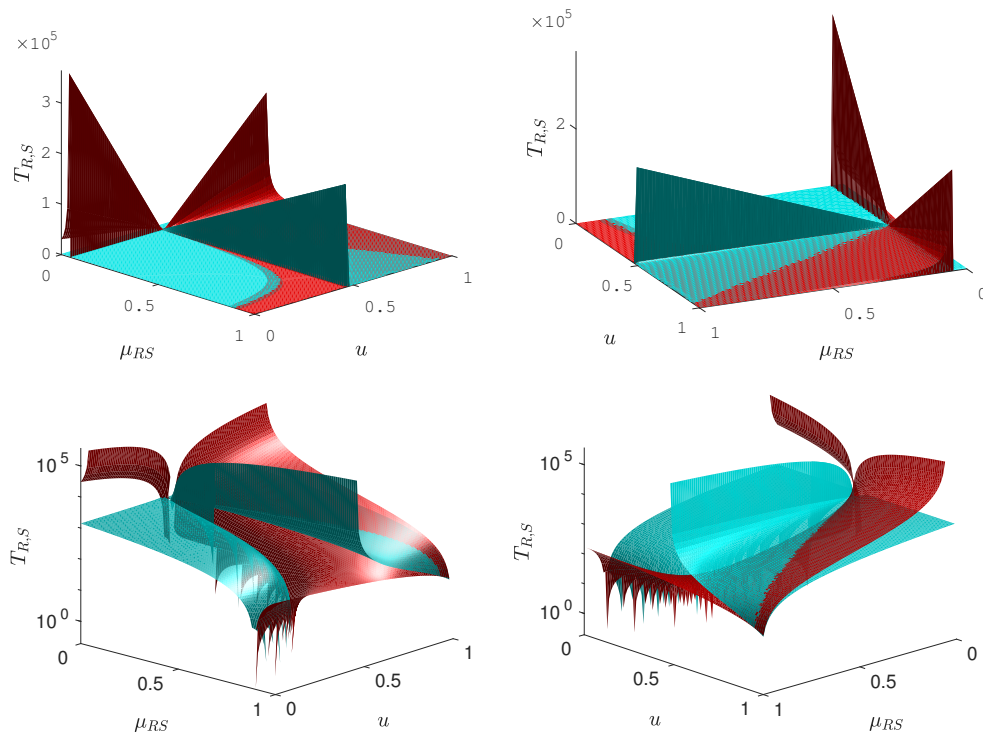
$$T_R^* = \frac{\alpha [(1 - \mu_{RS})(1 - 2u) - (1 - u)\mu_{SR}]}{(1 - \mu_{RS})(r_2 - r_1) - 1} \quad (4.5)$$

και

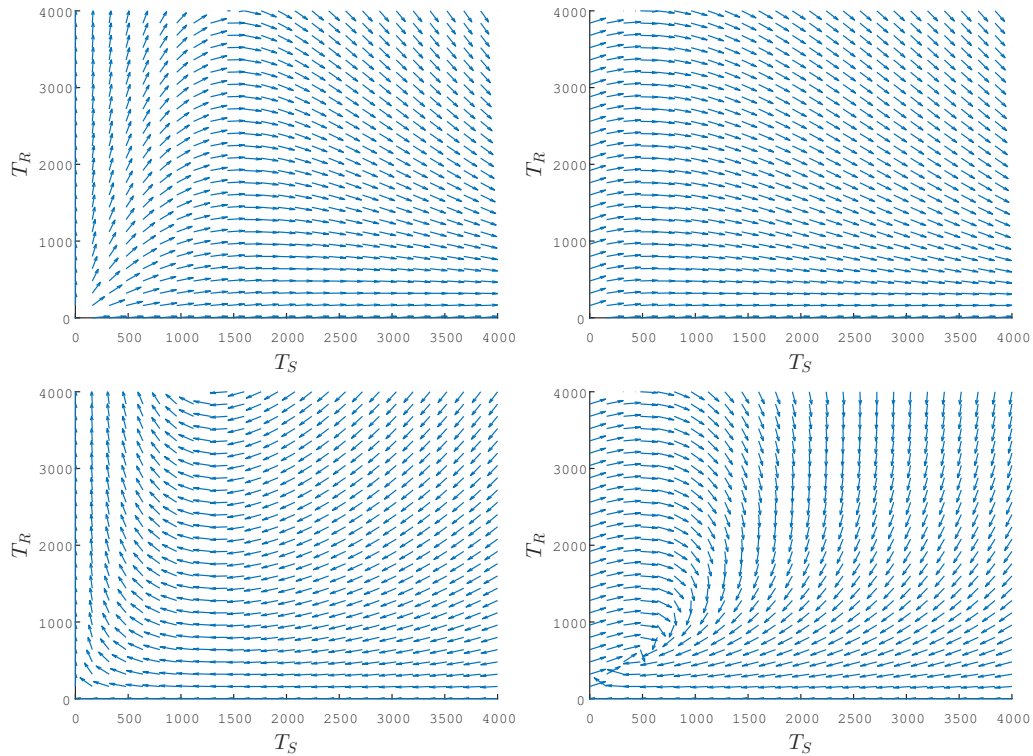
$$T_S^* = T_R^* = 0 \quad (4.6)$$

Κάνοντας μια περαιτέρω διερεύνηση, μπορούμε να δούμε τη θέση των σημείων ισορροπίας T_S^* και T_R^* στο χώρο, για κάθε τιμή των παραμέτρων u και μ_{RS} . Ο λόγος για τον οποίο στρέφουμε την προσοχή μας στη συμπεριφορά του μοντέλου κατά τη μεταβολή των παραμέτρων u και μ_{RS} είναι το γεγονός ότι τα δυο αυτά μεγέθη παρουσιάζουν ενδείξεις αλληλεξάρτησης. Μια ένδειξη αφορά τη χαμηλή αποδοτικότητα της θεραπείας και την εμφάνιση του φαινομένου αντίστασης. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με την υπόθεση

Norton - Simon [60] η πιθανότητα εξάλειψης του όγκου αυξάνεται όταν χορηγείται η μέγιστη δυνατή δόση σε όσο το δυνατόν μικρότερο χρονικό διάστημα. Η αλληλέξαρτησή τους φαίνεται κατά την απουσία χορήγησης φαρμάκου για μεγάλο χρονικό διάστημα η οποία συνδέεται με τη μείωση του φαινομένου της αντίστασης. Υπάρχουν αρκετές περιπτώσεις ασθενών στους οποίους, αρχικά, παρατηρείται αυξανόμενη αντίσταση σε συγκεκριμένο παράγοντα αλλά επαναχορήγησή του, ύστερα από ένα χρονικό διάστημα απουσίας του, δείχνει θετική ανταπόκριση [61]. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε, επίσης, από τους Hong et al. [62] στην περίπτωση μελάνωματος. Οι Hong et al. χορήγησαν τον αναστολέα MAPK, (MAPKi) και σε βάθος χρόνου παρατήρησαν ανάπτυξη αντίστασης στο μελάνωμα. Κατά τη διακοπή και επανένταξη του αναστολέα, μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, η αντίσταση στο φάρμακο είχε ελαττωθεί σημαντικά.



Σχήμα 4.1: Σημεία ισορροπίας ευαίσθητων καρκινικών κυττάρων (κυανό χρώμα) και καρκινικών κυττάρων αντίστασης (κόκκινο χρώμα) για κάθε συνδυασμό u και μ_{RS} . • Πάνω: άξονες σε γραμμική κλίμακα. • Κάτω: $T_{R,S}$ -άξονας σε λογαριθμική κλίμακα.

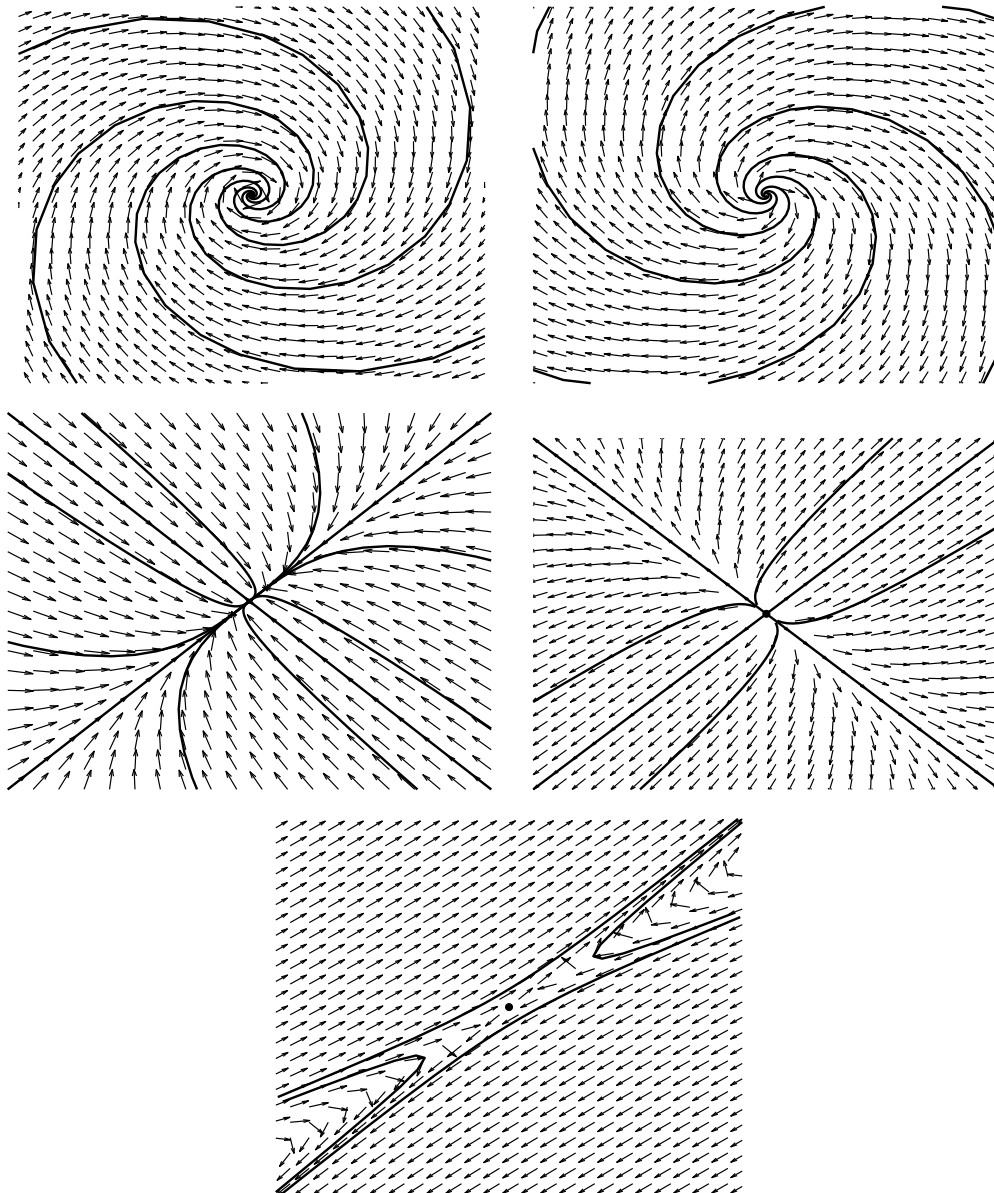


Σχήμα 4.2: Διαγράμματα ρών για ευαίσθητα κύτταρα, T_S και κύτταρα αντίστασης, T_R .
 • Πάνω αριστερά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.01, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$. • Πάνω δεξιά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.7, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$.
 • Κάτω αριστερά: $u = 0.9, \mu_{RS} = 0.01, (T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$. • Κάτω δεξιά: $u = 0.9, \mu_{RS} = 0.7, (T_{S1}^*, T_{R1}^*) = (0, 0)$ και $(T_{S2}^*, T_{R2}^*) = (435, 571)$.

Στο σχήμα 4.1 παρατηρούμε τα σημεία ισορροπίας τα οποία προσδιορίστηκαν από τις σχέσεις (4.4) και (4.5) για όλες τις δυνατές τιμές των u και μ_{RS} . Παρατηρούμε ότι τα σημεία ισορροπίας των ανθεκτικών κυττάρων μεγιστοποιούνται για μικρά μ_{RS} , γεγονός αναμενόμενο από τη στιγμή που τα κύτταρα αυτά δεν θανατώνονται από τη θεραπεία και έχουν μικρή πιθανότητα μετατροπής σε ευαίσθητα. Για τα ευαίσθητα κύτταρα παρατηρούμε ότι τα μέγιστα των σημείων ισορροπίας συγκεντρώνονται στο κατακόρυφο επίπεδο που ορίζει το $u = 0.5$. Για το επίπεδο αυτό η συμπεριφορά των σημείων ισορροπίας των ευαίσθητων κυττάρων είναι αύξουσα με το μ_{RS} . Μάλιστα, η μεγιστοποίηση αυτή μας προετοιμάζει για μια αλλαγή στη συμπεριφορά των σημείων ισορροπίας από ασταθή σε ευσταθή ή το αντίστροφο. Διαφορετικά, ίσως θα περιμέναμε να το δούμε στο κατακόρυφο επίπεδο με $u = 0$, διότι η λειτουργία του u είναι να μειώνει τον αριθμό των ευαίσθητων καρχινικών κυττάρων.

Μια πιο ξεκάθαρη εικόνα έχουμε στα διαγράμματα ρών του σχήματος 4.2. Παρατηρούμε ότι και για τα τέσσερα διαφορετικά ζεύγη (u, μ_{RS}) το σημείο ισορροπίας $(T_S^*, T_R^*) = (0, 0)$ φαίνεται να είναι ασταθές διότι όλες τροχιές που ξεκινούν κοντά σε αυτό, δείχνουν να απομακρύνονται. Απουσία θεραπείας (σχήμα 4.2 πάνω) παρατηρείται μια μικρή αύξηση και στη συνέχεια μια μείωση του πληθυσμού των ανθεκτικών κυττάρων, η οποία εξαρτάται από την παράμετρο μ_{RS} . Η παρατήρηση αυτή φαίνεται να συμφωνεί με την υπόθεση ότι το μοντέλο μας περιγράφει αντίσταση που προκαλείται από την εφαρμοζόμενη θεραπεία. Μάλιστα, στην περίπτωση θεραπείας με αποδοτικότητα 0.9 και έχοντας μικρή πιθανότητα τα ανθεκτικά κύτταρα να γίνουν ευαίσθητα (σχήμα 4.2 κάτω

αριστερά) παρατηρούμε εκθετική αύξηση του πληθυσμού των ανθεκτικών κυττάρων, ενώ τα ευαίσθητα κύτταρα καταστέλλονται από τη θεραπεία. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η περίπτωση στην οποία έχουμε αποδοτική θεραπεία αλλά και 70% πιθανότητα τα ανθεκτικά κύτταρα να μετατραπούν σε ευαίσθητα κύτταρα (σχήμα 4.2 κάτω δεξιά). Στην περίπτωση αυτή παρατηρούμε ένα σημείο ευστάθειας διαφορετικό του μηδενός. Είναι εμφανές ότι σημεία ισορροπίας σαν αυτό αποτελούν ενδείξεις όχι για την εξάλειψη αλλά για έναν ικανοποιητικό έλεγχο του συνολικού πληθυσμού των καρκινικών κυττάρων. Οι παραπάνω παρατηρήσεις επιβεβαιώνονται με τα αποτελέσματα της αριθμητικής επίλυσης του μοντέλου στο σχήμα 4.5. Η αριθμητική επίλυση του μοντέλου έγινε με τη μέθοδο Runge Kutta.



Σχήμα 4.3: • Πρώτη σειρά: ευσταθές (αριστερά) και ασταθές (δεξιά) σπειροειδές σημείο. • Δεύτερη σειρά: ευσταθής (αριστερά) και ασταθής (δεξιά) κόμβος. • Τρίτη σειρά: σαγματικό σημείο.

Γραμμική ανάλυση ευστάθειας

Στόχος αυτής της ανάλυσης είναι ο χαρακτηρισμός των σημείων ισορροπίας. Για το λόγο αυτό θα γραμμικοποιήσουμε το μοντέλο γύρω από το σημείο ισορροπίας. Η γραμμικοποίηση γίνεται ως εξής

Έστω το σύστημα

$$\dot{x} = f(x, y)$$

$$\dot{y} = g(x, y)$$

και υποθέτουμε ότι (x^*, y^*) είναι ένα σημείο ισορροπίας, δηλαδή,

$$f(x^*, y^*) = 0, \quad g(x^*, y^*) = 0$$

Έστω

$$u = x - x^*, \quad v = y - y^*$$

οι συνιστώσες μιας μικρής διαταραχής γύρω από το σημείο ισορροπίας. Για να διαπιστώσουμε εάν αυτή η διαταραχή αυξάνεται ή εξασθενεί, θα χρειαστούμε τις εκφράσεις για τη διαφορά των u και v . Αντικαθιστώντας τα u και v στις συναρτήσεις f και g και αναπτύσσοντας κατά σειρά Taylor γύρω από το σημείο ισορροπίας (x^*, y^*) , καταλήγουμε στις σχέσεις

$$\dot{u} = u \left. \frac{\partial f}{\partial x} \right|_{(x^*, y^*)} + v \left. \frac{\partial f}{\partial y} \right|_{(x^*, y^*)} + O(u^2, v^2, uv)$$

$$\dot{v} = u \left. \frac{\partial g}{\partial x} \right|_{(x^*, y^*)} + v \left. \frac{\partial g}{\partial y} \right|_{(x^*, y^*)} + O(u^2, v^2, uv)$$

Με τον συμβολισμό $O(u^2, v^2, uv)$ αναφερόμαστε στους τετραγωνικούς όρους για τους οποίους ισχύει $\lim_{r \rightarrow 0} \frac{O(u^2, v^2, uv)}{r} = 0$, όπου $r = \sqrt{u^2 + v^2}$. Επειδή αναφερόμαστε σε διαταραχές, οι όροι u και v είναι αρκετά μικροί, συνεπώς οι τετραγωνικοί όροι είναι ακόμα πιο μικροί και μπορούμε να τους παραλείψουμε. Σε αυτό το σημείο ο αναγνώστης, εύλογα, θα αναρωτηθεί για το αν και πόσο επιδρούν οι μικροί μη-γραμμικοί όροι στην ακρίβεια των λύσεών μας. Η απάντηση, σύμφωνα με τους Andronov et al. [63], είναι ότι εάν το γραμμικοποιημένο μοντέλο προβλέπει σαγματικό σημείο, κόμβο ή σπειροειδές σημείο σχήμα 4.3 τότε τα σημεία αυτά αντιστοιχούν στο μη-γραμμικό μοντέλο. Στην περίπτωση μας, όπως θα δούμε παρακάτω, έχουμε μόνο αυτού του είδους τα σημεία. Επομένως, μπορούμε να γράψουμε

$$\begin{pmatrix} \dot{u} \\ \dot{v} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial u} & \frac{\partial f}{\partial v} \\ \frac{\partial g}{\partial u} & \frac{\partial g}{\partial v} \end{pmatrix}_{(x^*, y^*)} \begin{pmatrix} u \\ v \end{pmatrix}$$

Ο πίνακας

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial u} & \frac{\partial f}{\partial v} \\ \frac{\partial g}{\partial u} & \frac{\partial g}{\partial v} \end{pmatrix}_{(x^*, y^*)}$$

είναι ο Ιακωβιανός πίνακας στο σημείο ισορροπίας (x^*, y^*) . Η διαγωνοποίηση του Ιακωβιανού πίνακα θα οδηγήσει στην αποσύζευξη του συστήματος των δυο εξισώσεων. Επομένως, καταλήγουμε σε λύσεις της μορφής

$$\vec{x}(t) = c_1 e^{\lambda_1 t} \vec{v}_1 + c_2 e^{\lambda_2 t} \vec{v}_2$$

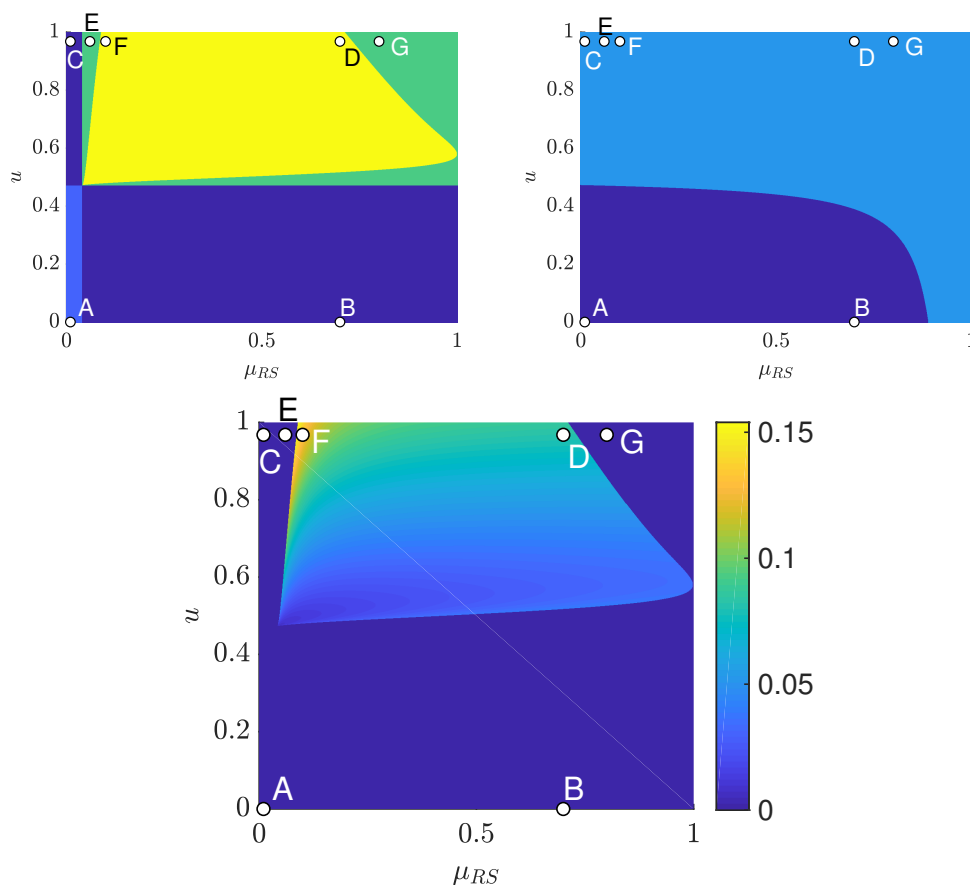
όπου $\lambda_{1,2}$ οι ιδιοτιμές και $v_{1,2}$ τα ιδιοδιανύσματα του Ιακωβιανού πίνακα. Για να ταυτοποιήσουμε τα σημεία ισορροπίας θα χρειαστούμε την ορίζουσα, $\Delta = \lambda_1 \lambda_2$ και το ίχνος, $\tau = \lambda_1 + \lambda_2$, του διαγωνοποιημένου πίνακα. Λαμβάνουμε τις παρακάτω περιπτώσεις [64].

- Αν $\Delta < 0$, τότε οι ιδιοτιμές είναι πραγματικές και έχουν αντίθετα πρόσημα. Άρα, το σημείο ισορροπίας είναι σαγματικό σχήμα 4.3.
- Αν $\Delta > 0$, τότε οι ιδιοτιμές είτε είναι πραγματικές με το ίδιο πρόσημο (κόμβοι), είτε είναι μιγαδικές συζυγείς (σπειροειδή και ελλειπτικά σημεία). Οι κόμβοι ικανοποιούν τη συνθήκη $\tau^2 - 4\Delta > 0$ και τα σπειροειδή σημεία τη συνθήκη $\tau^2 - 4\Delta < 0$. Η συνθήκη $\tau^2 - 4\Delta = 0$ της οποίας ο γεωμετρικός τόπος είναι παραβολή είναι το σύνορο μεταξύ κόμβων και σπειροειδών σημείων. Σε αυτή την παραβολή βρίσκονται οι ιδιάζοντες κόμβοι και οι εκφυλισμένοι κόμβοι. Η ευστάθεια των κόμβων και των σπειροειδών σημείων καθορίζεται από του πρόσημου του ίχνους, τ . Όταν $\tau < 0$, οι δυο ιδιοτιμές έχουν αρνητικά πραγματικά μέρη και το σημείο είναι ευσταθές. Το αντίθετο συμβαίνει για $\tau > 0$. Επίσης, για $\tau = 0$ υπάρχουν τα ουδέτερα ευσταθή ελλειπτικά σημεία, για τα οποία οι ιδιοτιμές είναι φανταστικές.
- Αν $\Delta = 0$, τότε τουλάχιστον μια από τις ιδιοτιμές ισούται με μηδέν. Σε αυτή την περίπτωση δεν έχουμε μόνο ένα σημείο ισορροπίας, αλλά ένα σύνολο σημείων των οποίων ο γεωμετρικός τόπος είναι μια γραμμή εάν μια ιδιοτιμή είναι μηδενική, ή ένα επίπεδο εάν και οι δυο ιδιοτιμές είναι μηδέν.

Εφαρμόζοντας, λοιπόν, την παραπάνω ανάλυση στο καρκινικό μοντέλο καταλήγουμε στον Ιακωβιανό πίνακα

$$J = \begin{pmatrix} \alpha [(1-u)(2-\mu_{SR}) - 1] - r_1 T_R^* & \mu_{RS} \alpha \varphi - r_1 T_S^* \\ \alpha \mu_{SR} (1-u) - r_2 T_S^* & \alpha \varphi [(2-\mu_{RS}) - 1] - r_2 T_S^* \end{pmatrix}$$

Στο σχήμα 4.4 παρατηρούμε το διάγραμμα ισορροπίας των μη μηδενικών (πάνω αριστερά) και των μηδενικών σημείων ισορροπίας (πάνω δεξιά) για όλες τις δυνατές τιμές των u και μ_{RS} . Συγκεκριμένα, για τα μη μηδενικά σημεία ισορροπίας, με κίτρινο χρώμα απεικονίζονται τα ευσταθή σπειροειδή σημεία, με πράσινο οι ευσταθείς κόμβοι, με ανοιχτό μπλε τα σαγματικά σημεία και με κλειστό μπλε τα υπολοιπα ασταθή σημεία. Για τα μηδενικά σημεία ισορροπίας έχουμε με ανοιχτό μπλε τα σαγματικά σημεία και με κλειστό μπλε τα υπόλοιπα ασταθή σημεία. Επίσης, στο σχήμα 4.4 (κάτω) απεικονίζεται το μέτρο των ιδιοτιμών των ευσταθών σπειροειδών σημείων. Η απεικόνιση αυτή μας βοηθά να κατανοήσουμε τον ρυθμό με τον οποίο οι τροχίες καταλήγουν σημείο ευστάθειας.



Σχήμα 4.4: • Πάνω αριστερά: Αναγνώριση μη μηδενικών σημείων ισορροπίας για τις διάφορες τιμές των u και μ_{RS} . Με κίτρινο χρώμα απεικονίζονται τα ευσταθή σπειροειδή σημεία, με πράσινο χρώμα οι ευσταθείς κόμβοι, με ανοιχτό μπλε τα σημεία σάγματος και με κλειστό μπλε χρώμα λοιπά ασταθή σημεία. • Πάνω δεξιά: Αναγνώριση μηδενικών σημείων ισορροπίας για τις διάφορες τιμές των u και μ_{RS} . Με ανοιχτό μπλε χρώμα απεικονίζονται σημεία σάγματος και με κλειστό μπλε λοιπά ασταθή σημεία. • Κάτω: Ρυθμός σύγκλισης στα ευσταθή σπειροειδή σημεία.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να ερμηνεύσουμε την ύπαρξη αυτών των σημείων ισορροπίας. Ξεκινώντας από τα μηδενικά σημεία ισορροπίας παρατηρούμε ότι χωρίζονται σε ασταθή και σαγματικά. Στην περίπτωση των ασταθών σημείων ισορροπίας το μόνο που μπορούμε να πούμε είναι ότι όλες οι τροχιές απομακρύνονται από το μηδέν και, συνεπώς, δεν υπάρχει τρόπος να το προσεγγίσουμε. Όσον αφορά τα σαγματικά σημεία, υπάρχουν τροχιές οι οποίες οδηγούν στο μηδέν και άλλες οι οποίες απομακρύνονται από αυτό. Άρα, σε αυτή την περίπτωση είναι οι παράμετροι του μοντέλου και οι αρχικές συνθήκες του όγκου αυτές που θα καθορίσουν την έκβαση της θεραπείας. Περνώντας στα μη μηδενικά σημεία ισορροπίας, βλέπουμε αρχικά ότι υπάρχουν και εδώ ασταθή και σαγματικά σημεία, όμως υπάρχουν ευσταθείς κόμβοι και ευσταθή σπειροειδή σημεία. Το γεγονός αυτό με μια πρώτη ματιά σημαίνει ότι υπάρχουν συνθήκες όπου ο χαρκινικός όγκος δεν μπορεί να εξαλειφθεί μεν αλλά μας δίνεται η δυνατότητα ελέγχου του σε συγκεκριμένα μεγέθη, όπου τα ανθεκτικά και ευαίσθητα χαρκινικά κύτταρα συνυπάρχουν. Μάλιστα, στην περίπτωση των ευσταθών σπειροειδών σημείων

μπορούμε ανάλογα με τις παραμέτρους του μοντέλου – στη συγκεκριμένη περίπτωση, το μ_{RS} – να βελτιστοποιήσουμε την αποδοτικότητα της θεραπείας, u , έτσι ώστε να αυξήσουμε όσο το δυνατόν περισσότερο τον ρυθμό με τον οποίο το μέγεθος του όγκου θα συρρικνωθεί μέχρι το σημείο ισορροπίας.

Αποκλεισμός κλειστών τροχιών

Κάνουμε ένα επιπρόσθετο βήμα για να εξαγάγουμε συμπεράσματα για το μη-γραμμικό μοντέλο. Σε αυτή την παράγραφο θα αποδείξουμε ότι το μοντέλο μας δεν έχει οριακούς κύκλους. Παρακάτω ακολουθεί ο ορισμός του οριακού κύκλου, το θεώρημα Dulac με το οποίο αποδεικνύεται η ανυπαρξία οριακών κύκλων.

Ορισμός 4. Ως οριακό κύκλο ορίζουμε μια κλειστή απομονωμένη περιοδική τροχιά, δηλαδή μια ομαλή συνεχή καμπύλη, η οποία είναι τοπολογικά ισοδύναμη με κύκλο, εφόσον μπορεί να μετασχηματισθεί σε αυτόν μετά από συνεχείς και διαφορίσιμους μετασχηματισμούς των μεταβλητών του συστήματος. [65]

Θεώρημα 1. (Κριτήριο Dulac) Έστω $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x})$ ένα συνεχώς διαφορίσιμο διανυσματικό πεδίο ορισμένο σε ένα κυρτό υποσύνολο R του επιπέδου. Εάν υπάρχει μια συνεχώς διαφορίσιμη, παραγματική συνάρτηση $g(\mathbf{x})$ τέτοια ώστε η απόκλιση $\nabla \cdot (g\dot{\mathbf{x}})$ έχει ένα πρόσημο σε όλο το R , τότε δεν υπάρχουν κλειστές τροχιές στο R . [64]

Απόδειξη. Υποθέτουμε ότι υπάρχει μια κλειστή τροχιά C εντός του συνόλου R . Έστω A μια περιοχή μέσα στη C . Τότε από το θεώρημα Green παίρνουμε

$$\iint_A \nabla \cdot (g\dot{\mathbf{x}}) dA = \oint_C g\dot{\mathbf{x}} \cdot \mathbf{n} dl$$

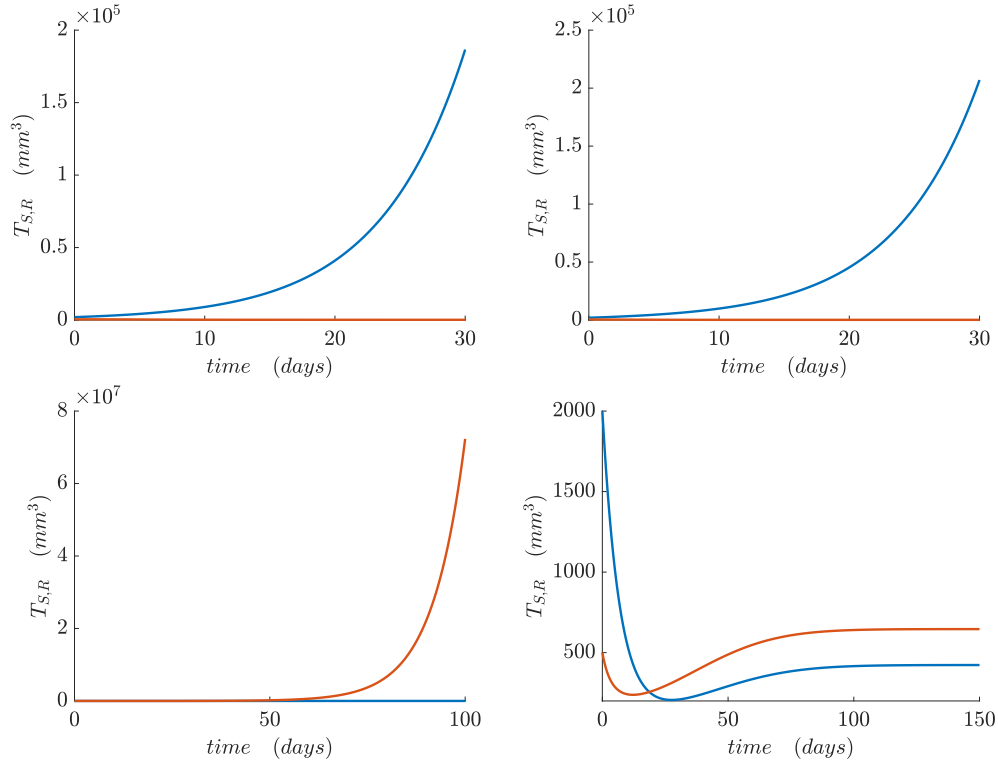
όπου \mathbf{n} είναι μοναδιαίο διάνυσμα κάθετο στην τροχιά C με φορά προς τα έξω και dl το στοιχειώδες μήκος στη C . Κοιτάζοντας πρώτα το διπλό ολοκλήρωμα στα αριστερά, πρέπει να είναι μη μηδενικό, αφού $\nabla \cdot (g\dot{\mathbf{x}})$ δεν αλλάζει πρόσημο στο R . Στη δεξιά πλευρά, το επικαμπύλιο ολοκλήρωμα ισούται με το μηδέν, αφού βρίσκεται πάνω σε κλειστή τροχιά. Συνεπώς, καταλήγουμε σε άτοπο και τέτοια κλειστή τροχιά δεν υπάρχει. ■

Για το κριτήριο Dulac δεν υπάρχει κάποιος αλγόριθμος για να βρίσκουμε τη $g(\mathbf{x})$. Συνήθως χρησιμοποιούνται $g = 1$, $1/x^a y^b$, e^{ax} και e^{ay} .

Για να δείξουμε, λοιπόν, ότι το σύστημά μας δεν έχει κλειστές τροχιές για κάθε $T_S, T_R > 0$, χρησιμοποιούμε τη συνάρτηση $g = \frac{1}{T_S T_R}$. Οπότε έχουμε

$$\begin{aligned} \nabla \cdot (g\dot{\mathbf{T}}) &= \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{1}{T_S T_R} \dot{T}_S \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(\frac{1}{T_S T_R} \dot{T}_S \right) \\ &\stackrel{(4.1),(4.2)}{=} -\mu_{RS} \alpha \varphi \frac{1}{T_S^2} - (1-u) \mu_{SR} \alpha \frac{1}{T_R^2} \\ &< 0. \end{aligned}$$

Άρα, για $T_S, T_R > 0$ το σύστημα δεν έχει κλειστές τροχιές.



Σχήμα 4.5: Αριθμητική επίλυση του μοντέλου για διάφορες συνθήκες. Με μπλε συμβολίζονται τα ευαίσθητα καρκινικά κύτταρα και με πορτοκαλί τα καρκινικά κύτταρα με αντίσταση. • Πάνω αριστερά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.01$ (σημείο A, σχήμα 4.4). • Πάνω δεξιά: $u = 0, \mu_{RS} = 0.7$ (σημείο B, σχήμα 4.4). • Κάτω αριστερά: $u = 0.97, \mu_{RS} = 0.01$ (σημείο C, σχήμα 4.4). • Κάτω δεξιά: $u = 0.97, \mu_{RS} = 0.7$ (σημείο D, σχήμα 4.4).

Μέχρι στιγμής μελετήσαμε περιπτώσεις στις οποίες η παράμετρος θεραπείας θεωρείται σταθερή. Αυτή η σύμβαση μας βοήθησε να κατανοήσουμε τη γενική συμπεριφορά του καρκίνου που περιγράφεται από το υπό μελέτη μοντέλο. Στη συνέχεια, θα κάνουμε ένα βήμα παραπάνω και θα εισαγάγουμε ένα φαρμακοκινητικό μοντέλο το οποίο θα μας οδηγήσει στη διερεύνηση της συμπεριφοράς του καρκίνου, αυτή τη φορά με πιο ρεαλιστική προσέγγιση στη χορήγηση θεραπείας.

4.2 Φαρμακοκινητικό Μοντέλο

Η δυναμική σχέση μεταξύ της κινητικής συμπεριφοράς του χορηγούμενου φαρμάκου και της αντίστοιχης συγκέντρωσης μοντελοποιείται με ένα φαρμακοκινητικό μοντέλο με 3 χώρους διαμέρισης [1]. Συγκεκριμένα, η ιδέα πίσω από αυτό το μοντέλο είναι ο διαχωρισμός του σώματος σε περιοχές ενδιαφέροντος και ο φορμαλισμός της διατήρησης μάζας της εισερχόμενης ουσίας στο σύνολο των διαμερίσεων [66].

$$\frac{dC_1(t)}{dt} = k_{21}C_2(t)\frac{V_2}{V_1} + k_{31}C_3(t)\frac{V_3}{V_1} - (k_{12} + k_{13})C_1(t) - k_{10}C_1(t) + \frac{d(t)}{V_1} \quad (4.7)$$

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12}C_1(t)\frac{V_1}{V_2} - k_{21}C_2(t) \quad (4.8)$$

$$\frac{dC_3(t)}{dt} = k_{13}C_1(t)\frac{V_1}{V_3} - k_{31}C_3(t) \quad (4.9)$$

Οι μεταβλητές $C_1(t)$, $C_2(t)$, $C_3(t)$ περιγράφουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα του αίματος, στην περιοχή του όγκου και σε ιστούς όπου διαχέεται το φάρμακο αντίστοιχα. Οι παράμετροι V_1 , V_2 , V_3 αντιστοιχούν στους όγκους των διαμερίσεων, ενώ οι μεταβλητή $d(t)$ στην ποσότητα του χορηγούμενου φαρμάκου. Οι σταθερές k_{12} , k_{21} , k_{13} , k_{31} σχετίζονται με το ρυθμό με τον οποίο μεταφέρεται ποσότητα φαρμάκου από το πλάσμα στις υπόλοιπες διαμερίσεις και αντίστροφα. Τέλος, η σταθερά k_{10} αφορά τον ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του φαρμάκου από διάφορες διαδικασίες απόρριψης και εξασθένισης της δράσης του.

$k_{12} (d^{-1})$	50.4
$k_{21} (d^{-1})$	48
$k_{13} (d^{-1})$	16.8
$k_{31} (d^{-1})$	4.8
$k_{10} (d^{-1})$	91.2
$V_1 (ml)$	8.4
$V_2 (ml)$	0.07
$V_3 (ml)$	6.76

Πίνακας 4.2: Παράμετροι του φαρμακοκινητικού μοντέλου. [1, 2]

Το παραπάνω σύστημα γράφεται

$$\frac{d\vec{C}}{dt} = A\vec{C} + \vec{D}(t) \quad (4.10)$$

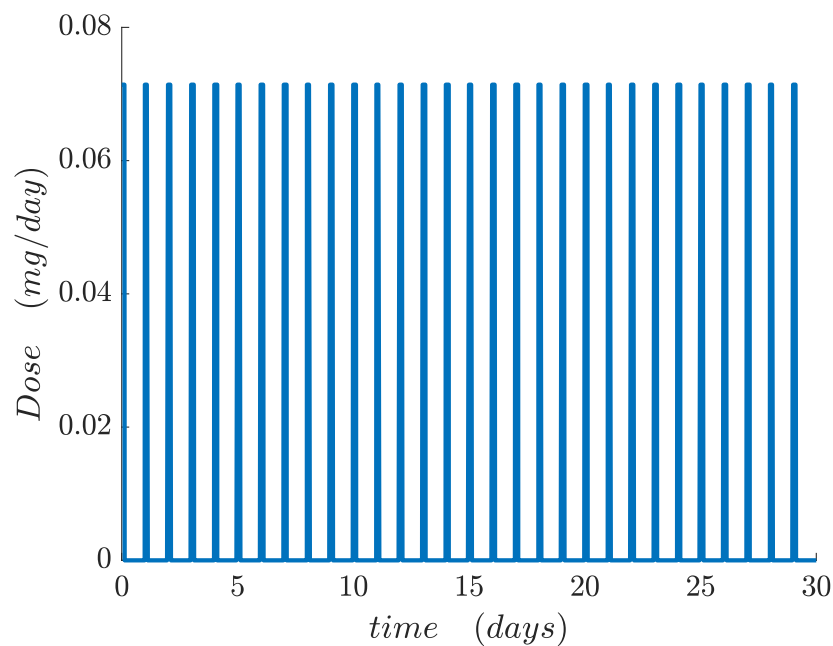
όπου

$$\vec{C}(t) = \begin{pmatrix} C_1(t) \\ C_2(t) \\ C_3(t) \end{pmatrix}, \quad A = \begin{pmatrix} -k_{10} - k_{12} - k_{13} & k_{21}\frac{V_2}{V_1} & k_{31}\frac{V_3}{V_1} \\ k_{12}\frac{V_1}{V_2} & -k_{21} & 0 \\ k_{13}\frac{V_1}{V_3} & 0 & -k_{31} \end{pmatrix}, \quad \vec{D}(t) = \begin{pmatrix} \frac{d(t)}{V_1} \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

4.2.1 Εφαρμογή πλάνου θεραπείας

Διαφορετικά είδη καρκίνου αντιμετωπίζονται τις περισσότερες φορές με διαφορετικά φάρμακα και πλάνα χορήγησης. Η έρευνα για την ανάπτυξη φαρμάκων που εξειδικεύονται στην καταστολή καρκινικών κυττάρων έχει οδηγήσει στην έγκριση περισσότερων από 250 φαρμάκων σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου των ΗΠΑ [67]. Συνεπώς, η ανάλυσή μας δεν μπορεί να γενικευτεί για τη δράση όλων αυτών φαρμάκων, διότι καθένα από αυτά χρησιμοποιεί διαφορετικούς μηχανισμούς για την καταστολή των καρκινικών κυττάρων. Παρόλα αυτά θα αναφερθούμε σε ένα συγκεκριμένο παράγοντα που χρησιμοποιείται για πολλές περιπτώσεις καρκίνου, όπως ο καρκίνος παχέως εντέρου, στομάχου, παγκρέατος, μαστού, ωοθηκών, ουροδόχου κύστεως, τραχήλου της μήτρας, ηπατώματος και άλλων [68–75]. Το φάρμακο ονομάζεται 5-φθοροισουρακίλη ή 5FU. Θα εξετάσουμε την περίπτωση ενδοφλέβιας ημερήσιας χορήγησης, η οποία διαρκεί 3 ώρες, τις 5 πρώτες μέρες, ενώ στη συνέχεια η θεραπεία μπορεί να συνεχιστεί

με τη δραστική ουσία Καπεσιταβίνη (Capecitabine) η οποία λειτουργεί σαν ένας από στόματος χορηγούμενος πρόδρομος του 5-FU [76]. Θεωρούμε ότι ασθενής λαμβάνει 3 χάπια Καπεσιταβίνης ημερησίως. Έχει μετρηθεί ότι η κυκλοφορία της Καπεσιταβίνης στο πλάσμα διαρκεί περίπου μια ώρα, όταν αυτή χορηγηθεί δια του στόματος [77, 78]. Συνεπώς, 3 χάπια με χρονικό διάστημα λίγων ωρών μεταξύ των χορηγήσεων οδηγεί σε περίπου 3 ώρες θεραπείας με Καπεσιταβίνη την ημέρα. Το σύνολο της θεραπείας διαρκεί 30 ημέρες. Το φαρμακοκινητικό μοντέλο έχει παραμετροποιηθεί σύμφωνα με τους Χατζηανδρέου και Μήτσης για πειράματα σε ποντίκια [1]. Η μέγιστη δυνατή δόση του 5-FU ορίζεται περίπου στα 20 mg/kg ή ισοδύναμα περίπου 0.07 mg/day [76]. Το πλάνο χορήγησης της δόσης συνοψίζεται στο γράφημα του σχήματος 4.6.



Σχήμα 4.6: Πλάνο χορήγησης δόσης. Χορηγούνται 0.0714 (mg/day) 5-FU τις πρώτες 5 μέρες και Capecitabine τις υπόλοιπες 25 μέρες της θεραπείας. Η χορήγηση της δόσης για το 5-FU είναι ενδοφλέβια και θεωρούμε ότι διαρκεί 3 ώρες. Για λόγους απλότητας θεωρούμε ότι και η χορήγηση της Καπεσιταβίνης διαρκεί 3 ώρες.

Αφού καθορίσαμε την ημερήσια ποσότητα και διάρκεια της δόσης, συνεχίζουμε με τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του φαρμάκου στη διαμέριση του όγκου. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης θα εφαρμόσουμε μετασχηματισμό Fourier στο σύστημα των διαφορικών εξίσωσεων αφού πρώτα έχουμε εκφράσει τη χορηγούμενη δόση ως σειρά Fourier. Η έκφραση της δόσης ως σειρά Fourier θα μας διευκολύνει στον μετασχηματισμό Fourier του συστήματος. Η περίοδος με την οποία χορηγείται η δόση είναι 24 ώρες από την οποία η δόση είναι ενεργή για 3 ώρες, δηλαδή το 1/8 της ημέρας. Επομένως, η σειρά Fourier της δόσης είναι

$$d(t) = \sum_n d_n e^{j\omega_n t}$$

Για $n = 0$ παίρνουμε

$$d_0 = \frac{1}{T_0} \int_0^{T_0} d(t) dt = 89.25 \cdot 10^{-4} \text{ (mg/day)}$$

Αντίστοιχα, για $n \neq 0$,

$$d_n = \frac{2}{T_0} \int_0^{T_0} d(t) e^{-jn\omega_0 t} dt = \frac{0.0714}{j\pi n} \left[1 - e^{-jn\frac{\pi}{4}} \right] \text{ (mg/day)}$$

Άρα, η σειρά Fourier της χορηγούμενης δόσης είναι

$$d(t) = 89.25 \cdot 10^{-4} + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{0.0714}{j\pi n} \left[1 - e^{-jn\frac{\pi}{4}} \right] e^{j\omega_n t} \text{ (mg/day)} \quad (4.11)$$

όπου $\omega_n = n\omega_0$, $\omega_0 = \frac{2\pi}{T_0}$.

Προχωρώντας στον μετασχηματισμό Fourier του φαρμακοκινητικού μοντέλου θα χρησιμοποιήσουμε την έκφραση της εξίσωσης 4.10. Πριν όμως πάμε στον μετασχηματισμό του συστήματος θα δούμε τους επιμέρους μετασχηματισμούς που θα μας οδηγήσουν σε αυτόν. Έτσι λοιπόν, έχουμε

$$e^{jn\omega_0 t} \xrightarrow{\mathfrak{F}} 2\pi\delta(\omega - n\omega_0)$$

$$\implies d(t) = \sum_n d_n e^{jn\omega_0 t} \xrightarrow{\mathfrak{F}} \mathcal{D}(\omega) = \sum_n 2\pi d_n \delta(\omega - n\omega_0)$$

και

$$\frac{d\vec{C}(t)}{dt} \xrightarrow{\mathfrak{F}} j\omega\vec{C}(\omega)$$

Επομένως, ο μετασχηματισμός Fourier του φαρμακοκινητικού μοντέλου είναι

$$\frac{d\vec{C}(t)}{dt} = A\vec{C}(t) + \vec{D}(t) \xrightarrow{\mathfrak{F}} j\omega\vec{C}(\omega) = A\vec{C}(\omega) + \vec{D}(\omega)$$

Λύνοντας ως προς την απόκριση της συγκέντρωσης στη συχνότητα παίρνουμε

$$\vec{C}(\omega) = H(j\omega)\vec{D}(\omega)$$

όπου $H(j\omega) = (j\omega\mathbb{I} - A)^{-1}$ η συνάρτηση μεταφοράς του συστήματος και

$$\vec{D}(\omega) = \begin{pmatrix} \sum_n \frac{2\pi}{V_1} d_n \delta(\omega - n\omega_0) \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

Σύμφωνα με τις ιδότητες της συνάρτησης δ , η συνάρτηση μεταφοράς θα γίνει

$$H(jn\omega_0) = (jn\omega_0\mathbb{I} - A)^{-1}$$

Εφαρμόζοντας αντίστροφο μετασχηματισμό Fourier καταλήγουμε στο σύστημα

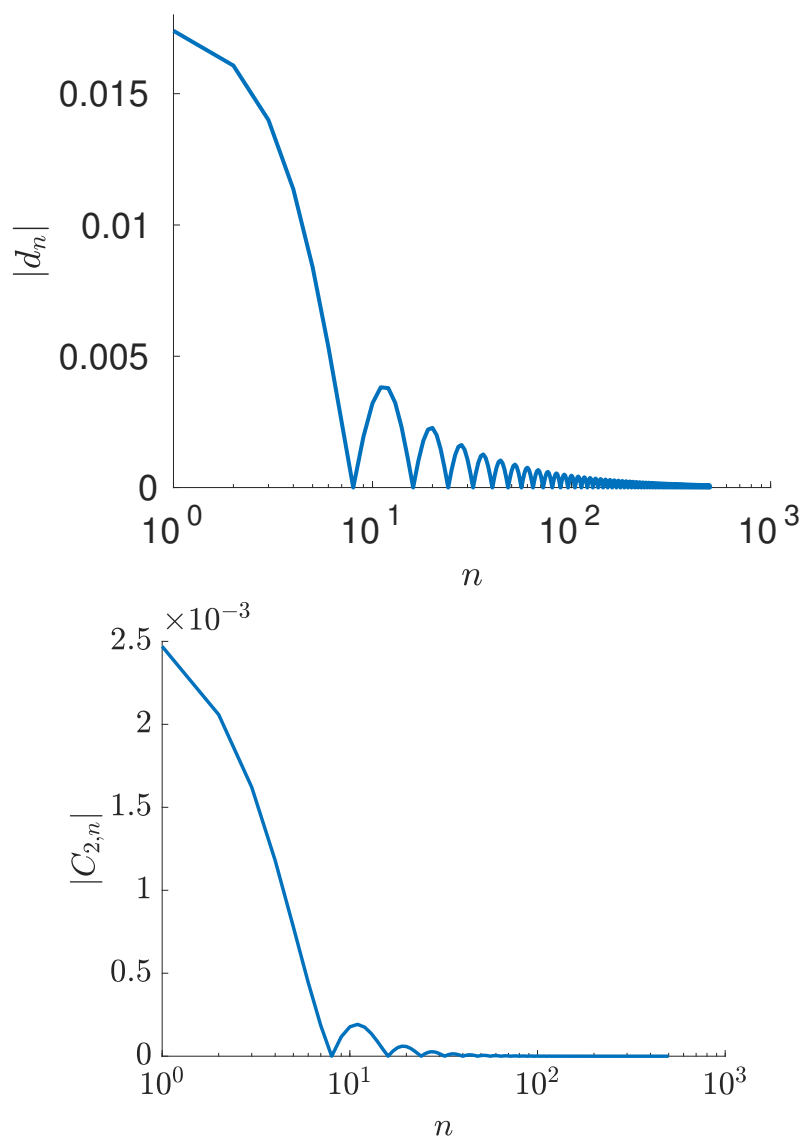
$$\vec{C}(\omega) = (jn\omega_0\mathbb{I} - A)^{-1}\vec{D}(\omega) \xrightarrow{\mathfrak{F}^{-1}} \vec{C}(t) = (jn\omega_0\mathbb{I} - A)^{-1}\vec{D}(t) \quad (4.12)$$

Από το παραπάνω σύστημα μπορούμε να εκφράσουμε τη συγκέντρωση φαρμάκου στον όγκο ως σειρά Fourier και παίρνουμε

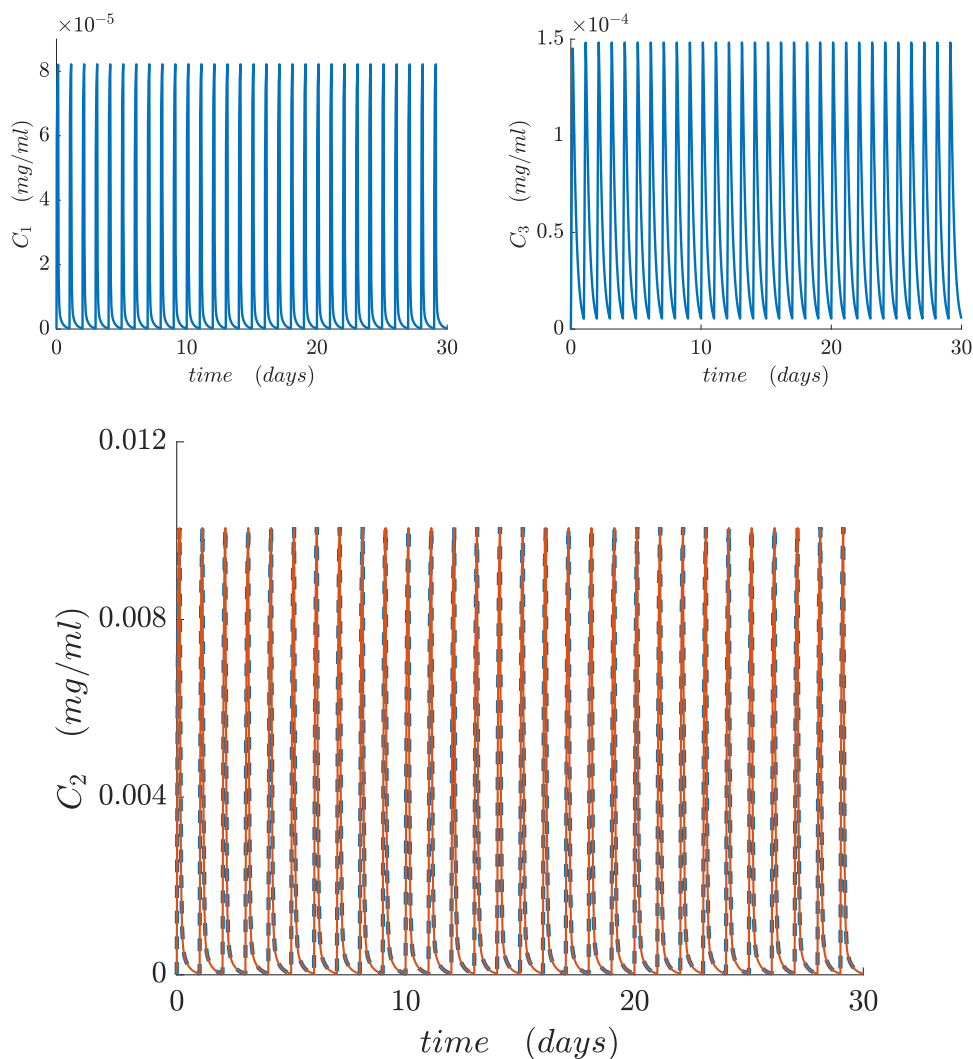
$$C_2(t) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{k_{12}k_{31} + jn\omega_0k_{12}}{V_2|jn\omega_0\mathbb{I} - A|} d_n e^{jn\omega_0 t} \quad (4.13)$$

Στο σχήμα 4.7 παρατηρούμε τα μέτρα των 500 πρώτων όρων των σειρών Fourier της χορηγούμενης δόσης, d_n , (σχήμα 4.7 αριστερά) και της συγκέντρωσης φαρμάκου στον όγκο, $C_{2;n}$, (σχήμα 4.7 δεξιά).

Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων επιλύουμε αριθμητικά το φαρμακοκινητικό μοντέλο διακριτοποιώντας με τη μέθοδο Euler. Στο σχήμα 4.8 παρατηρούμε τις συγκεντρώσεις συναρτήσεως του χρόνου για τις τρεις διαμερίσεις του φαρμακοκινητικού μοντέλου. Από το διάγραμμα συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας συναρτήσεως του χρόνου στην διαμέριση του όγκου (σχήμα 4.8 κάτω) παρατηρούμε ότι τα αποτελέσματα της αριθμητικής επίλυσης με τη μέθοδο Euler βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά της έκφρασης με σειρά Fourier.



Σχήμα 4.7: Διάγραμμα του μέτρου των 500 πρώτων όρων των σειρών Fourier της χορηγούμενης δόσης, d_n , (πάνω) και της συγκέντρωσης φαρμάκου στον όγκο, $C_{2,n}$, (κάτω).



Σχήμα 4.8: Διαγράμματα συγκεντρώσεων της δραστικής ουσίας συναρτήσει του χρόνου για τις τρεις διαμερίσεις του μοντέλου. Με μπλε απεικονίζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν με χρήση της μεθόδου Euler και με κόκκινο αυτά των σειρών Fourier.

- Πάνω αριστερά: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο πλάσμα.
- Πάνω δεξιά: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στους υπόλοιπους υγιείς ιστούς.
- Κάτω: Συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στη διαμέριση του όγκου.

4.3 Σύζευξη Καρκινικού και Φαρμακοκινητικού μοντέλου

Ως αποδοτικότητα του πλάνου θεραπείας μπορούμε να ορίσουμε ένα μέγεθος το οποίο σχετίζεται με τη συγκέντρωση του φαρμάκου στον όγκο. Η ποσοτικοποίηση της αποδοτικότητας μιας θεραπείας μπορεί εύκολα να επιτευχθεί σε *in vitro* πειράματα. Όπως, όμως, είναι αναμενόμενο υπάρχουν αποκλίσεις της *in vitro* αποδοτικότητας με την αντίστοιχη *in vivo*. Σε περιπτώσεις που πρέπει να εκτιμηθεί η αποδοτικότητα μιας θεραπείας αλλά έχουμε μόνο δεδομένα *in vitro*, τότε το μέγεθος αυτό πρέπει να εξαρτάται και από τον δείκτη διάμεσης ανασταλτικής συγκέντρωσης, IC_{50} , [79,

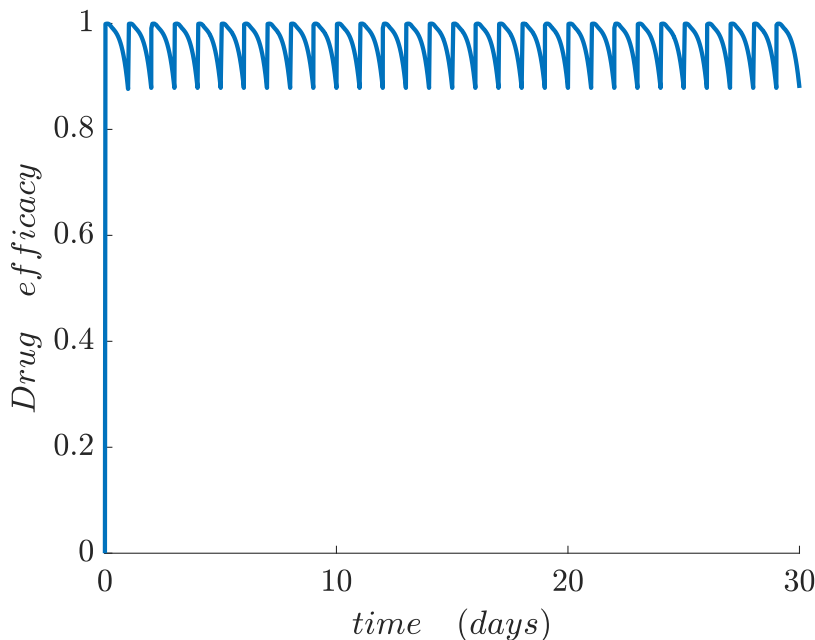
80]. Για τη συσχέτιση της αποδοτικότητας $u(t)$ με τη συγκέντρωση του φαρμάκου θα ακολουθήσουμε τη μελέτη των Wahl και Nowak οι οποίοι σε μελέτη απόκρισης θεραπείας για τον ιό HIV [81] χρησιμοποίησαν τη σχέση:

$$u(t) = \frac{C_2(t)}{C_2(t) + \omega IC_{50}} \quad (4.14)$$

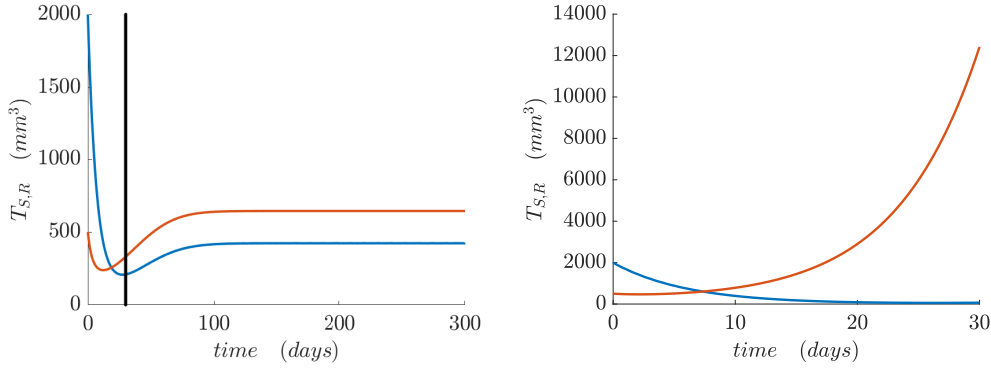
όπου $C_2(t)$ αναπαριστά τη συγκέντρωση του φαρμάκου στον όγκο και IC_{50} τον δείκτη διάμεσης ανασταλτικής συγκέντρωσης του φαρμάκου. Η παράμετρος ω αποτελεί ένα μέτρο διόρθωσης του IC_{50} από τα in vitro σε in vivo δεδομένα. Σε αντίθεση με μελέτες οι οποίες χρησιμοποιούν γενικούς τύπους για τη συγκέντρωση φαρμάκου στην περιοχή ενδιαφέροντος [55, 81], στην περίπτωση μας η εναποτιθέμενη συγκέντρωση φαρμάκου στην περιοχή του όγκου έχει εκτιμηθεί με τη χρήση του φαρμακοκινητικού μοντέλου.

Η τιμή του IC_{50} για το 5-FU μπορεί να διαφέρει για διαφορετικές περιπτώσεις καρκίνου. Σε μια πρόσφατη μελέτη του Ινστιτούτου Sanger μετρήθηκε η τιμή του IC_{50} για περίπου 1000 διαφορετικές περιπτώσεις καρκίνου και βρέθηκε ότι ο μπορεί να πάρει τιμές από 0.150 μM έως 3660 μM [82]. Για τη συγκεκριμένη μελέτη, η τιμή του IC_{50} επιλέχθηκε να είναι 0.150 μM η οποία αντιστοιχεί σε 20 ng/mL, ενώ επίσης θεωρούμε ότι η τιμή του ω είναι 0.2.

Για τις επιλεγμένες τιμές IC_{50} και ω και χρησιμοποιώντας τη συγκέντρωση φαρμάκου στον όγκο, C_2 , που υπολογίστηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο καταλήγουμε στο αποτέλεσμα της αποδοτικότητας της θεραπείας που φαίνεται στο σχήμα 4.9. Λίγα λεπτά μετά τη χορήγηση του φαρμάκου, η τιμή του u παίρνει την τιμή και στη συνέχεια εμφανίζει μια περιοδική συμπεριφορά μεταξύ της τιμών 1 και 0.88 με μέση τιμή $\langle u \rangle = 0.97$, έως το πέρας της θεραπείας.



Σχήμα 4.9: Αποδοτικότητα της θεραπείας, u , συναρτήσει του χρόνου. Παρατηρούμε ότι για τις δεδομένες τιμές του ω και IC_{50} , η τιμή του u παρουσιάζει διακυμάνσεις γύρω από την τιμή $\langle u \rangle = 0.97$.



Σχήμα 4.10: Συμπεριφορά ευαίσθητων (μπλε) και ανθεκτικών (πορτοκαλί) καρκινικών κυττάρων για τις τιμές του u που προέκυψαν από το φαρμακοκινητικό μοντέλο. • Αριστερά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.7$ (με αντίστοιχο σημείο ισορροπίας D του σχήματος 4.4) Με μαύρη γραμμή απεικονίζεται η 30ή ημέρα στην οποία διακόπτεται η θεραπεία. Για ενδεικτικούς λόγους, όμως, συνεχίζουμε τη θεραπεία μέχρι την 300ή ημέρα για να μελετήσουμε τη δυναμική των καρκινικών κυττάρων. • Δεξιά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.01$ (με αντίστοιχο σημείο ισορροπίας C του σχήματος 4.4).

4.3.1 Διαταραχή της θεραπείας γύρω από σημείο ισορροπίας

Μέχρι στιγμής έχουμε δει τη συμπεριφορά του καρκίνου σε περιπτώσεις σταθερής θεραπείας όπου το μέγεθος του όγκου συγκλίνει σε μη μηδενικά σημεία ισορροπίας όταν αυτά είναι ευσταθή (σχήμα 4.5). Παρόμοια συμπεριφορά (σχήμα 4.10) παρατηρούμε κατά την εφαρμογή θεραπείας η οποία έχει εξαχθεί από την επίλυση του φαρμακοκινητικού μοντέλου (σχήμα 4.8). Σε αυτό το κεφάλαιο θα εξετάσουμε τη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων γύρω από τα σημεία ισορροπίας στα οποία το μοντέλο θα σύγκλιε με συνεχή θεραπεία. Για τη μελέτη αυτή θα χρησιμοποιήσουμε το αντίστοιχο γραμμικό μοντέλο των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων και δεδομένης της διακύμανσης στην απόδοση του πλάνου χορήγησης που λάβαμε στο σχήμα 4.9, θα εφαρμόσουμε μια πρώτης τάξης διαταραχή στο γραμμικό μοντέλο των καρκινικών κυττάρων.

Αρχικά το μοντέλο μπορεί να γραφτεί

$$\dot{\vec{T}} = J\vec{T} + g(t)\vec{T} \quad (4.15)$$

όπου

$$J = \begin{pmatrix} \alpha(1 - \mu_{SR}) - r_1 T_R^* & \mu_{RS} \alpha \varphi \\ \mu_{SR} \alpha & \alpha \varphi (1 - \mu_{RS}) - r_2 T_S^* \end{pmatrix}$$

ο Ιακωβιανός πίνακας που προέκυψε από τη γραμμικοποίηση γύρω από το σημείο ισορροπίας και

$$g(t) = \begin{pmatrix} -u(2 - \mu_{SR})\alpha \\ -u\mu_{SR}\alpha \end{pmatrix}, \quad \vec{T} = \begin{pmatrix} T_S \\ T_R \end{pmatrix}$$

Σύμφωνα με την προηγούμενη παράγραφο, η αποδοτικότητα του πλάνου χορήγησης γράφεται

$$\begin{aligned} u(t) &= u_0 + \delta u(t) \\ \implies g(t) &= g_0 + \delta g(t) \end{aligned}$$

Εφαρμόζοντας διαταραχή γύρω από σημείο ισορροπίας, δηλαδή

$$\vec{T} = \vec{T}^* + \delta\vec{T}^*$$

η εξίσωση 4.15 γίνεται

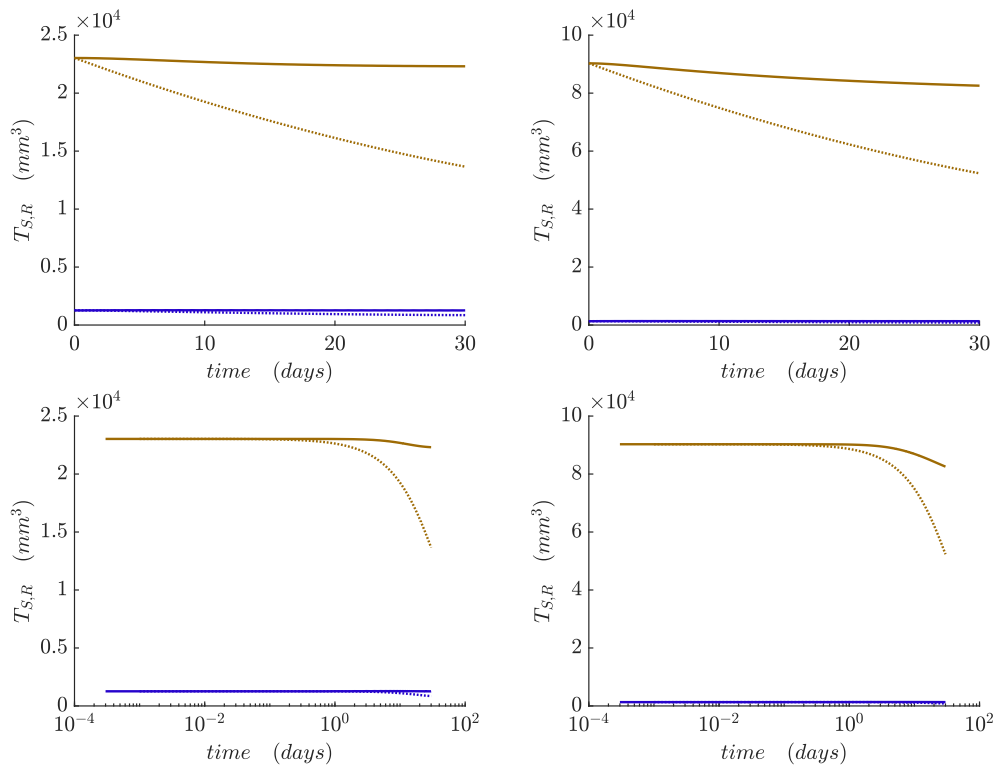
$$\dot{\vec{T}}^* + \delta\dot{\vec{T}} = J\vec{T}^* + J\delta\vec{T} + (g_0 + \delta g(t))(\vec{T}^* + \delta\vec{T})$$

Ταξινομώντας

$$\begin{aligned} (\varepsilon^0) : \quad \dot{\vec{T}}^* &= J\vec{T}^* + g_0\vec{T}^* = 0 \\ (\varepsilon^1) : \quad \delta\dot{\vec{T}} &= J\delta\vec{T} + \delta g(t)\vec{T}^* + g_0\delta\vec{T} \\ (\varepsilon^2) : \quad \delta g \cdot \delta\vec{T} &\varepsilon^2 \rightarrow 0 \end{aligned}$$

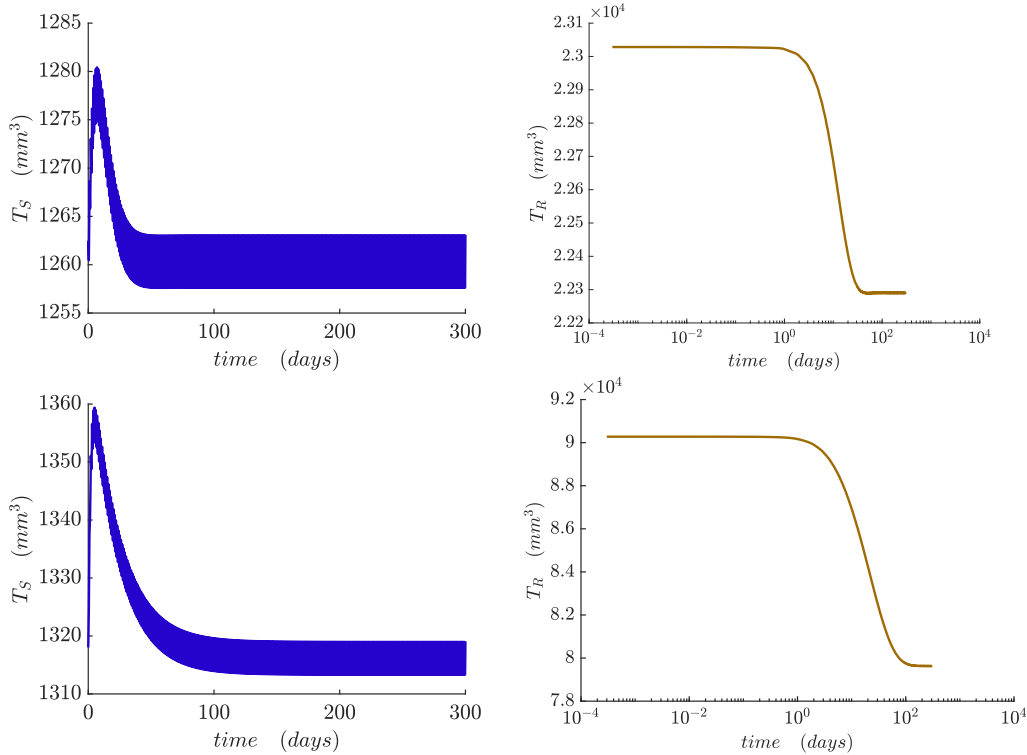
Άρα, απομένει

$$\delta\dot{\vec{T}} = J\delta\vec{T} + \delta g(t)\vec{T}^* + g_0\delta\vec{T} \tag{4.16}$$



Σχήμα 4.11: Η συμπεριφορά των ευαίσθητων (μπλε) και ανθεκτικών (πορτοκαλί) καρκινικών κυττάρων για τις διακυμάνσεις τις θεραπείας, όταν αυτά βρίσκονται σε σημεία ισορροπίας. Με συνεχείς γραμμές απεικονίζεται η αριθμητική επίλυση (με μέθοδο Runge-Kutta) του μη γραμμικού μοντέλου και με διακεκομμένες γραμμές τα αποτελέσματα της γραμμικής προσέγγισης. • Αριστερά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.1$ (σχήμα 4.4, σημείο D). Πάνω σε γραμμική κλίμακα. Κάτω ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα. • Δεξιά: $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.06$ (σχήμα 4.4, σημείο E). Πάνω σε γραμμική κλίμακα. Κάτω ο κατακόρυφος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

Από το σχήμα 4.11 συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της επίλυσης του μη γραμμικού μοντέλου με τα αποτελέσματα της γραμμικής προσέγγισης 1ης τάξεως, συμπεραίνουμε ότι η προσέγγιση δεν είναι ικανή να περιγράψει, καθ'όλη τη χρονική διάρκεια της θεραπείας, την εξέλιξη του όγκου. Η απόκλιση των λύσεων της γραμμικής προσέγγισης στις περιπτώσεις του ευσταθούς κόμβου με $u_0 = 0.97$ και $\mu_{RS} = 0.06$ (σχήμα 4.11, δεξιά) του ευσταθούς σπειροειδούς σημείου με $u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.1$ (σχήμα 4.11, αριστερά) ξεκινούν από τις πρώτες ημέρες.



Σχήμα 4.12: Λεπτομερέστερη αναπαραγωγή του σχήματος 4.11 για την περίπτωση ευσταθούς σπειροειδούς σημείου ($u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.1$, πάνω) και ευσταθούς κόμβου ($u_0 = 0.97$, $\mu_{RS} = 0.06$, κάτω).

Παρόλα αυτά και στις δυο περιπτώσεις παρατηρούμε μια απομάκρυνση από τα σημεία ισορροπίας η οποία τείνει να μειώνει τους πληθυσμούς των ανθεκτικών κυττάρων, ενώ τα ευαίσθητα κύτταρα ταλαντώνονται μεταξύ συγκεκριμένων σημείων ευστάθειας μετά από κάποιο χρονικό διάστημα (σχήμα 4.12). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται λόγω των μικρών διακυμάνσεων της αποδοτικότητας του πλάνου θεραπείας (u), η οποία με τη σειρά της είναι ικανή να μεταφέρει τους πληθυσμούς των δυο κυττάρων σε άλλα σημεία ισορροπίας. Αυτό σημαίνει ότι στην περίπτωση μιας τόσο “πυκνής” θεραπείας, όπως στην περίπτωση αυτή, η οποία προκαλεί μικρές διακυμάνσεις γύρω από τη μέση τιμή της αποδοτικότητας θα ήταν πιο αποδοτική από μια αρκετά πυκνή θεραπεία τόσο που θα είναι πρακτικά σταθερή. Διότι όπως είδαμε προηγουμένως, σε παραμετροποιήσεις όπου υπάρχουν σημεία ευστάθειας, για σταθερές τιμές του u οι τιμές των δυο πληθυσμών θα συγκλίνουν μόνο σε αυτά τα σημεία (σχήμα 4.5). Αυτό με τη σειρά του αποτελεί μια ένδειξη για ανάγκη “τροποποίησης” της υπόθεσης Norton-Simon [83] σε συγκεκριμένες περιπτώσεις καρκίνου, στις οποίες δεν είναι απαραίτητο να μεγιστοποιήσουμε, θεωρητικά, την συχνότητα χορήγησης θεραπείας ώστε να έχουμε το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

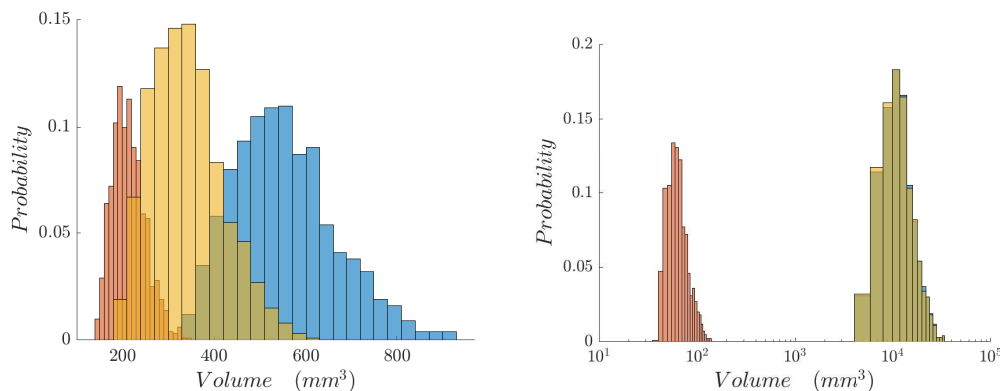
“The drug effect is not just the pharmacokineticists’ concentration multiplied by time, because the relationship between drug dose level (and hence concentration) and anticancer effect is not always linear. For a given integrated drug effect, the chance of eradicating the tumor is maximized by delivering the most effective dose level of drug over as short a

time as possible. Thereby, tumors given less time to grow between treatments are more likely to be eradicated.” R. Simon and L. Norton on The Norton-Simon hypothesis: designing more effective and less toxic chemotherapeutic regimens. *Nature Clinical Practice Oncology*, 3:406, August 2006.

4.4 Αβεβαιότητα στο αποτέλεσμα της θεραπείας

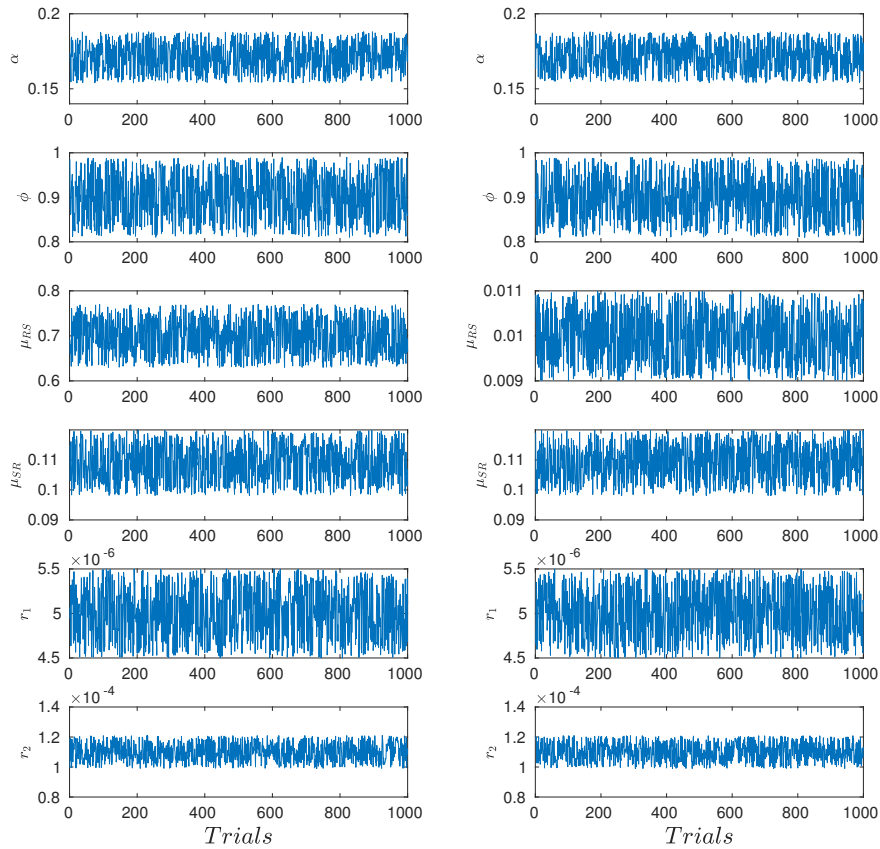
Σε μελέτες που αφορούν προσομοιώσεις θεραπείας καρκινού οι παράμετροι των μοντέλων αντλούνται είτε από κλινικά δεδομένα, είτε από διάφορα πειράματα. Για λόγους απλότητας, οι παράμετροι αυτοί είναι δοσμένοι ως προς τη μέση τιμή τους και τα σφάλματά τους δεν λαμβάνονται υπόψιν. Παρόλα αυτά, ακόμα και μια μικρή διακύμανση στις παραμέτρους ενός μοντέλου μπορεί να αλλάξει σε μεγάλο βαθμό το τελικό αποτέλεσμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί περίπτωση στην οποία κάποια παράμετρος του μοντέλου βρίσκεται στο σύνορο μεταξύ μιας περιοχής ευσταθών και ασταθών σημείων ισορροπίας (βλέπε σχήμα 4.4, σημεία C και E). Σε αυτή την περίπτωση, η εισαγωγή θορύβου σε κάποια παράμετρο θα άλλαζε σε μεγάλο βαθμό τη συμπεριφορά του μοντέλου.

Άρα, για τη μελέτη αυτή τροποποιούμε τις παραμέτρους α , φ , μ_{RS} , μ_{SR} , r_1 , r_2 εισάγοντας σε αυτές θόρυβο που μεταβάλλει κατά 10% τις αντιστοίχες τιμές τους σε κάθε επανάληψη. Η δειγματοληψία γίνεται για 1000 επαναλήψεις και τα αποτελέσματα φαίνονται στο σχήμα 4.13, ενώ οι χρονοσειρές των παραμέτρων στο σχήμα 4.14.



Σχήμα 4.13: Κατανομή ευαίσθητων (κόκκινο), ανθεκτικών (κίτρινο) και του συνόλου (μπλε) των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων μετά από 1000 προσομοιώσεις στις οποίες οι παράμετροι του μοντέλου έχουν ποσοστό θορύβου 10%. • Αριστερά: Οι μέσες τιμές των παραμέτρων είναι σύμφωνα με τον πίνακα 1, ενώ η μέση τιμή του $\mu_{RS} = 0.7$ και το u χρησιμοποιείται όπως στο σχήμα 4.9. Οι άξονες είναι σε γραμμική κλίμακα. • Δεξιά: Ίδιες τιμές παραμέτρων με το αριστερό σχήμα αλλά $\mu_{RS} = 0.01$. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

Στο σχήμα 4.13 παρατηρούμε τα ιστογράμματα που μας δείχνουν πως κατανομούνται οι πληθυσμοί των ευαίσθητων, των ανθεκτικών και του αθροίσματος των δυο πληθυσμών καρκινικών κυττάρων. Για $\mu_{RS} = 0.7$, τα ευαίσθητα κύτταρα καταλαμβάνουν



Σχήμα 4.14: Διαγράμματα μεταβολών των παραμέτρων για $N=1000$ προσομοιώσεις (trials).

χώρο με μέση τιμή περίπου 210 mm^3 και τα ανθεκτικά κύτταρα καταλαμβάνουν περίπου 380 mm^3 . Δηλαδή, εδώ βλέπουμε ότι ευαίσθητα και ανθεκτικά κύτταρα συνυπάρχουν σχεδόν σε ίσες ποσότητες, γεγονός που επιβεβαιώνεται λόγω του ευσταθούς σημείου ισορροπίας στο οποίο καταλήγουν (σχήμα 4.4, σημείο D και σχήμα 4.10, αριστερά). Αντίστοιχα, για $\mu_{RS} = 0.01$ παρατηρούμε ότι ο πληθυσμός ευαίσθητων καρκινικών κυττάρων συγκεντρώνεται κοντά στα 10^2 mm^3 , ενώ τα ανθεκτικά κύτταρα λαμβάνουν τιμές κοντά στα 10^4 mm^3 . Αυτό συμβαίνει διότι η θεραπεία επιδρά μόνο στα ευαίσθητα κύτταρα, ενώ τα ανθεκτικά έχουν μικρή πιθανότητα μετατροπής σε ευαίσθητα. Επομένως, από το σχήμα 4.4 και το σημείο A γνωρίζουμε ότι τα κύτταρα βρίσκονται σε ασταθή ισορροπία, άρα τα ευαίσθητα κύτταρα θα μειωθούν αλλά τα ανθεκτικά θα αυξηθούν σε μεγάλο βαθμό (σχήμα 4.10, δεξιά). Επίσης, και για τις δυο περιπτώσεις παραμετροποίησης παρατηρούμε ότι όλες οι κατανομές παρουσιάζουν μια ασυμμετρία ως προς το κέντρο τους και προσαρμόζονται σε κατανομές Γάμμα.

Κεφάλαιο 5

Επίλογος

Στην εργασία αυτή έγινε μια εισαγωγή στα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου, της χημειοθεραπείας και των μηχανισμών του φαινομένου αντίστασης στη χημειοθεραπεία. Τη σκυτάλη πήρε το υπολογιστικό μέρος της εργασίας, με την ανάλυση της δυναμικής του φαινομένου αντίστασης στη χημειοθεραπεία. Αρχικά, βρέθηκαν τα σημεία ισορροπίας για όλες τις τιμές των παραμέτρων που περιγράφουν την απόδοτικότητα, u , του πλάνου θεραπείας και της πιθανότητας, μ_{RS} , μετατροπής των ανθεκτικών κυττάρων σε ευαίσθητα κύτταρα. Ακολούθως, με τη γραμμικοποίηση του μοντέλου βρέθηκαν τα είδη των σημείων ισορροπίας για όλες τις τιμές των παραμέτρων u , μ_{RS} . Από τη δυναμική αυτού του μοντέλου αποκλείστηκαν οι οριακοί κύκλοι με την εφαρμογή του κριτηρίου Dulac. Ολοκληρώνοντας την ανάλυση ευστάθειας του μη γραμμικού μοντέλου προχωρήσαμε στην παραμετροποίηση του της αποδοτικότητας, u , με τη χρήση ενός φαρμακοκινητικού μοντέλου. Το φαρμακοκινητικό μοντέλο μας έδωσε τη δυνατότητα προσδιορισμού της συγκέντρωσης φαρμάκου στον όγκο, η οποία είναι απαραίτητη για τον υπολογισμό του u , για το εκάστοτε πλάνο χορήγησης θεραπείας. Η επίλυση του φαρμακοκινητικού μοντέλου έγινε με τη χρήση σειρών και μετασχηματισμού Fourier. Στη συνέχεια, για δεδομένο πλάνο θεραπείας εξετάστηκε η συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων γύρω από τα σημεία ισορροπίας. Τέλος, με την εφαρμογή θορύβου στις παραμέτρους του καρκινικού μοντέλου αναλύθηκε η ευαισθησία του τελικού αποτελέσματος του όγκου και προσδιορίστηκαν οι κατανομές του αριθμών των καρκινικών κυττάρων.

Συμπερασματικά, η συνεισφορά της διπλωματικής αυτής εντοπίζεται σε δυο σκέλη. Το πρώτο είναι η ανάλυση των σημείων ισορροπίας του μη-γραμμικού μοντέλου, η οποία σε συνδυασμό με την ανάλυση ευαισθησίας της έκβασης του καρκινικού όγκου, μας δίνει τη δυνατότητα να γνωρίζουμε τη συμπεριφορά του όγκου για οποιαδήποτε παραμετροποίηση και οποιοδήποτε σχήμα θεραπείας. Το δεύτερο σκέλος είναι η εύρεση σχήματος χορήγησης θεραπείας, για ορισμένες παραμετροποιήσεις του μοντέλου, το οποίο είναι αποδοτικότερο από αυτό της – καθιερωμένης σε πολλές περιπτώσεις – θεραπείας καρκίνου – υπόθεσης Norton-Simon.

5.1 Μελλοντικές επεκτάσεις

Η παρούσα ανάλυση και τα αποτελέσματά της δίνουν μελλοντικές επεκτάσεις σε πληθώρα κατευθύνσεων. Η πρώτη από αυτές είναι δυνατότητα εφαρμογής αυτής της υπολογιστικής ρουτίνας και σε άλλα μοντέλα που σχετίζονται με τον καρκίνο, με σκοπό την εξαγωγή της μέγιστης δυνατής πληροφορίας από αυτά. Επιπλέον, ένα μείζον θέμα είναι ο προσδιορισμός των τιμών των παραμέτρων του μοντέλου καρκινικών κυττάρων. Δεδομένα από transcriptomics μπορούν να μας δώσουν ποσοτικές πληροφορίες για την έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται με το φαινόμενο της αντίστασης και συνεπώς για τον προσδιορισμό των παραμέτρων μ_{RS} και μ_{SR} . Γνωρίζοντας τη χρονική μεταβολή των παραμέτρων θα είναι δυνατή η εφαρμογή βέλτιστου ελέγχου για την εύρεση αποδοτικότερων και πιο φιλικών προς τον ασθενή πλάνων θεραπείας (adaptive therapeutic regimens), συγκριτικά με την υπόθεση Norton-Simon. Οι επεκτάσεις αυτές δεν θα μπορούσαν βέβαια να ελεγχθούν χωρίς την ύπαρξη πειραματικών αποτελεσμάτων. Είναι αναγκαίο οι σύγχρονες πειραματικές τεχνικές, όπως οι τρισδιάστατη εκτύπωση και καλλιέργεια καρκινικών κυττάρων, να χρησιμοποιηθούν για την επιβεβαίωση των θεωρητικών αποτελεσμάτων. Τέλος, ένα πρόβλημα που εμφανίζεται στην παρούσα μελέτη αλλά και ευρύτερα στον τομέα της Μαθηματικής Ογκολογίας είναι αδυναμία των μοντέλων να ερμηνεύσουν και να διασυνδέσουν γεγονότα τα οποία συμβαίνουν σε διαφορετικές χρονικές και χωρικές κλίμακες. Η αναβάθμιση του υπάρχοντος θεωρητικού υποβάθρου σε πολλαπλές κλίμακες, δηλαδή το πέρασμα από το χρονικό στο πολυεπίπεδο χωροχρονικό μοντέλο εισάγει νέες προκλήσεις στην επίλυσή τους. Παράλληλα, όμως, συμβάλλει στην κατανόηση της πολύπλοκης μορφολογίας του καρκίνου μέσα από κυτταρικές και υποκυτταρικές διαδικασίες.

Βιβλιογραφία

- [1] M M Hadjiandreou and G D Mitsis. Mathematical Modeling of Tumor Growth, Drug-Resistance, Toxicity, and Optimal Therapy Design. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 61(2):415–425, 2014.
- [2] William C Zamboni, Sandra Strychor, Erin Joseph, Robert A Parise, Merrill J Egorin, and Julie L Eiseman. Tumor, tissue, and plasma pharmacokinetic studies and antitumor response studies of docetaxel in combination with 9-nitrocamptothecin in mice bearing SKOV-3 human ovarian xenografts. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 62(3):417–426, aug 2008.
- [3] J H Breasted. The Edwin Smith Surgical papyrus. Technical report, The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 1984.
- [4] Ritu Lakhtakia. A Brief History of Breast Cancer: Part I: Surgical domination reinvented, may 2014.
- [5] Siddbartba Mukberjee. *The Emperor of all Maladies*. Fourth Estate, London, 2011.
- [6] Sharon Begley. We fought cancer...and cancer won., sep 2008.
- [7] Dominik Wodarz and Natalia L Komarova. Cancer and somatic evolution. In *Dynamics of Cancer*, chapter Chapter 2, pages 5–18.
- [8] B Vogelstein and K W Kinzler. *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGraw-Hill, Medical Pub. Division, 2002.
- [9] Franziska Michor, Yoh Iwasa, and Martin A Nowak. Dynamics of cancer progression. *Nature Reviews Cancer*, 4:197, mar 2004.
- [10] A G Jr Knudson. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(4):820–823, apr 1971.
- [11] Guo-Min Li. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Research*, 18:85, dec 2007.
- [12] Jurgen A Marteijn, Hannes Lans, Wim Vermeulen, and Jan H J Hoeijmakers. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15:465, jun 2014.

- [13] Hans E Krokan and Magnar Bjørås. Base Excision Repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4), 2013.
- [14] C Richard Boland and Ajay Goel. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6):2073–2087.e3, jun 2010.
- [15] Douglas Hanahan and Robert A Weinberg. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5):646–674, 2011.
- [16] Douglas Hanahan and Robert A Weinberg. The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1):57–70, 2000.
- [17] Young-Chau Liu, Chuen-Miin Leu, Fen-Hwa Wong, Wan-Shung Fong, Shan-Chun Chen, Chungming Chang, and Cheng-po Hu. Autocrine stimulation by insulin-like growth factor I is involved in the growth, tumorigenicity and chemoresistance of human esophageal carcinoma cells. *Journal of biomedical science*, 9(6 Pt 2):665–674, 2002.
- [18] Julie L Boerner, Andrew Danielsen, and Nita J Maihle. Ligand-independent oncogenic signaling by the epidermal growth factor receptor: v-ErbB as a paradigm. *Experimental cell research*, 284(1):111–121, mar 2003.
- [19] P P Di Fiore, J H Pierce, T P Fleming, R Hazan, A Ullrich, C R King, J Schlessinger, and S A Aaronson. Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells. *Cell*, 51(6):1063–1070, dec 1987.
- [20] Andrea I McClatchey and Alpha S Yap. Contact inhibition (of proliferation) redux. *Current opinion in cell biology*, 24(5):685–694, oct 2012.
- [21] F Peruzzi, M Prisco, A Morrione, B Valentinis, and R Baserga. Anti-apoptotic signaling of the insulin-like growth factor-I receptor through mitochondrial translocation of c-Raf and Nedd4. *The Journal of biological chemistry*, 276(28):25990–25996, jul 2001.
- [22] J Zhang, K Huang, K L O’Neill, X Pang, and X Luo. Bax/Bak activation in the absence of Bid, Bim, Puma, and p53. *Cell Death & Disease*, 7:e2266, jun 2016.
- [23] Chien-An A Hu, Kirsten White, Salina Torres, Mohammed-Ali Ishak, Laurel Sillerud, Yubin Miao, Zhihe Liu, Zhenglong Wu, Larry Sklar, and Marianne Berwick. Chapter 10 - Apoptosis and Autophagy: The Yin–Yang of Homeostasis in Cell Death in Cancer. In M A Hayat, editor, *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging*, pages 161–181. Academic Press, Amsterdam, 2015.
- [24] L Hayflick. Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochemistry. Biokhimiia*, 62(11):1180–1190, nov 1997.

- [25] C M Counter, A A Avilion, C E LeFeuvre, N G Stewart, C W Greider, C B Harley, and S Bacchetti. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *The EMBO journal*, 11(5):1921–1929, may 1992.
- [26] J W Shay and S Bacchetti. A survey of telomerase activity in human cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 33(5):787–791, apr 1997.
- [27] T M Bryan and T R Cech. Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Current opinion in cell biology*, 11(3):318–324, jun 1999.
- [28] T M Bryan, A Englezou, J Gupta, S Bacchetti, and R R Reddel. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *The EMBO journal*, 14(17):4240–4248, sep 1995.
- [29] D Hanahan and J Folkman. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86(3):353–364, aug 1996.
- [30] Feilim Mac Gabhann and Aleksander S Popel. Systems biology of vascular endothelial growth factors. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)*, 15(8):715–738, nov 2008.
- [31] Peter Carmeliet. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 438(7070):932–936, dec 2005.
- [32] Napoleone Ferrara. Vascular endothelial growth factor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 29(6):789–791, jun 2009.
- [33] Peter Baluk, Hiroya Hashizume, and Donald M McDonald. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. *Current opinion in genetics & development*, 15(1):102–111, feb 2005.
- [34] Janice A Nagy. Heterogeneity of the Tumor Vasculature, apr 2010.
- [35] Patrick Mehlen and Alain Puisieux. Metastasis: a question of life or death. *Nature Reviews Cancer*, 6:449, jun 2006.
- [36] Geert Berx and Frans van Roy. Involvement of Members of the Cadherin Superfamily in Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), 2009.
- [37] O WARBURG. On respiratory impairment in cancer cells. *Science (New York, N.Y.)*, 124(3215):269–270, aug 1956.
- [38] Matthew G Vander Heiden, Lewis C Cantley, and Craig B Thompson. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5930):1029–1033, may 2009.
- [39] Michele W L Teng, Jeremy B Swann, Catherine M Koebel, Robert D Schreiber, and Mark J Smyth. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *Journal of leukocyte biology*, 84(4):988–993, oct 2008.

- [40] Stephen P Jackson and Jiri Bartek. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461:1071, oct 2009.
- [41] A Sigal and V Rotter. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer research*, 60(24):6788–6793, dec 2000.
- [42] David G DeNardo, Pauline Andreu, and Lisa M Coussens. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity. *Cancer and Metastasis Reviews*, 29(2):309–316, 2010.
- [43] Carol E DeSantis, Chun Chieh Lin, Angela B Mariotto, Rebecca L Siegel, Kevin D Stein, Joan L Kramer, Rick Alteri, Anthony S Robbins, and Ahmedin Jemal. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(4):252–271, 2014.
- [44] Pippa G Corrie. Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine*, 39(12):717–722, 2011.
- [45] Bruce A Chabner and Jay Loeffler. Cancer chemotherapy and radiation therapy. In *Oxford Textbook of Medicine*. Oxford University Press, 2015.
- [46] Genevieve Housman, Shannon Byler, Sarah Heerboth, Karolina Lapinska, Mckenna Longacre, Nicole Snyder, and Sibaji Sarkar. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers*, 6(3):1769–1792, 2014.
- [47] Ramzi M Mohammad, Irfana Muqbil, Leroy Lowe, Clement Yedjou, Hsue-Yin Hsu, Liang-Tzung Lin, Markus David Siegelin, Carmela Fimognari, Nagi B Kumar, Q Ping Dou, Huanjie Yang, Abbas K Samadi, Gian Luigi Russo, Carmela Spagnuolo, Swapan K Ray, Mrinmay Chakrabarti, James D Morre, Helen M Coley, Kanya Honoki, Hiromasa Fujii, Alexandros G Georgakilas, Amedeo Amedei, Elena Niccolai, Amr Amin, S Salman Ashraf, William G Helferich, Xujuan Yang, Chandra S Boosani, Gunjan Guha, Dipita Bhakta, Maria Rosa Ciriolo, Katia Aquilano, Sophie Chen, Sulma I Mohammed, W Nicol Keith, Alan Bilsland, Dorota Halicka, Somaira Newsheen, and Asfar S Azmi. Broad targeting of resistance to apoptosis in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 35:S78 – S103, 2015.
- [48] CHONG DI and YAODONG ZHAO. Multiple drug resistance due to resistance to stem cells and stem cell treatment progress in cancer (Review), feb 2015.
- [49] Michael Dean, Tito Fojo, and Susan Bates. Tumour stem cells and drug resistance. *Nature Reviews Cancer*, 5:275, apr 2005.
- [50] Luigi Quintieri, Marianna Fantin, and Csaba Vizler. Identification of molecular determinants of tumor sensitivity and resistance to anticancer drugs. *Advances in experimental medicine and biology*, 593:95–104, 2007.

-
- [51] Pepita Gimenez-Bonafe, Avelina Tortosa, and Ricardo Perez-Tomas. Overcoming drug resistance by enhancing apoptosis of tumor cells. *Current cancer drug targets*, 9(3):320–340, may 2009.
- [52] Orit Lavi, Michael M Gottesman, and Doron Levy. The dynamics of drug resistance: A mathematical perspective. *Drug Resistance Updates*, 15(1):90–97, 2012.
- [53] Cristian Tomasetti and Doron Levy. AN ELEMENTARY APPROACH TO MODELING DRUG RESISTANCE IN CANCER, oct 2010.
- [54] Noemi Picco, Erik Sahai, Philip K Maini, and Alexander R A Anderson. Integrating Models to Quantify Environment-Mediated Drug Resistance. *Cancer Research*, 77(19):5409–5418, 2017.
- [55] Ursula Ledzewicz and Heinz Schättler. Drug resistance in cancer chemotherapy as an optimal control problem. *Discrete & Continuous Dynamical Systems - B*, 6(2006):129–150.
- [56] Jack K Hale and Hüseyin Koçak. *Scalar Autonomous Equations*, pages 3–23. Springer New York, New York, NY, 1991.
- [57] Weikang Wang, Yi Quan, Qibin Fu, Yu Liu, Ying Liang, Jingwen Wu, Gen Yang, Chunxiong Luo, Qi Ouyang, and Yugang Wang. Dynamics between Cancer Cell Subpopulations Reveals a Model Coordinating with Both Hierarchical and Stochastic Concepts. *PLOS ONE*, 9(1):1–9, 2014.
- [58] Xiufang Chen, Yue Wang, Tianquan Feng, Ming Yi, Xingan Zhang, and Da Zhou. The overshoot and phenotypic equilibrium in characterizing cancer dynamics of reversible phenotypic plasticity. *Journal of Theoretical Biology*, 390:40–49, 2016.
- [59] Piyush B Gupta, Christine M Fillmore, Guozhi Jiang, Sagi D Shapira, Kai Tao, Charlotte Kuperwasser, and Eric S Lander. Stochastic State Transitions Give Rise to Phenotypic Equilibrium in Populations of Cancer Cells. *Cell*, 146(4):633–644, 2011.
- [60] L Norton and R Simon. Tumor size, sensitivity to therapy, and design of treatment schedules. *Cancer treatment reports*, 61(7):1307–1317, oct 1977.
- [61] Elizabeth A Kuczynski, Daniel J Sargent, Axel Grothey, and Robert S Kerbel. Drug rechallenge and treatment beyond progression—implications for drug resistance, oct 2013.
- [62] Aayoung Hong, Gatien Moriceau, Lu Sun, Shirley Lomeli, Marco Piva, Robert Damoiseaux, Sheri L Holmen, Norman E Sharpless, Willy Hugo, and Roger S Lo. Exploiting Drug Addiction Mechanisms to Select against MAPKi-Resistant Melanoma. *Cancer Discovery*, 8(1):74–93, 2018.

- [63] K Meyer. Qualitative Theory of Second-Order Dynamic Systems (A. A. Andronov, E. A. Leontovich, I. I. Gordon and A. G. Maier); Theory of Bifurcations of Dynamic Systems on a Plane (A. A. Andronov, E. A. Leontovich, I. I. Gordon and A. G. Maier). *SIAM Review*, 17(1):183–184, jan 1975.
- [64] Steven H Strogatz. *Nonlinear Dynamics and Chaos*. CRC Press, 2nd edition, 2015.
- [65] Dimitrios Sourlas. *Dynamical Systems and applications in Maple*. University of Patras, Department of Physics, 2015.
- [66] H Peng and B Cheung. A review on pharmacokinetic modeling and the effects of environmental stressors on pharmacokinetics for operational medicine. Technical report, Defence R&D Canada, Toronto, 2009.
- [67] NCI. A to Z List of Cancer Drugs, 2017.
- [68] D A Cameron, H Gabra, and R C Leonard. Continuous 5-fluorouracil in the treatment of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 70(1):120–124, jul 1994.
- [69] Wen-Cheng Chen, Chuag-Chi Liaw, Cheng-Keng Chuang, Miao-Fen Chen, Chih-Shou Chen, Paul Yann Lin, Phei-Lang Chang, Sheng-Hsien Chu, Chun-Te Wu, and Ji-Hong Hong. Concurrent cisplatin, 5-fluorouracil, leucovorin, and radiotherapy for invasive bladder cancer. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 56(3):726–733, jul 2003.
- [70] Barbara Pardini, Rajiv Kumar, Alessio Naccarati, Jan Novotny, Rashmi B Prasad, Asta Forsti, Kari Hemminki, Pavel Vodicka, and Justo Lorenzo Bermejo. 5-Fluorouracil-based chemotherapy for colorectal cancer and MTHFR/MTRR genotypes. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 72(1):162–163, jul 2011.
- [71] Patricia J Eifel. Chemoradiotherapy in the treatment of cervical cancer. *Seminars in radiation oncology*, 16(3):177–185, jul 2006.
- [72] M Prefontaine, J T Donovan, J L Powell, and L Buley. Treatment of refractory ovarian cancer with 5-fluorouracil and leucovorin. *Gynecologic oncology*, 61(2):249–252, may 1996.
- [73] Kazuya Uchibori, Atsushi Kasamatsu, Masahiko Sunaga, Satoshi Yokota, Tomoya Sakurada, Eriko Kobayashi, Masaharu Yoshikawa, Katsuhiko Uzawa, Shiro Ueda, Hideki Tanzawa, and Nobunori Sato. Establishment and characterization of two 5-fluorouracil-resistant hepatocellular carcinoma cell lines. *International journal of oncology*, 40(4):1005–1010, apr 2012.
- [74] Atsuo Takashima, Yasuhide Yamada, Takako E Nakajima, Ken Kato, Tetsuya Hamaguchi, and Yasuhiro Shimada. Standard First-Line Chemotherapy for Metastatic Gastric Cancer in Japan Has Met the Global Standard: Evidence From Recent Phase III Trials. *Gastrointestinal Cancer Research : GCR*, 3(6):239–244, may 2009.

- [75] S Cascinu, R R Silva, S Barni, R Labianca, L Frontini, E Piazza, G Pancera, P Giordani, L Giuliadori, M A Pessi, V Fusco, G Luporini, R Cellerino, and G Catalano. A combination of gemcitabine and 5-fluorouracil in advanced pancreatic cancer, a report from the Italian Group for the Study of Digestive Tract Cancer (GISCAD). *British Journal of Cancer*, 80(10):1595–1598, jul 1999.
- [76] Christine M Walko and Celeste Lindley. Capecitabine: A review. *Clinical Therapeutics*, 27(1):23–44, feb 2018.
- [77] Ross Andrew Soo, Nicholas Syn, Soo-Chin Lee, Lingzhi Wang, Xn-Yii Lim, Marie Loh, Sing-Huang Tan, Ying-Kiat Zee, Andrea Li-Ann Wong, Benjamin Chuah, Daniel Chan, Siew-Eng Lim, Boon-Cher Goh, Richie Soong, and Wei-Peng Yong. Pharmacogenetics-Guided Phase I Study of Capecitabine on an Intermittent Schedule in Patients with Advanced or Metastatic Solid Tumours, 2016.
- [78] Bruno Reigner, Karen Blesch, and Erhard Weidekamm. Clinical Pharmacokinetics of Capecitabine. *Clinical Pharmacokinetics*, 40(2):85–104, 2001.
- [79] Leila Florento, Ronald Matias, Elena Tuano, Katherine Santiago, Frederick Dela Cruz, and Alexander Tuazon. Comparison of Cytotoxic Activity of Anticancer Drugs against Various Human Tumor Cell Lines Using In Vitro Cell-Based Approach. *International journal of biomedical science : IJBS*, 8(1):76–80, mar 2012.
- [80] Y S Pu, T S Hsieh, A L Cheng, N F Tseng, I J Su, C Y Hsieh, M K Lai, and T C Tsai. Combined cytotoxic effects of tamoxifen and chemotherapeutic agents on bladder cancer cells: a potential use in intravesical chemotherapy. *British journal of urology*, 77(1):76–85, jan 1996.
- [81] Lindi M Wahl and Martin A Nowak. Adherence and drug resistance: predictions for therapy outcome. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267(1445):835–843, 2000.
- [82] Wanjuan Yang, Jorge Soares, Patricia Greninger, Elena J Edelman, Howard Lightfoot, Simon Forbes, Nidhi Bindal, Dave Beare, James A Smith, I Richard Thompson, Sridhar Ramaswamy, P Andrew Futreal, Daniel A Haber, Michael R Stratton, Cyril Benes, Ultan McDermott, and Mathew J Garnett. Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC): a resource for therapeutic biomarker discovery in cancer cells. *Nucleic Acids Research*, 41(D1):D955–D961, 2013.
- [83] Richard Simon and Larry Norton. The Norton–Simon hypothesis: designing more effective and less toxic chemotherapeutic regimens. *Nature Clinical Practice Oncology*, 3:406, 2006.

