

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΟΙ ΕΠΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΩΑΣΗ ΑΥΓΩΝ
ΟΡΝΙΘΑΣ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ
ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

ΦΙΛΙΠΠΑΚΗ ΑΦΡΟΔΙΤΗ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Συμβουλευτική Επιτροπή:

Πολίτης Ι. Καθηγητής

Δεληγεώργης Στ. Καθηγητής

Κομινάκης Α. Επίκουρος Καθηγητής

Αθήνα, 2010

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗΣ ΖΩΟΤΕΧΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΟΙ ΕΠΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ
ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΩΑΣΗ ΑΥΓΩΝ
ΟΡΝΙΘΑΣ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ
ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

ΦΙΛΙΠΠΑΚΗ ΑΦΡΟΔΙΤΗ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Εξεταστική Επιτροπή:

Πολίτης Ι. Καθηγητής

Δεληγεώργης Στ. Καθηγητής

Κομινάκης Α. Επίκουρος Καθηγητής

Αθήνα, 2010

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ευκαιρία της παρούσας μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους άμεσα ή έμμεσα βοήθησαν στην ολοκλήρωσή της. Ειδικότερα ευχαριστώ τον κ. Ι. Πολίτη, καθηγητή του εργαστηρίου Ζωοτεχνίας, για την επιστημονική καθοδήγηση και τη στήριξη για την ολοκλήρωση της μελέτης. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σ. Δεληγεώργη, καθηγητή και διευθυντή του εργαστηρίου Ζωοτεχνίας και τον κ. Α. Κομινάκη, επίκουρου καθηγητή του εργαστηρίου Ζωοτεχνίας, για τη συνεργασία, τις συμβουλές και τις υποδείξεις τους στη δομή και οργάνωση του πειράματος και της παρούσας μελέτης. Επιπλέον, ευχαριστώ θερμά τη διδακτορικό κ. Χρονοπούλου Π. Ρουμπίνη για την αμέριστη βοήθειά της στη διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων του πειράματος. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την υπομονή και την έμπρακτη συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου και της συγγραφής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A	Τίτλος	Σελίδα
A	Περίληψη	1
B	Abstract	2
Γ	Θεωρητικό Μέρος	3
1	Εισαγωγή	4
2	Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία	4
2.1	Είδη ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	5
2.1.1	Ιονίζουσα ακτινοβολία	6
2.1.2	Μη ιονίζουσα ακτινοβολία	7
2.2	Μέτρηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	7
2.3	Επίδραση των ακτινοβολιών στους οργανισμούς	8
2.3.1	Ευαισθησία των κυττάρων στην ακτινοβολία	9
2.3.2	Ευαισθησία των οργανισμών στην ακτινοβολία	11
2.3.3	Επιπτώσεις ακτινοβολίας ανάλογα με τη δοσिमетρία	11
2.3.4	Συνοπτική παρουσίαση μελετών της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος	12
3	Βασικές αρχές λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος	20
3.1	Πρωτογενή και Δευτερογενή λεμφικά όργανα	21
3.2	Μηχανισμοί άμυνας του οργανισμού	22
3.2.1	Μη ειδικοί μηχανισμοί	23
3.2.1.1	Φαγοκυττάρωση	23
3.2.1.1.1	Αναπνευστική έκρηξη	26
3.2.1.2	Το Συμπλήρωμα	27
3.2.2	Ειδικοί μηχανισμοί	28
3.2.2.1.	Χυμική ανοσία	28

3.2.2.2		Κυτταρική ανοσία	30
4		Στάδια ανάπτυξης εμβρύου όρνιθας	32
4.1		Περιγραφή αυγού	32
4.2		Ανάπτυξη εμβρύου στον ωαγωγό	33
4.3		Εμβρυϊκή ανάπτυξη	35
4.3.1		Σχηματισμός νευρικού συστήματος εμβρύου όρνιθας	40
4.3.2		Σχηματισμός ανοσοποιητικού συστήματος εμβρύου όρνιθας	47
5		Διατροφή εμβρύου	49
Δ		Πειραματικό μέρος	51
1		Εισαγωγή - Σκοπός	52
2		Υλικά και Μέθοδοι	54
2.1		Υλικά	54
2.1.1		Επωαστική μηχανή	54
2.1.2		Πομπός ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και υπολογισμός δοσιμετρίας	55
2.2		Χειρισμός αυγών	55
2.3		Χειρισμός ορνίθων	55
2.4		Αιμοληψίες- Χειρισμός αίματος	56
2.5		Προσδιορισμός της ενεργότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης της κυτταρικής μεμβράνης	57
2.6		Προσδιορισμός της παραγωγής του ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου	58
2.7		Προσδιορισμός της παραγωγής οξειδίου του αζώτου	58
2.8		Στατιστική επεξεργασία	58
3		Αποτελέσματα - Σχολιασμός	58
3.1		Ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης της κυτταρικής μεμβράνης	59

3.2		Παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου	61
3.3		Παραγωγή οξειδίου του αζώτου	62
3.4		Επίδραση της ηλικίας στην ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης της κυτταρικής μεμβράνης	63
3.5		Επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου	64
3.6		Επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου	65
4		Συμπεράσματα	67
Ε		Λεξιλόγιο	69
ΣΤ		Βιβλιογραφία	71

ΟΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΩΑΣΗ ΑΥΓΩΝ ΟΡΝΙΘΑΣ ΣΕ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

ΦΙΛΙΠΠΑΚΗ ΑΦΡΟΛΙΤΗ-ΔΗΜΗΤΡΑ

*Τμήμα Ζωικής Επιστήμης και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο Γενικής και Ειδικής
Ζωοτεχνίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 1185, email: sdel@aua.gr*

Περίληψη

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από τις κεραίες της κινητής τηλεφωνίας επηρεάζει την υγεία των ατόμων που βρίσκονται κοντά σε αυτές. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξετάσει την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 900MHz, αντίστοιχη με αυτήν που εκπέμπεται από τις κεραίες της κινητής τηλεφωνίας, στο ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων, χρησιμοποιώντας τα ορνίθια και ως ζωικό μοντέλο πρόβλεψης για τις πιθανές επιπτώσεις της ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα των ανθρώπων.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 120 αυγά τα οποία χωρίστηκαν σε δύο ισάριθμες ομάδες των 60 αυγών. Η μία ήταν η ομάδα του μάρτυρα (Μ) και η άλλη η ομάδα της έκθεσης (Ε) της οποίας τα αυγά επώαστηκαν υπό την επίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας συχνότητας 900MHz και ισχύος 1,79 V/m τις πρώτες 5 ημέρες της επώασης. Ο μέσος ειδικός ρυθμός απορρόφησης (SAR) στα εκτεθειμένα αυγά προσδιορίστηκε αριθμητικά σε $0,13 \pm 0,03$ mW/kg. Μία μέρα μετά την εκκόλαψη των εμβρύων, τα ορνίθια μεταφέρθηκαν σε κλωβοστοιχίες. Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν κατά την 1^η, 7^η, 14^η και 21^η ημέρα ηλικίας των ορνίθων. Σε κάθε αιμοληψία, συλλέχθηκαν 4 δείγματα αίματος από κάθε ομάδα. Οι παράμετροι που αναλύθηκαν ήταν α) η ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (ΕΠ-Ο) στην κυτταρική μεμβράνη, β) η παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου των μακροφάγων και των ετερόφιλων, γ) η παραγωγή οξειδίου του αζώτου των μακροφάγων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία επηρεάζει σημαντικώς αρνητικά τις παραπάνω παραμέτρους με πιθανή συνέπεια τη μείωση της ικανότητας του ανοσοποιητικού συστήματος για καταπολέμηση των ξένων μικροοργανισμών. Τέλος αποδείχτηκε ότι οι παράμετροι παρέμειναν σταθεροί κατά τη διάρκεια του χρόνου το οποίο ερμηνεύεται με την υπόθεση ότι τα ορνίθια γεννιούνται με ένα συγκριτικά ώριμο ανοσοποιητικό σύστημα όσον αφορά τη φαγοκυττάρωση.

Λέξεις κλειδιά: ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, ΕΠ-Ο, υπεροξείδιο του υδρογόνου, οξείδιο του αζώτου, μακροφάγα, ετερόφιλα, ορνίθια

EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC FIELD DURING CHICKEN'S EGGS INCUBATION IN PARAMETERS OF THE IMMUNE SYSTEM

FILIPPAKI AFRODITE-DIMITRA

Abstract

Many researchers argue that the electromagnetic radiation emitted by the antennas of mobile phones affects the health of people close to them. The aim of this study was to examine the effect of electromagnetic radiation 900MHz, equivalent to that emitted by the antennas of mobile telephony, on the chickens' immune system, using also chickens as animal model for examining the possible effects of radiation on the humans' immune system.

At the experiment, 120 eggs were divided into two groups of 60 eggs. One was the control group (C) and the other the radiation group (R) whose eggs were incubated under the influence of electromagnetic radiation 900 MHz, 1,79 V/m in the first 5 days of incubation. The average specific absorption rate (SAR) in the exposed eggs was determined at $0,13 \pm 0,03$ mW / kg. One day after hatching of the embryos, the chickens were transferred to battery cages. The hematologies were made during the 1st, 7th, 14th and 21st day of age of chickens. In each hematology 4 blood samples were collected from each experimental group. The parameters which analyzed was a) the membrane-bound u-PA activity, b) the production of hydrogen peroxide from macrophages and heterophile, and c) the production of nitric oxide from macrophages.

Results showed that electromagnetic radiation adversely affected the above parameters and possibly reducing the ability of the immune system to fight foreign microorganisms. Finally, it is showed that the parameters were stable during the time which is interpreted by assuming that the chickens are born with a relatively mature immune system with regard to phagocytosis.

Key words: electromagnetic field, u-PA, hydrogen peroxide, nitric oxide, macrophage, heterophile, chicken

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο κόσμος γενικά όταν ακούει για την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία φέρνει στο μυαλό του αρνητικές εικόνες που συσχετίζουν την ακτινοβολία με καταστροφικές για τον άνθρωπο επιδράσεις, ασθένειες και καρκίνο. Η προκατάληψη αυτή είναι βέβαια δικαιολογημένη για πολλούς λόγους.

Αρχικά όλοι έχουν συσχετίσει την έκρηξη της πυρηνικής βόμβας στην Ιαπωνία κατά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο με τις βλαβερές επιδράσεις της ακτινοβολίας που ακολούθησε. Τα ατυχήματα σε σταθμούς παραγωγής πυρηνικής ενέργειας στην εποχή μας, όπως εκείνο του Τσερνομπίλ, επιβεβαίωσαν τους κινδύνους που διατρέχουν οι άνθρωποι λόγω πηγών ακτινοβολίας που δημιουργούνται από την εφαρμογή ορισμένων νέων τεχνολογικών επιπτώσεων. Παράλληλα όλοι γνωρίζουν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από τις εξετάσεις ακτινογραφίας ή αξονικού τομογράφου, στις οποίες συχνά οι ασθενείς πρέπει να υποβάλλονται, είναι δυνατόν να προκαλέσουν αρνητικές συνέπειες για την υγεία εάν δεν λαμβάνονται τα αναγκαία μέτρα για τη προφύλαξη τόσο του ίδιου του ασθενούς όσο και του προσωπικού που ασχολείται με τις εν λόγω διαδικασίες.

Είναι λοιπόν φυσιολογικό ότι στο άκουσμα του όρου ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία να δημιουργείται ανησυχία, φόβος και κάποτε πανικός. Η σύγχρονη τεχνολογία που εισέβαλε στη ζωή μας (κινητή τηλεφωνία, κεραίες, δορυφόροι, ραδιοτηλεόραση), βασίζεται στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Έτσι οποιαδήποτε εξέλιξη ή πρόοδος στον τομέα αυτό συνοδεύεται και από πολλές αντιδράσεις, δικαιολογημένες ή όχι, για την ασφάλεια των εφαρμογών αυτών (www.medlook.net, Δ1).

Η επιστημονική κοινότητα καλείται να τεκμηριώσει, με την έρευνα που διεξάγει, τη βασιμότητα των παραπάνω φόβων και στην περίπτωση που αποδεικνύονται τυχόν βλαπτικές επιδράσεις να θεσμοθετήσει τα όρια και τα μέτρα ασφαλείας με τα οποία θα αποφεύγονται αυτές. Μέσα σε αυτά τα πλαίσια πραγματοποιήθηκε η παρούσα μελέτη των πιθανών επιπτώσεων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων. Στο θεωρητικό μέρος που ακολουθεί γίνεται αναφορά στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, στο ανοσοποιητικό σύστημα και στην ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας, ενώ στο πειραματικό μέρος αναλύονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα της έρευνας.

2. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

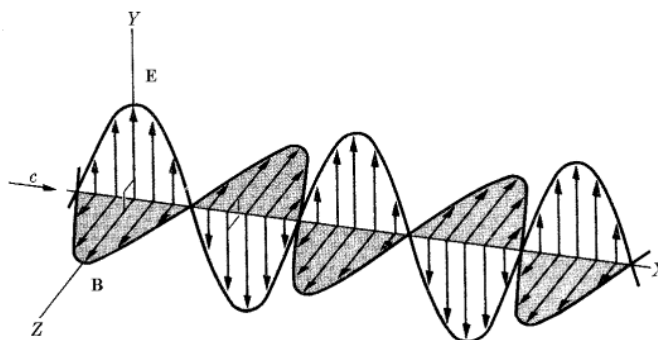
Η ακτινοβολία είναι μορφή ενέργειας η οποία εκπέμπεται από κάποια πηγή και διαδίδεται στο χώρο με οριακά μεγάλη ταχύτητα.

Ο άνθρωπος κατά τη διάρκεια της ζωής του δέχεται συνεχώς ενέργεια με τη μορφή ακτινοβολίας τόσο από το φυσικό του περιβάλλον όσο και από τεχνητές πηγές. Η ακτινοβολία αυτή επιδρά πάνω του κατά τρόπο πολύπλοκο, άλλοτε ευεργετικά και

άλλοτε βλαβερά, ανάλογα με το είδος της, την έντασή της και την ενέργεια που μεταφέρει (www.eeae.gr, Δ2).

2.1 Είδη ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ταξιδεύει με τη μορφή κυμάτων που ονομάζονται ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Αυτά τα κύματα μεταφέρουν ενέργεια με τη μορφή ταλάντωσης ηλεκτρικών και μαγνητικών πεδίων (Σχήμα 2.1.1).

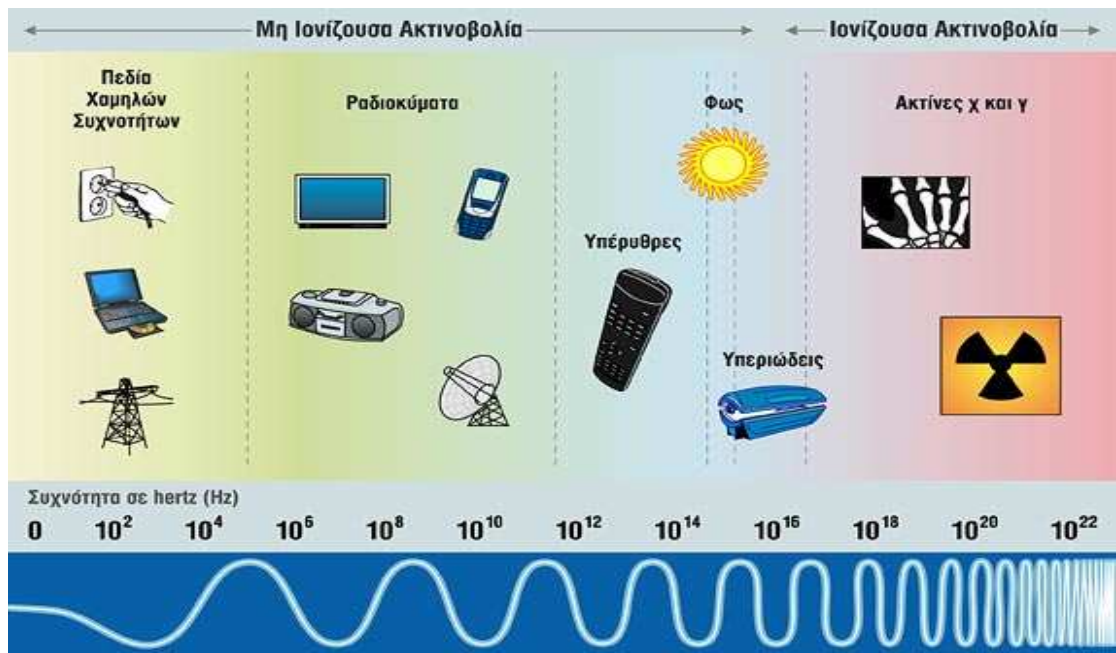


Σχήμα 2.1.1. Αρμονικό, επίπεδο Ηλεκτρομαγνητικό Κύμα, μεταδιδόμενο κατά την κατεύθυνση του άξονα X , με ταχύτητα c . Το μαγνητικό πεδίο διαδίδεται κάθετα ως προς το ηλεκτρικό πεδίο (kyttariki.biol.uoa.gr, Δ3).

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι: το **μήκος κύματος**¹, η **συχνότητα*** και η **μεταφερόμενη ενέργεια**. Το μήκος κύματος είναι αλληλένδετο με τη συχνότητα. Όσο πιο μικρό είναι το μήκος κύματος, τόσο πιο υψηλή είναι η συχνότητα εκπομπής. Οι σημαντικότερες διαφορές των διαφορετικών τύπων κυμάτων σχετίζονται με τη συχνότητα. Για οποιοδήποτε ηλεκτρομαγνητικό κύμα, το γινόμενο του μήκους κύματος και της συχνότητας ισούται με την ταχύτητα του φωτός. Η συχνότητα ενός ηλεκτρομαγνητικού κύματος εκφράζεται συνήθως σε μονάδες Hertz (Hz). Ένα Hz ισούται με ένα κύμα ανά δευτερόλεπτο. Ένα Kilohertz (KHz) ισούται με χίλια κύματα ανά δευτερόλεπτο, ένα Megahertz (MHz) ισούται με ένα εκατομμύριο κύματα ανά δευτερόλεπτο και ένα Gigahertz (GHz) ισούται με 1 δισεκατομμύριο κύματα ανά δευτερόλεπτο. (Εθνική Επιτροπή Τηλεπικοινωνιών & Ταχυδρομείων (ΕΕΤΤ), 2008)

Ανάλογα με τη συχνότητα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, αυτή χωρίζεται σε μικροκύματα, ραδιοκύματα, υπέρυθρη ακτινοβολία, ορατό φως, υπεριώδη ακτινοβολία, ακτίνες X, ακτίνες γάμμα και κοσμική ακτινοβολία (Σχήμα 2.1.2) (www.eekt.gr, Δ4).

¹ Λεξεις με * ερμηνεύονται στο λεξιλόγιο στη σελίδα 69



Σχήμα 2.1.2. Φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

Όλες οι μορφές της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας συγκροτούν το λεγόμενο **ηλεκτρομαγνητικό φάσμα**, ταξιδεύουν με την ταχύτητα του φωτός στο κενό και διαφέρουν στις τιμές της συχνότητας και του μήκους κύματος. Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα, χωρίζεται σε δύο επιμέρους περιοχές: την **ιονίζουσα** και τη **μη ιονίζουσα** ακτινοβολία.

2.1.1 Ιονίζουσα ακτινοβολία

Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες είναι οι ακτινοβολίες που μεταφέρουν ενέργεια ικανή να εισχωρήσει στην ύλη, να προκαλέσει ιονισμό των ατόμων της (βίαιη απομάκρυνση ηλεκτρονίου από το άτομο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ζεύγους αντίθετα φορισμένων ιόντων), να διασπάσει βίαια χημικούς δεσμούς και να προκαλέσει βιολογικές βλάβες σε ζώντες οργανισμούς (Δ2). Η ιονίζουσα ακτινοβολία περιλαμβάνει τις υπεριώδεις ηλιακές ακτίνες, την κοσμική ακτινοβολία, τις ακτίνες X και γάμμα (ραδιενέργεια). Ανάλογα με τη πηγή εκπομπής τους, οι ιονίζουσες ακτινοβολίες διακρίνονται σε φυσικές ακτινοβολίες και τεχνητές ακτινοβολίες.

Οι πηγές των φυσικών ακτινοβολιών αποτελούν αναπόσπαστο μέρος του φυσικού περιβάλλοντος. Σε αυτές συγκαταλέγονται διάφορα ραδιενεργά στοιχεία στο φλοιό της γης και η κοσμική ακτινοβολία. Οι τεχνητές πηγές παραγωγής ακτινοβολιών ανακαλύφθηκαν από τον άνθρωπο κατά τα τέλη του 19ου αιώνα. Έκτοτε η συστηματική έρευνα οδήγησε τόσο στην εκτεταμένη χρήση τους, όσο και στην λήψη μέτρων για την προστασία από τις ενδεχόμενες βλαβερές επιπτώσεις τους. Η τεχνητή ακτινοβολία χρησιμοποιείται σήμερα στην ιατρική με συμβολή στη διάγνωση και στη

θεραπεία, στη βιομηχανία (ραδιογραφήσεις, ακτινοβολητές για αποστείρωση υλικών, συσκευές για έλεγχο ποιοτικών παραμέτρων, διάφορα καταναλωτικά αγαθά κ.λπ.), στην παραγωγή ενέργειας, στη γεωργία, στην έρευνα και στην εκπαίδευση (Δ2).

2.1.2 Μη ιονίζουσα ακτινοβολία

Η μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει συχνότητα μικρότερη ή ίση με το ορατό φως, είναι μεγάλου μήκους κύματος και μεταφέρει σχετικά μικρή ποσότητα ενέργειας, η οποία δεν είναι αρκετή για να προκαλέσει ιονισμό, δηλαδή να σπάσει χημικούς δεσμούς στα μόρια των κυττάρων, είναι όμως ικανή να προκαλέσει διέγερση αλλά και ηλεκτρικές, χημικές και θερμικές επιδράσεις στα κύτταρα. Ειδικότερα, μη ιονίζουσες ακτινοβολίες είναι οι ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες στις οποίες εντάσσονται τα στατικά ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία, όπως είναι αυτά που δημιουργούνται στο φυσικό περιβάλλον, τα χαμηλής συχνότητας ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία που δημιουργούνται στο περιβάλλον διατάξεων ηλεκτρικής ενέργειας, τα ραδιοκύματα και τα μικροκύματα που εκπέμπονται από κεραιές επικοινωνιών (π.χ. κεραιές ραδιοφωνίας και τηλεόρασης, σταθμοί βάσης κινητής τηλεφωνίας συστήματα ραντάρ κ.ά.), καθώς και η υπέρυθη, η ορατή και η υπεριώδης ακτινοβολία.

Οι βιολογικές επιδράσεις της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας διαφέρουν ουσιαστικά από αυτές της ιονίζουσας ακτινοβολίας και εξαρτώνται από την ένταση και τη συχνότητά τους. Έτσι, τα χαμηλής συχνότητας ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία επιδρούν στο ανθρώπινο σώμα, επάγοντας πεδία και ρεύματα στο εσωτερικό του, ενώ τα ραδιοκύματα και τα μικροκύματα επιδρούν θερμαίνοντας τα κύτταρα και τους ιστούς (Δ2).

2.2 Μέτρηση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

Τα κύματα και τα πεδία της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας διαθέτουν ηλεκτρικές και μαγνητικές συνιστώσες. Η ένταση του πεδίου της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας εκφράζεται με βάση την ένταση και των δύο συνιστωσών. Η μονάδα "Volt ανά μέτρο" (V/m) χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου και η μονάδα "Ampere ανά μέτρο" (A/m) χρησιμοποιείται για να εκφράσει την ένταση του μαγνητικού πεδίου.

Άλλος συνήθης τρόπος για το χαρακτηρισμό ενός πεδίου ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι μέσω της πυκνότητας ισχύος. Η πυκνότητα ισχύος ορίζεται ως η ισχύς του κύματος που προσπίπτει στη μονάδα επιφάνειας. Η πυκνότητα ισχύος μπορεί να εκφραστεί σε μονάδες Watt ανά τετραγωνικό μέτρο (W/m^2), milliwatts (1 χιλιοστό του Watt) ανά τετραγωνικό εκατοστό (mW/cm^2) ή microwatts (1 εκατομμυριοστό του Watt) ανά τετραγωνικό εκατοστό ($\mu W/cm^2$). Άλλη μονάδα που έχει επικρατήσει και εκφράζει την "μαγνητική επαγωγή" είναι το Tesla (T). Μαγνητικό πεδίο με πυκνότητα μαγνητικής ροής 1T ασκεί δύναμη 1Newton σε ένα ηλεκτρικά φορτισμένο σώμα 1 Coulomb όταν αυτό κινείται εντός του μαγνητικού πεδίου με ταχύτητα 1m/sec.

$$N = T \times C \times \frac{m}{s}$$

Το μέγεθος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της ποσότητας της ενέργειας των ραδιοκυμάτων που απορροφάται από ένα σώμα ονομάζεται **Ρυθμός Ειδικής Απορρόφησης (Specific Absorption Rate-SAR)**. Συνήθως εκφράζεται σε Watts ανά χιλιόγραμμα (W/kg) ή milliwatts ανά γραμμάριο (mW/g). (EETT, 2008)

$$\frac{W}{Kg} = T \times A \times \frac{m^2}{Kg}$$

2.3 Επίδραση των ακτινοβολιών στους οργανισμούς

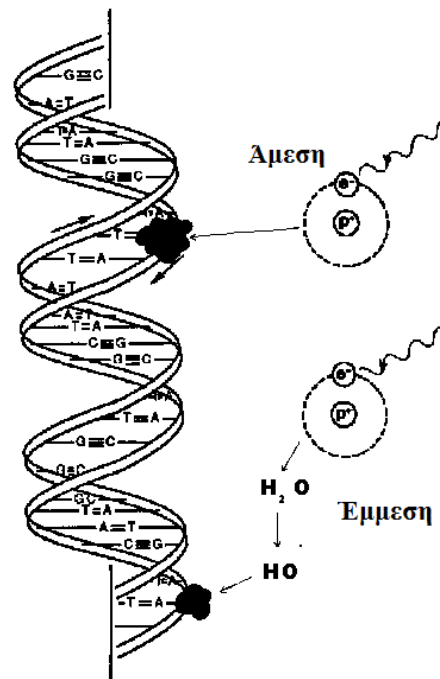
Ηλεκτρικά ρεύματα υπάρχουν και στο ανθρώπινο σώμα και είναι απαραίτητα για τις φυσιολογικές σωματικές λειτουργίες. Όλες οι δομές του νευρικού συστήματος λειτουργούν μεταδίδοντας παλμικά ηλεκτρικά σήματα. Οι περισσότερες βιοχημικές αντιδράσεις, από αυτές που σχετίζονται με την πέψη μέχρι εκείνες που σχετίζονται με την εγκεφαλική λειτουργία, περιλαμβάνουν ηλεκτρικές διεργασίες. (EETT,2008)

Τα βιολογικά αποτελέσματα της έκθεσης του ανθρώπινου σώματος και των κυττάρων του σε εξωτερικά πεδία ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας εξαρτώνται κυρίως από τη συχνότητα και την έντασή τους. Ανεξάρτητα αν η πηγή της ακτινοβολίας είναι φυσική ή τεχνητή και ανεξαρτήτως του μεγέθους της δόσης της ακτινοβολίας, αναμένονται να υπάρχουν κάποιες βιολογικές επιδράσεις από την ακτινοβολία. Σε αυτό το κεφάλαιο συνοψίζονται οι βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες επιδράσεις την έκθεσης σε ακτινοβολία.

Αν και όλες οι επακόλουθες βιολογικές επιδράσεις μπορούν να αναχθούν στην αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με τα άτομα, υπάρχουν δύο μηχανισμοί με τους οποίους η ακτινοβολία επηρεάζει τα κύτταρα. Αυτοί οι μηχανισμοί ονομάζονται άμεσος και έμμεσος μηχανισμός.

Άμεσος μηχανισμός ονομάζεται η επίδραση της ακτινοβολίας σε άτομα του DNA, ή σε κάποιο άλλο κυτταρικό συστατικό (π.χ. χρωμόσωμα) που είναι σημαντικό για την επιβίωση του κυττάρου. Αυτή η επίδραση μπορεί να επηρεάσει την αναπαραγωγή του κυττάρου και, με επακόλουθο, την επιβίωσή του. Το μόριο του DNA όμως αποτελεί ένα πολύ μικρό μέρος του συνόλου του κυττάρου, και για αυτό το λόγο είναι πολύ μικρή η πιθανότητα η ακτινοβολία να επιδράσει άμεσα στο DNA. Το κύτταρο αποτελείται κυρίως από νερό, με συνέπεια να υπάρχουν μεγαλύτερες πιθανότητες η ακτινοβολία να επιδράσει στο νερό. Αυτή η επίδραση ονομάζεται **έμμεσος μηχανισμός**. Όταν η ακτινοβολία επιδρά στο νερό, μπορεί να σπάσει τους δεσμούς του μορίου του νερού, παράγοντας έτσι ιόντα όπως υδρογόνο (H) και υδροξύλιο (OH). Αυτά τα ιόντα μπορεί να ξαναενωθούν ή να αλληλεπιδράσουν με άλλα ιόντα ώστε να σχηματίσουν ενώσεις, όπως το νερό, το οποίο δεν θα βλάψει το κύτταρο. Παρόλα αυτά, μπορεί να ενωθούν και να σχηματίσουν τοξικές ουσίες, όπως υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), το οποίο μπορεί να συμβάλει στην καταστροφή του κυττάρου. Ένα πλήθος αντιδράσεων με οξυγόνο και οργανική ύλη δημιουργεί πολύ

δραστικές ενώσεις, που μπορούν να αντιδράσουν με ζωτικής σημασίας βιομόρια όπως το DNA στον πυρήνα του κυττάρου (Εικόνα 2.3.1) (www.chem.kuleuven.be, Δ5). Γενικά η ακτινοβολία μπορεί να προκαλεί διέγερση, ιονισμό ή σπάσιμο των δεσμών των μορίων που συνθέτουν τις δομές του κυττάρου, επηρεάζοντας το σύνολο των ενδοκυτταρικών διεργασιών.



Εικόνα 2.3.1. Άμεση και έμμεση επίδραση της ιονίζουσας ακτινοβολίας στο DNA (Δ5).

2.3.1 Ευαισθησία των κυττάρων στην ακτινοβολία

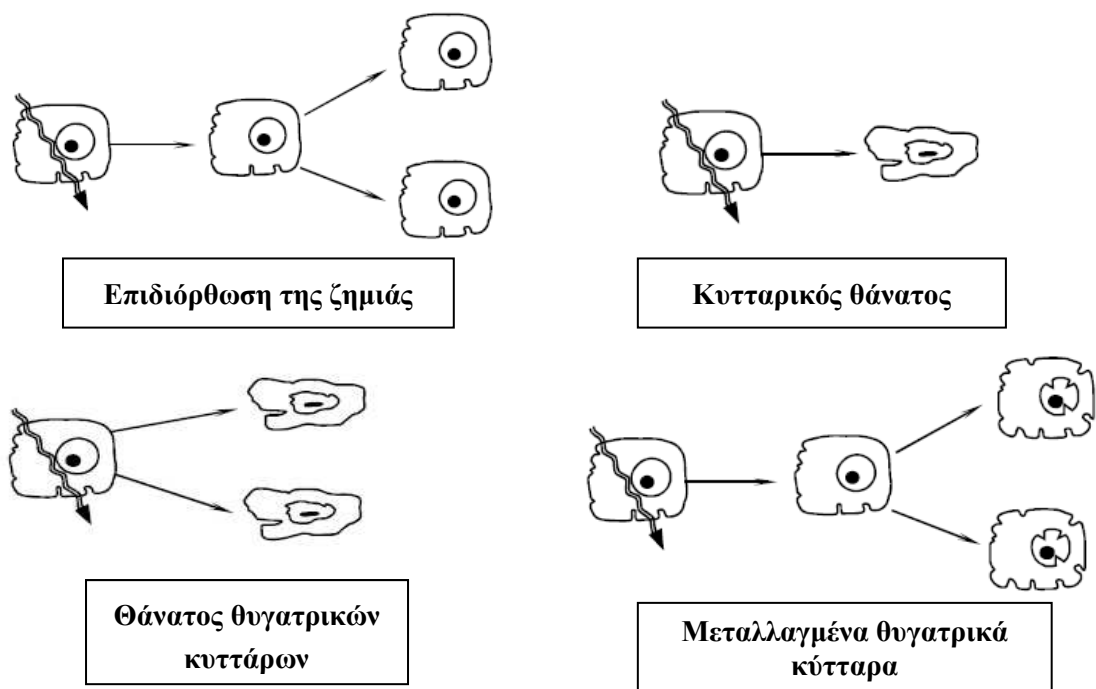
Όλα τα κύτταρα δεν είναι εξίσου ευαίσθητα στην ακτινοβολία. Σε γενικές γραμμές, τα κύτταρα που διαιρούνται γρήγορα και / ή είναι σχετικά μη ειδικευμένα τείνουν να είναι περισσότερο ευαίσθητα σε μικρότερες δόσεις ακτινοβολίας, σε σχέση με τα κύτταρα που διαιρούνται λιγότερο γρήγορα και είναι πιο εξειδικευμένα (www.jlab.org, Δ6). Αυτό συμβαίνει επειδή κατά τη διαίρεση των κυττάρων δεν θα πρέπει το DNA να έχει μεταλλαχτεί, έτσι ώστε οι απόγονοι των κυττάρων να επιβιώσουν. Μια άμεση αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με ένα κύτταρο κατά την αναπαραγωγή του μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο ή τη μετάλλαξη του κυττάρου, ενώ η άμεση αλληλεπίδραση με το DNA ενός αδρανούς κυττάρου θα έχει μικρότερες συνέπειες.

Ως αποτέλεσμα, τα ζωντανά κύτταρα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με ρυθμό αναπαραγωγής τους, πράγμα που δείχνει επίσης τη σχετική ευαισθησία τους στην ακτινοβολία. Αυτό σημαίνει ότι τα διαφορετικά κύτταρα έχουν διαφορετικές

ευαίσθητες. Τα πιο ευαίσθητα κύτταρα είναι τα λεμφοκύτταρα και τα άωρα ερυθροκύτταρα τα οποία αναπαράγονται ταχύτατα. Ακολουθούν τα κύτταρα του αναπαραγωγικού και πεπτικού συστήματος τα οποία δεν αναπαράγονται με τόσο ταχύ ρυθμό. Τα νευρικά και μυϊκά κύτταρα είναι τα λιγότερο ευαίσθητα κύτταρα καθώς ο ρυθμός αναπαραγωγής τους είναι ο πιο αργός (www.nrc.gov, Δ7).

Τα κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να αποκαθιστούν ικανό ποσοστό από τις ζημιές που μπορεί να έχουν υποστεί. Ως αποτέλεσμα, οι επιπτώσεις των ακτινοβολιών δεν είναι πάντα καταστρεπτικές για τα κύτταρα. Σε πολλές περιπτώσεις, τα κύτταρα είναι σε θέση να επανορθώνουν πλήρως κάθε ζημία και έτσι να λειτουργούν κανονικά. Όταν όμως οι βλάβες είναι μεγαλύτερες, τα κύτταρα μπορεί να παραμορφωθούν ή να καταστραφούν. Οι μεταλλάξεις στο DNA μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές μεταβολές στα φυσικά χαρακτηριστικά (φαινότυπο) του κυττάρου, οι οποίες σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να μετακυλήσουν στους απογόνους, ή να οδηγήσουν σε καρκίνο ή στο θάνατο του κυττάρου (Εικόνα 2.3.1.1) (science.howstuffworks.com, Δ8).

Έχει τεκμηριωθεί ότι ακόμα και φάσματα χαμηλής σχετικά ενέργειας, όπως αυτά της υπεριώδους περιοχής του ηλιακού φωτός, είναι δυνατόν να προκαλέσουν αντίστοιχες βλάβες. Όμως ισχύει γενικά ότι η πιθανότητα εμφάνισης αυτών είναι ανάλογη της ιονίζουσας ικανότητας της ακτινοβολίας, της συνολικής δόσης που δέχονται τα κύτταρα, του ρυθμού με τον οποίο επιδρά η ακτινοβολία και το είδος των κυττάρων.



Εικόνα 2.3.1.1. Σχηματική απεικόνιση των τεσσάρων πιθανών αποτελεσμάτων της ακτινοβολήσης των κυττάρων (Δ7).

2.3.2 Ευαισθησία των οργανισμών στην ακτινοβολία

Οι έμβιοι πολυκύτταροι οργανισμοί αποτελούνται από σύνολα κυττάρων, με προκαθορισμένη λειτουργία, που ονομάζονται όργανα. Η ευαισθησία κάθε οργάνου στην ακτινοβολία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ευαισθησία των επί μέρων κυττάρων που το αποτελούν. Έτσι, ο μυελός των οστών, κύριο αιμοποιητικό όργανο, παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στην ακτινοβολία καθώς αποτελείται σχεδόν στο σύνολό του από ταχέως διαιρούμενα άωρα λευκοκύτταρα και ερυθροκύτταρα. Αντίθετα, οι μύες εμφανίζουν ανθεκτικότητα καθώς αποτελούνται κατά κύριο λόγο από μυϊκά κύτταρα που έχουν αργό ρυθμό αναπαραγωγής. Όμως επειδή τα όργανα δεν αποτελούνται αποκλειστικά από ένα είδος κυττάρων είναι δυνατόν να εμφανισθούν δευτερογενείς βλάβες στα βασικά κύτταρα του οργάνου (π.χ. νευρικά κύτταρα εγκεφάλου) λόγω αρχικής βλάβης άλλων δομικών κυττάρων αυτού (π.χ. αγγειακό ενδοθήλιο).

Ομοίως, τα έμβρυα, ως ένα σύνολο ταχέως διαιρουμένων κυττάρων, παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία λόγω και της διαφοροποίησης που οδηγεί στη μορφογένεση και οργανογένεση. Πιθανές παρενέργειες είναι η καθυστερημένη ανάπτυξη, το μικρό μέγεθος ή έλλειψη οργάνων ή μελών, διαταραχές συμπεριφοράς, η καρκινογένεση, και ο πρόωρος θάνατος του εμβρύου.

2.3.3 Επιπτώσεις ακτινοβολίας ανάλογα με τη δοσιμετρία

Οι βιολογικές επιπτώσεις της ακτινοβολίας ανάλογα με τη δόση της, συνήθως χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία αποτελεί την έκθεση σε υψηλές δόσεις ακτινοβολίας για σύντομα χρονικά διαστήματα που προκαλεί οξείες ή βραχυπρόθεσμες παρενέργειες. Ο δεύτερη αντιστοιχεί στην κατηγορία της έκθεσης σε χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας για μεγάλο χρονικό διάστημα που έχει χρόνιες ή μακροπρόθεσμες επιπτώσεις.

Οι υψηλές δόσεις ακτινοβολίας τείνουν να σκοτώνουν τα κύτταρα, ενώ οι χαμηλές δόσεις τείνουν να τα βλάψουν ή να τα αλλάξουν. Οι υψηλές δόσεις μπορεί να σκοτώσουν τόσα πολλά κύτταρα ώστε να υποστούν ζημιά ιστοί και όργανα. Αυτό με τη σειρά του μπορεί να προκαλέσει μια γρήγορη απάντηση σε ολόκληρο το σώμα που συχνά αναφέρεται ως **σύνδρομο οξείας ακτινοβολίας**. Αντίθετα, οι χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας που κατανέμονται σε μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, δεν προκαλούν άμεσο πρόβλημα σε οποιοδήποτε όργανο του σώματος. Οι επιπτώσεις των χαμηλών δόσεων ακτινοβολίας εμφανίζονται κυρίως σε επίπεδο κυττάρου, και οι επιπτώσεις αυτές δεν παρατηρούνται για πολλά χρόνια. Υπάρχουν τρεις γενικές κατηγορίες των επιπτώσεων που προκύπτουν από την έκθεση σε χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας. Αυτές είναι οι εξής:

- Γενετική – Είναι η καταστροφή ή η μετάλλαξη των κυττάρων αναπαραγωγής και η στέρωση. Οι μεταλλάξεις των κυττάρων μπορεί να

μεταδοθούν στις επόμενες γενεές και να προκαλέσουν τερατογενέσεις.

- Σωματική – Είναι η δημιουργία καρκινώματος ή οξεία ακτινοπληξία, η οποία παρουσιάζεται αν ο οργανισμός απορροφήσει μεγάλη δόση ακτινοβολίας σε μικρό χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα τον θάνατο του ατόμου (Μεντζαφός, 2001). Το αποτέλεσμα θα το υποστεί κυρίως το άτομο που εκτέθηκε. Δεδομένου ότι ο καρκίνος είναι το αρχικό αποτέλεσμα, αυτό μερικές φορές ονομάζεται **καρκινογενετικό φαινόμενο**.
- Εντός της μήτρας - Ορισμένοι θεωρούν εσφαλμένα ότι πρόκειται για μια γενετική συνέπεια της έκθεσης σε ακτινοβολία, διότι η επίπτωση, που έχει υποστεί ένα αναπτυσσόμενο έμβρυο, φαίνεται μετά τη γέννηση. Ωστόσο, αυτό είναι πράγματι μια ειδική περίπτωση των σωματικών επιπτώσεων, δεδομένου ότι το έμβρυο είναι αυτό που εκτίθεται στην ακτινοβολία (Δ7).

2.3.4 Συνοπτική παρουσίαση μελετών της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος

Η επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα έχει μελετηθεί εκτενώς σε ανθρώπους και σε ζώα, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στον άνθρωπο την τελευταία 15ετία ικανός αριθμός μελετών έδειξε αρνητική επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι Dmoch & Moszczynski (1998) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, συχνότητας 6-12 GHz, σε εργάτες κεραιών τηλεόρασης και δορυφορικών επικοινωνιών. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της συγκέντρωσης των IgG και IgA, αύξηση των λεμφοκυττάρων, και μείωση του αριθμού των κυττάρων φονείς (NK) κυττάρων και μειωμένη τιμή του λόγου T-βοηθών/T-καταστολέων. Συνεπώς, η υψηλή ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είχε αρνητική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι Moszczynski et al. (1999) μελέτησαν την επίδραση των μικροκυμάτων σε εργάτες κεραιών τηλεόρασης και δορυφορικών επικοινωνιών. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της συγκέντρωσης των IgG και IgA και μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων και των T8 κυττάρων. Περαιτέρω, στους εργάτες που δούλευαν σε ραντάρ βρέθηκε αυξημένος αριθμός IgM και μειωμένος αριθμός των T8 κυττάρων. Συμπερασματικά, η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είχε αρνητική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι Boscol et al. (2001) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε δείγμα 19 γυναικών που εκτέθηκαν σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο για 2 χρόνια. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, συχνότητας 500 kHz–3 GHz, είχε ισχύ στα μπαλκόνια των σπιτιών των γυναικών $4,3 \pm 1,4$ V/m. Διαπιστώθηκε ότι η έκθεση είχε

ως αποτέλεσμα τη δραματική μείωση της συχνότητας των κρίσιμων κατηγοριών των λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα μείωση των ακόλουθων NK CD16+⁻CD56⁺, CD3(-)-CD8⁺, B και NK CD3(-)-HLA-DR⁺ και CD(-)-CD25⁺. Περαιτέρω παρατηρήθηκε ότι η παραγωγή IL-2 μειώθηκε σε ποσοστό αντίστοιχο της μείωσης των CD16+⁻CD56⁺ λεμφοκυττάρων. Επιπλέον παρατηρήθηκε ότι η ικανότητα πολλαπλασιασμού των περιφερειακών κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος μειώθηκε όπως και η παραγωγή της ιντερφερόνης-γ. Συμπερασματικά, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μείωσε την κυτταροτοξική ικανότητα των κυττάρων.

Οι Onodera et al. (2003) μελέτησαν την επίδραση του 10-T στατικού μαγνητικού πεδίου στα περιφερειακά ανοσοκύτταρα του ανθρώπου. Διαπιστώθηκε ότι στα μη διεγερμένα λεμφοκύτταρα, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη βιωσιμότητα των εκτεθειμένων και μη-εκτεθειμένων CD4⁺ T κυττάρων, CD8⁺ T κυττάρων, B κυττάρων, και NK. Η έκφραση του Th1 τύπου υποδοχέα, CXCR3, και Th2 τύπου υποδοχέα, CCR3, δεν άλλαξε μετά την έκθεση. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα “παρθένα” T κύτταρα και T- κύτταρα μνήμης ούτε στα CD4⁺ ούτε στα CD8⁺ T κύτταρα. Αντίθετα, στη μη διεγερμένη κατάσταση, το μαγνητικό πεδίο μείωσε τη βιωσιμότητα των T κυττάρων ενεργοποιημένων με φυτοαιματογλουτίνη (PHA) και στους δυο υποπληθυσμούς των CD4⁺ και CD8⁺. Πιο συγκεκριμένα, ο αριθμός των PHA-treated “παρθένων” CD8⁺ T κυττάρων (CD45RA⁺CD4⁻CD8⁺) μειώθηκε θεαματικά μετά την έκθεση στο μαγνητικό πεδίο, ενώ PHA-treated CD8⁺ κύτταρα μνήμης (CD45RA⁻CD4⁻CD8⁺) αντιστάθηκαν στην έκθεση. Ο αριθμός των PHA-treated “παρθένων” CD4⁺ T κυττάρων (CD45RA⁺CD4⁺CD8⁻) και των κυττάρων μνήμης (CD45RA⁻CD4⁺CD8⁻) μειώθηκε αισθητά με παρόμοιο βαθμό. Συνεπώς η ευαισθησία των λεμφοκυττάρων στην έκθεση στο μαγνητικό πεδίο διέφερε μεταξύ των ενεργοποιημένων υποτύπων των T-κυττάρων. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ένα ισχυρό στατικό μαγνητικό πεδίο είχε έντονες επιδράσεις στα ανοσοκύτταρα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης, ενώ είχε σχεδόν μηδενικές επιδράσεις στα ανοσοκύτταρα κατά τη φάση της μη διαίρεσης.

Οι Cabri et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων. Στο πείραμα ανέλυσαν τα μόρια CD25, CD95, CD28 σε διεγερμένα και μη- διεγερμένα CD4⁺ ή CD8⁺ T-κύτταρα. Τα κύτταρα από νεαρούς και ενήλικους δότες εκτέθηκαν σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (1800MHz, SAR 2W/kg) με ή χωρίς μιτωτική διέγερση. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στα λεμφοκύτταρα. Ωστόσο, παρατηρήθηκε, ύστερα από την έκθεση στην ακτινοβολία, μια στατιστικά σημαντική μείωση της έκφρασης του CD95 στα διεγερμένα CD4⁺ T-κύτταρα στους ενήλικους δότες σε σχέση με τους νεαρούς.

Οι Amati et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 50 Hz, 0,02-1 mT στο ανοσοποιητικό σύστημα των ανθρώπων. Εξετάστηκε η βιωσιμότητα και η χημειοτακτική δραστηριότητα των ανθρώπινων πολυμορφοπυρηνικών λευκοκυττάρων. Διαπιστώθηκε ότι η βιωσιμότητα των κυττάρων δεν επηρεάστηκε από την έκθεση στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Οι αυξημένες

δόσεις της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είχαν ως αποτέλεσμα την προοδευτική μείωση της χημειοτακτικής δραστηριότητας. Στα 1 mT βρέθηκε επίσης, ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ανέστειλε τον πολυμερισμό της ακτίνης, αποτρέποντας έτσι τη δημιουργία προσανατολιζόμενων ψευδοποδίων που ακολουθούν χημειοτακτικούς ερεθισμούς. Αυτά τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία επέδρασε αρνητικά στην κινητικότητα των πολυμορφοποιητικών λευκοκυττάρων.

Οι Salerno et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση του μαγνητικού πεδίου σε διαφορετικές εντάσεις που παράγονται από μαγνητικές μονάδες (0,5 T) και από ένα διπλό κυλινδρικό καλώδιο (0,5 mT) σε ανθρώπινες $CD4^+$ T κυτταρικές σειρές. Τα $CD4^+$ T κύτταρα εκτέθηκαν για 2 ώρες κάτω από ισοθερμικές συνθήκες στα προαναφερθέντα μαγνητικά πεδία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκθεση και η επακόλουθη *in vitro* διέγερση με τη παρουσία της κατάλληλης ουσίας προτρεπτικής μίτωσης, προκάλεσε τη μείωση της παραγωγής της ιντερφερόνης- γ , της βιωσιμότητας των κυττάρων, της έκφρασης των CD25 και της κυτταροπλασματικής ελευθέρου ασβεστίου συγκέντρωσης σε εκτεθειμένες $CD4^+$ T κυτταρικές σειρές. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικώς σημαντικά όταν αποτιμήθηκαν ύστερα από 24 ώρες *in vitro* καλλιέργειας. Αντίθετα, δεν ήταν σημαντικά, και για τους δυο τύπους μαγνητικού πεδίου, όταν οι πειραματικές ομάδες αναλύθηκαν ύστερα από παρατεταμένη *in vitro* καλλιέργεια. Εν κατά κλείδι, το στατικό μαγνητικό πεδίο μπορεί να προκαλέσει αρνητικές επιδράσεις στη λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων.

Οι Atasoy et al. (2009) μελέτησαν την *in vitro* επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ισχύος 450, 900 και 1784 MHz στις λειτουργικές ιδιότητες των μονοκυττάρων ύστερα από 2-, 6-, 24-ωρή έκθεσή τους σε αυτήν. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επηρέασε τις λειτουργικές ιδιότητες των μονοκυττάρων και την έκφραση του HLADR και CD11b. Αντίθετα, μείωσε την έκφραση του CD11a και αύξησε την έκφραση του CD49d. Συμπερασματικά, η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία επηρέασε αρνητικά την ταχύτητα προώθησης στο σημείο μόλυνσης.

Οι Gobba et al. (2009) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα 121 εργατών που απασχολήθηκαν σε διάφορες επαγγελματικές δραστηριότητες για 2 ωράρια εργασίας. Το επίπεδο της έκθεσης υπολογίστηκε ως χρονικός σταθμικός μέσος (TWA)*. Οι εργάτες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες, της χαμηλής έκθεσης ($TWA \leq 0,2 \mu T$), της μεσαίας έκθεσης ($TWA = 0,21-0,99 \mu T$), και στην υψηλή έκθεση ($TWA \geq 1 \mu T$). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι εργάτες, στην υψηλή έκθεση, εμφάνισαν σημαντικά μειωμένη δραστηριότητα των NK σε σύγκριση με αυτών στην χαμηλή έκθεση ($p < 0,01$). Στη μεσαία έκθεση παρατηρήθηκε μια μείωση της δραστηριότητας, αλλά οι διαφορές δεν ήταν σημαντικές.

Όμως υπάρχει ικανός αριθμός μελετών οι οποίες έδειξαν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν προκαλεί σημαντικές επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου.

Οι Tuschl et al. (1999) μελέτησαν την επίδραση της χρόνιας έκθεσης σε υψηλή ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στο ανοσοποιητικό σύστημα 18 χειριστών ιατρικών μηχανημάτων. Μετρήθηκαν οι πληθυσμοί των λευκοκυττάρων και λεμφοκυττάρων, αλλά και οι υποπληθυσμοί των λευκοκυττάρων με κυτταρομετρική ροή και μονοκλωνικά αντισώματα κατά της επιφάνειας αντιγόνων. Επιπλέον υπολογίστηκε η δραστηριότητα των λεμφοκυττάρων. Τα λεμφοκύτταρα διεγέρθηκαν με την προτρεπτική μίτωσης φυτοαιματογλουτίνη και ο πολλαπλασιασμός τους μετρήθηκε με τη μέθοδο της κυτταρομετρικής ροής. Δεν βρέθηκαν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των μαρτύρων και των εκτεθειμένων ανθρώπων στις ανωτέρω παραμέτρους. Συμπερασματικά, η χρόνια έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επιδρά στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι Dasdag et al. (2002) μελέτησαν την επίδραση του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου στο αιμοποιητικό και ανοσοποιητικό σύστημα 16 οξυγονοκολλητών σε σύγκριση με 14 υγιή άτομα. Κατά τη διάρκεια της οξυγονοκόλλησης δημιουργείτε ένα εξαιρετικά μικρό ηλεκτρομαγνητικό πεδίο εντάσεως 0,10-0,25 mT. Στο πείραμα αυτό μετρήθηκε ο αριθμός των αιματοκυττάρων, της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη, των αιμοπεταλίων, των λευκών κυττάρων, των φαγοκυττάρων, των λεμφοκυττάρων, των εωσινόφιλων, και των CD3, CD4, CD8, και CD4/CD8. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων των ανθρώπων. Παρόλο που τα αντιγόνα στην επιφάνεια των T λεμφοκυττάρων, όπως τα CD4 και CD8, βρέθηκαν να είναι λιγότερα στους οξυγονοκολλητές, το επίπεδο του αιματοκρίτη βρέθηκε να είναι υψηλότερο στα ίδια άτομα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές των υγιών ατόμων. Παρόλα αυτά, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν δεν ήταν στατιστικά και κλινικά σημαντικά.

Οι Tuschl et al. (2006) μελέτησαν την *in vitro* επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα των ανθρώπων. Ανθρώπινα αιματοκύτταρα εκτέθηκαν σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία 1950 MHz (SAR=1W/kg) σε διακοπτόμενο ρυθμό (5 λεπτά έκθεση, 10 λεπτά μη έκθεση) για 8 ώρες. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν είναι: (1) η ενδοκυτταρική παραγωγή της ιντερλευκίνης-2 (IL-2) και ιντερφερόνης γάμμα στα λεμφοκύτταρα, και η IL-1 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF)- α στα μονοκύτταρα αξιολογήθηκε με μονοκλωνικά αντισώματα, (2) η δραστηριότητα των γονιδίων σχετικών με το ανοσολογικό σύστημα (IL 1- α και β , IL-2, IL-2-υποδοχέα, IL-4, MCSF-υποδοχέα (macrophage colony stimulating factor), TNF- α , TNF- α -υποδοχέα) αναλύθηκαν με real time PSR, (3) τα ενεργοποιημένα με λεμφοκίνη κύτταρα φονής (LAK κύτταρα) κατά μιας σειράς κυττάρων όγκου καθορίστηκαν με δοκιμή κυτταρομετρικής ροής. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές επιδράσεις της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και δεν υπήρξε ένδειξη ότι οι εκπομπές από τα κινητά τηλέφωνα σχετίζονται με αρνητικές επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα των ανθρώπων.

Οι Salerno et al. (2009) μελέτησαν την επίδραση του 50 Hz μαγνητικού ή στατικού μαγνητικού πεδίου για 0,5 mT σε υποσύνολα ανθρώπινων CD4 T κυττάρων σε σχέση με την απελευθέρωση/ αναλογία κυτοκίνης IFN- γ , τη βιωσιμότητα των κυττάρων και την ενδοκυτταρική συγκέντρωση, ύστερα από 24ώρη και 48ώρη έκθεση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα υποσύνολα CD4CD45RA⁻ T ήταν πιο ευαίσθητα ύστερα από 24ώρη έκθεση. Επίσης, παρατηρήθηκε μείωση της παραγωγής των IFN- γ , της βιωσιμότητας των κυττάρων και της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης στα εκτεθειμένα CD4CD45RA⁻ T κύτταρα σε σύγκριση με τα CD4CD45RA⁺ T κύτταρα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η έκθεση με μαγνητικό πεδίο επιφέρει μια μείωση στις αντιδράσεις κατά των ερεθισμών αλλά παράλληλα ότι οι αλλαγές αντιστρέφονται γρήγορα, τουλάχιστον ύστερα από μικρής διάρκειας έκθεσης.

Ανάλογες εργασίες έχουν γίνει και σε διάφορα είδη ζώων όπου όμως τα αποτελέσματα εμφανίζονται περισσότερο αντικρουόμενα από αυτές που πραγματοποιήθηκαν στον άνθρωπο.

Οι Jacobi-Elizondo et al. (2001) μελέτησαν την επίδραση του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου 60 Hz, 1 mT στο πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων των επίμυων, στην παραγωγή του νιτρικού οξέος και στη φαγοκυττάρωση του μύκητα *Candida albicans* από περιτονικά λεμφοκύτταρα των επίμυων. Περαιτέρω, μελετήθηκε και η επίδραση της 8 ώρες/ημέρα έκθεσης σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία για 6 ημέρες για την εξάπλωση του λεμφώματος L5178Y-R των επίμυων. Διαπιστώθηκε ότι η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επηρέασε τις λειτουργίες των λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων, και δεν επηρέασε την *in vitro* ανάπτυξη των κυττάρων του λεμφώματος L5178Y-R των ποντικών. Συνεπώς, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επηρεάζει το ανοσολογικό σύστημα.

Οι Shafey et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου 30 kV/m, 60 Hz κατά την διάρκεια των πρώτων 18 ημερών της επώασης στο ανοσολογικό σύστημα των ορνίθων κρεοπαραγωγικού τύπου. Μετρήθηκε το σωματικό βάρος και το βάρος το λεμφικών οργάνων (θύμος, σπλήνα και του θύλακα του Fabricius) των ορνίθων σε ηλικία 21 και 42 ημερών. Το ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων εξετάστηκε για τις αντιδράσεις των αντισωμάτων του στα ερυθρά αιμοσφαίρια του προβάτου (SRBC) και στο εμβόλιο κατά της ψευδοπανώλης (Newcastle disease), στην *in vivo* διάδοση των T-λεμφοκυττάρων στην αντίδραση κατά την φυοαιμοτογλουτίνης, και *in vitro* κατά της κονκαναβαλίνης A (Con-A). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επηρέασε το σωματικό βάρος των ορνίθων, το βάρος των λεμφικών οργάνων και του θύλακα του Fabricius στην 21^η και 42^η ημέρα της ηλικίας τους, αλλά και ούτε τις αντιδράσεις του ανοσοποιητικού συστήματος. Εντούτοις, αυξήθηκε σημαντικά το βάρος του σπλήνα ως ποσοστό του σωματικού βάρους την 21^η και 42^η ημέρα. Οι όρνιθες την 42^η ημέρα είχαν σημαντικά υψηλότερο σωματικό βάρος, πιο βαριά λεμφικά όργανα, πιο βαρύ θύλακα του Fabricius ως % του σωματικού βάρους, και πιο ελαφρύ σπλήνα ως % του σωματικού βάρους σε σύγκριση με τα αντίστοιχα βάρη στην 21^η ημέρα ηλικίας. Συμπερασματικά, η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αυξάνει το βάρος του σπλήνα ως % του σωματικού βάρους, χωρίς όμως να επηρεάζονται οι χημικές ανοσοποιητικές αποκρίσεις και, κατά συνέπεια, το ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων κατά τη διάρκεια της εκτροφής τους.

Οι Frahm et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση του μαγνητικού πεδίου 50 Hz, έντασης 1 mT, στη φαγοκυτταρική δραστηριότητα και στη παραγωγή ιντερλευκίνης-1β των μακροφάγων των επίμυων. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας ύστερα από 45λεπτή έκθεση και της παραγωγής ιντερλευκίνης-1β ύστερα από έκθεση 24 ωρών στο μαγνητικό πεδίο. Επιπλέον, εξετάστηκε η γονοτοξική ικανότητα της 1mT ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας αναλύοντας τους μικροπυρηνικούς σχηματισμούς σε μακρά διάρκεια (12, 24, και 48 ώρες) έκθεση των μακροφάγων. Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στους μικροπυρηνικούς σχηματισμούς ή ασυνήθιστες μιτωτικές δραστηριότητες στα εκτεθειμένα κύτταρα.

Οι Cicekcibasi et al. (2008) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 50 Hz στο βάρος της σπλήνας, στην ιστολογία των λεμφοειδών οργάνων, στα περιφερειακά λεμφοκύτταρα και στο ποσοστό των ANAE-θετικών (alpha-naphthyl acetate esterase positive) λεμφοκυττάρων στους επίμυς. Οι επίμυς χωρίστηκαν σε 6 ομάδες των 20 ατόμων και εκτέθηκαν σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία 50 Hz και έντασης 1, 2, 3, 4, και 5 μ T για 40 ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση του σωματικού βάρους μέχρι την ένταση των 4 μ T. Αντιθέτως, το βάρος του σπλήνα δεν επηρεάστηκε. Επιπλέον, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν επηρέασε το ποσοστό των λεμφοκυττάρων, των μονοκυττάρων, την ιστολογία των λεμφοειδών οργάνων και των ANAE-θετικών λεμφοκυττάρων, ενώ το ποσοστό των φαγοκυττάρων και των βασεόφιλων άλλαξε μη-γραμμικά.

Αντίθετα με τις παραπάνω μελέτες που δεν έδειξαν επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα των ζώων, υπήρξαν μελέτες οι οποίες έδειξαν αρνητική επίδραση σε αυτό χωρίς όμως να λείπουν και μελέτες που έδειξαν θετική επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο εξεταζόμενο σύστημα. Θετική επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα έδειξε η μελέτη των Cuppen et al. (2007) οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος ψαριών. Στο πρώτο μέρος του πειράματος *in vitro* φαγοκύτταρα από το νεφρό κυπρίνων χρησιμοποιήθηκαν για να προσδιοριστεί η παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) ως ένα μέτρο για τη διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (200 Hz - 5 KHz) στα 5 μ T ή 1,5 mT οδήγησε σε αύξηση της ανοσοποιητικής δραστηριότητας κατά 42 ή 33%, αντίστοιχα. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία θα μπορούσε επιπλέον να διεγείρει χημικώς προ-διεγερμένα κύτταρα, μέχρι 18% (5 μ T) ή 22% (1,5 mT). Η σημαντικότητα της αύξησης της παραγωγής του ROS σε όλα τα δείγματα ήταν: $p < 0,0001$. Στο δεύτερο μέρος του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν *in vitro* χρυσόψαρα. Τα χρυσόψαρα εκτράφηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία να είναι μεταξύ 0,15 και 50 μ T. Διαπιστώθηκε ότι η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν 50% ύστερα από 18 ημέρες, ενώ η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έντασης 5 μ T τη μείωσε στο 20% κατά μέσο όρο. Η μείωση της έντασης στο 0,05, 0,06, 0,01, και 0,003 μ T έδειξε μια βαθμιαία μείωση της επιρροής, και μόνο στα 0,003 μ T δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

Ομοίως οι Frahm et al. (2010) μελέτησαν την *in vitro* επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 50 Hz, 1 mT στο ανοσοποιητικό σύστημα των επίμυων. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία προκάλεσε μικρή και παροδική μείωση, ύστερα από 2ωρή ή μικρότερη έκθεση, της κλαθρίνης, της PI3-κινάσης, της πρωτεΐνης κινάσης B (PKB) και PP2A, ενώ η μεγαλύτερη διάρκεια έκθεση δεν είχε κάποια επίδραση. Τα επίπεδα της NAD(P)H οξειδάσης υπομονάδας gp91phox κυμαίνεται μεταξύ μεγαλύτερων και κανονικών επιπέδων σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Οι επιδράσεις της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο επίπεδο των πρωτεϊνών είναι διαφορετικές από τις επιδράσεις που ασκούνται από το TPA (12-O-tetradecanolyphobol-13-acetate) ή LPS, παρόλο που και οι τρεις αυτοί παράγοντες προκαλούν αύξηση στην απελευθέρωση των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Με αυτό το τρόπο υποδεικνύεται ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αλληλεπιδρά με διαφορετικά κυτταρικά συστατικά από αυτά που αλληλεπιδρούν τα παραπάνω χημικά, αν και επάγουν διαδρομές που εν μέρει συγκλίνουν. Τέλος, υποδεικνύεται ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία προκαλεί τη διέγερση των ανοσοκυττάρων λόγω της αύξησης των ROS, αλλά και επιπλέον επηρεάζει το επίπεδο έκφρασης σημαντικών πρωτεϊνών ενεργώντας στην οξειδοαναγωγική διαδικασία.

Αντίθετα αρνητική επίδραση εμφανίστηκε στη μελέτη των Yerekli et al. (2006) οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 945 MHz στο ανοσοποιητικό σύστημα των επίμυων. Διαπίστωσαν ότι η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έντασης $3,67 \text{ W/m}^2$ (SAR=11,3 mW/Kg), πολύ κάτω από τα επιτρεπτά όρια, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της μελανοδιαλδεάσης (MDA) και τη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της γλουταθιόνης, η οποία δρα βλαπτικά στο μηχανισμό αντιμετώπισης των ελεύθερων ριζών. Επιπρόσθετα, υπήρξε μια λιγότερο σημαντική μείωση της δραστηριότητας του υπεροξειδίου της δισμουτάση (SOD) κάτω από την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Συμπερασματικά, η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει αρνητική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των Bonhomme-Faivre et al. (2003) οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου στο ανοσοποιητικό σύστημα ανθρώπων και ζώων. Στο πρώτο μέρος του πειράματος εξετάστηκαν 6 άνθρωποι που εργάζονταν για 8ώρες/ημέρα για 5 χρόνια σε εργαστήριο που βρισκόταν πάνω από ηλεκτρικούς μετασχηματιστές και καλώδια υψηλής τάσης. Εκεί υπήρχε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο 0,2-6,6 μT . Το ανοσοποιητικό σύστημα των 6 εργατών συγκρίθηκε με το ανοσοποιητικό σύστημα 6 ανθρώπων που δούλευαν μακριά από εκπομπές ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα λεμφοκυττάρων, CD4, και CD3, και σημαντικά υψηλότερη ποσότητα NK κυττάρων στους εκτεθειμένους ανθρώπους σε σχέση με τους μη εκτεθειμένους. Έξι μήνες αφού είχε σταματήσει η εκπομπή ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, η ποσότητα των λεμφοκυττάρων είχε αυξηθεί, όπως και τα CD4, CD3, και CD19 (+13%, +28%, +22%, και +17% αντίστοιχα), και τα NK κύτταρα είχαν μειωθεί κατά 26% στους ίδιους ανθρώπους. Στο δεύτερο μέρος του πειράματος, 12 αρσενικοί επίμυοι εκτέθηκαν στο ίδιο δωμάτιο με αυτό των ανθρώπων (5-pT, 50-Hz) για 109

ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ποσότητες των λεμφοκυττάρων, των λευκοκυττάρων, των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων, των CD4 και NK κυττάρων των εκτιθέμενων ποντικών ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σχέση με τους 12 μάρτυρες επίμυς. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η χρόνια έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο 0,2-6,6-pT μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των ανοσοποιητικών παραμέτρων (λεμφοκύτταρα και CD4) σε ανθρώπους και επίμυς.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι οι έρευνες για την επίδραση της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο ανοσολογικό σύστημα των ορνίθων είναι περιορισμένες. Ελάχιστες, επίσης, είναι συνολικά οι μελέτες για την επίδραση της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας στις χημικές και ανοσολογικές αντιδράσεις σε άλλα ζώα.

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών όπως φαίνονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 2.3.4.1 οδηγούν σε εξαγωγή αντικρουόμενων αποτελεσμάτων. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μη γνωστούς παράγοντες ατομικής ευαισθησίας των ζώων και των ανθρώπων στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, στις διαφορετικές συνθήκες των πειραμάτων (συχνότητα και ισχύς της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας), στο στάδιο της ανάπτυξης κατά το οποίο οι οργανισμοί εκτέθηκαν σε αυτήν, αλλά και στο είδος των κυττάρων στα οποία επιδρά η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία όπως και το στάδιο διαφοροποίησης αυτών.

Στις περισσότερες μελέτες χρησιμοποιείται για την περιγραφή του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου η μονάδα Tesla καθώς ο SAR είναι ανάλογός του, όμως αυτός είναι επίσης ανάλογος και της επιφάνειας του σώματος ενώ είναι αντιστρόφως ανάλογος της μάζας αυτού, δεδομένα τα οποία είναι διαφορετικά για κάθε μέλος-άτομο της στατιστικής ομάδας και δεν σχολιάζονται στις έρευνες. Σε δύο μελέτες μετρήθηκε μόνο η ηλεκτρική ενέργεια του μαγνητικού πεδίου (V/m), ενώ επίσης μόνο σε δύο μετρήθηκε ο SAR. Με αυτόν τον τρόπο τα αποτελέσματα δεν είναι εύκολα συγκρίσιμα και καταδεικνύεται η ανάγκη της καθιέρωσης μιας τυποποιημένης διαδικασίας για την εξαγωγή ασφαλών στατιστικών συμπερασμάτων.

Η χρήση ως υποκειμένου των αυγών της όρνιθας προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα ως μοντέλο βιολογικής έρευνας, όπως αναλύεται στο πειραματικό μέρος.

Πίνακας 2.3.4.1 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ερευνών.

	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ	ΜΑΓΝΗΤΙΚΟ ΠΕΔΙΟ	ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΟ
Αρνητική επίδραση	$6 \times 10^9 - 12 \times 10^9$ Hz		άνθρωπος
	$0,5 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ Hz	$4,3 \pm 1,4$ V/m (εκφράζει μόνο την ηλεκτρική ενέργεια της ΗΜΑ)	άνθρωπος
		$0,2 \times 10^{-6} - 6,6 \times 10^{-6}$ T	άνθρωπος, επίμυς
		10 T	άνθρωπος
	$1,8 \times 10^9$ Hz		ανθρώπινα κύτταρα
	945×10^6 Hz	$3,67$ W/m ²	επίμυς
	50 Hz	$0,02 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-3}$ T	άνθρωπος
		$0,5$ & $0,5 \times 10^{-3}$ T	ανθρώπινα κύτταρα
	450, 900, $1,784 \times 10^6$ Hz		κύτταρα
		$\leq 0,2 \times 10^{-3}$, $0,21 - 0,99 \times 10^{-3}$, $\geq 1 \times 10^{-3}$ T	άνθρωπος
Καμία επίδραση	60 Hz	0,001 T	επίμυς
	60 Hz	30.000 V/m	όρνιθα
	50 Hz	0,001 T	επίμυς
	$1,950 \times 10^6$ Hz		ανθρώπινα κύτταρα
	50 Hz	0,0005 T	ανθρώπινα κύτταρα
		$0,10 - 0,25 \times 10^{-3}$ T	άνθρωπος
	50 Hz	$1 - 5 \times 10^{-6}$ T	επίμυς
Θετική επίδραση	200 – 5.000 Hz	5×10^{-3} ή $1,5 \times 10^{-3}$ T	κύτταρα ψαριού
	50 Hz	0,001 T	κύτταρα επίμυων

3. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το περιβάλλον περιέχει μια μεγάλη ποικιλία μολυσματικών μικροοργανισμών όπως μικρόβια, ιούς, βακτήρια, μύκητες, πρωτόζωα και πολυκύτταρα παράσιτα. Όλα αυτά μπορούν να προκαλέσουν νόσους, και εάν πολλαπλασιαστούν ανεξέλεγκτα μπορεί τελικά να θανατώσουν τον ξενιστή τους. Οι περισσότερες μολύνσεις στα φυσιολογικά άτομα είναι βραχείας διάρκειας και δεν αφήνουν σημαντικές βλάβες. Αυτό οφείλεται στο ανοσοποιητικό σύστημα το οποίο καταπολεμά τους μολυσματικούς παράγοντες (Roitt *et al.*, 2004).

Το ανοσοποιητικό σύστημα λειτουργεί με την αποστολή, τη μεταφορά, τη λήψη και την εκτέλεση συγκεκριμένων εντολών από κύτταρα (μονοκύτταρα/ μακροφάγα, Τ- και Β-λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα κ.α.), που είναι ταυτόχρονα αποστολείς, αποδέκτες, φορείς και εκτελεστές των εντολών (Χαραλαμπίδης, 1998). Η φυσιολογική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος είναι να αναχαιτίζει τις λοιμώξεις και να εξαλείφει τις ήδη εγκατεστημένες λοιμώξεις (Abbas *et al.*, 2004).

Στη συνέχεια του κεφαλαίου γίνεται αναφορά στα όργανα που εμπλέκονται στην παραγωγή των ανοσοϊκανών κυττάρων, στο ρόλο των τελευταίων και στους αμυντικούς μηχανισμούς που διαθέτει ένας ζωικός οργανισμός έναντι βλαπτικών παραγόντων για την υγεία του. Στον πίνακα 3.1 περιγράφονται οι κύριοι ρόλοι των κυριότερων κυτταρικών ομάδων του ανοσοποιητικού συστήματος.

Πίνακας 3.1. Οι κυριότερες κυτταρικές ομάδες του ανοσοποιητικού συστήματος.

Κύτταρα	Ρόλος
Μονοκύτταρα, μακροφάγα	Φαγοκυττάρωση, σύνθεση των ιντερλευκινών 1, 6 και 8
Ουδετερόφιλα (Ετερόφιλα)	Φαγοκυττάρωση βακτηριδίων, ιών και τοξινών
Ηωσινόφιλα	Καταστροφή παρασίτων
Βασεόφιλα	Αντιμετώπιση φλεγμονών σε αρχικό στάδιο
Β-λεμφοκύτταρα	Παραγωγή ανοσοσφαιρινών
Τ-βοηθητικά λεμφοκύτταρα	Σύνθεση των ιντερλευκινών 2, 3, 4, 5, 6, 9 και 10
Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα	Καταστροφή των κυττάρων που προκαλούν όγκους και προσβεβλημένων κυττάρων από ιούς
Τ-κατασταλτικά λεμφοκύτταρα	Αναστολή των ανοσοποιητικών αντιδράσεων

3.1 Πρωτογενή και Δευτερογενή λεμφικά όργανα

Τα μείζονα λεμφικά όργανα και οι ιστοί του ανοσοποιητικού συστήματος ταξινομούνται σε *πρωτογενή (κεντρικά)* και σε *δευτερογενή (περιφερικά)*. Τα λεμφοκύτταρα παράγονται στα πρωτογενή λεμφικά όργανα και λειτουργούν στα δευτερογενή λεμφικά όργανα και στους ιστούς (Roitt *et al.*, 2001).

Τα πρωτογενή λεμφικά όργανα αποτελούν τις κύριες θέσεις ανάπτυξης των λεμφοκυττάρων. Τα λεμφοκύτταρα, στα πρωτογενή λεμφικά όργανα, διαφοροποιούνται από αρχέγονα κύτταρα της λεμφικής σειράς, πολλαπλασιάζονται, και ωριμάζουν σε λειτουργικά κύτταρα. Στα θηλαστικά, τα Τ λεμφοκύτταρα ωριμάζουν στο θύμο, ενώ τα Β λεμφοκύτταρα στο ήπαρ του εμβρύου και στο μυελό των οστών. Τα πτηνά διαθέτουν ειδική θέση δημιουργίας των Β λεμφοκυττάρων, το θύλακα του Fabricius. Στα πρωτογενή λεμφικά όργανα τα λεμφοκύτταρα αποκτούν ειδικούς υποδοχείς για τα αντιγόνα, προκειμένου να αντιμετωπίσουν τις αντιγονικές προκλήσεις που δέχεται το άτομο στη διάρκεια της ζωής του (Roitt *et al.*, 2001).

Η παραγωγή των λεμφοκυττάρων στα πρωτογενή όργανα ακολουθείται από τη μετανάστευσή τους σε δευτερογενείς περιφερικούς ιστούς. Παραδείγματα δευτερογενών λεμφικών οργάνων αποτελούν ο σπλήνας, τα λεμφογάγγλια, οι αμυγδαλές και ο λεμφικός ιστός των οργάνων του πεπτικού, αναπνευστικού και ουρογεννητικού συστήματος. Αυτά τα όργανα περιέχουν δενδριτικά κύτταρα που δεσμεύουν και επεξεργάζονται αντιγόνα, και λεμφοκύτταρα που μεσολαβούν στην αντιγονική αντίδραση. Η ανατομική δομή αυτών των οργάνων είναι σχεδιασμένη να δεσμεύει αντιγόνα και να προσφέρει τη δυνατότητα στα επεξεργασμένα αντιγόνα να έρθουν σε επαφή με τα λεμφοκύτταρα (Tizard, 2004).

3.2 Μηχανισμοί άμυνας του οργανισμού

Ανοσία είναι η αντίσταση σε μία νόσο και ειδικότερα σε ένα λοιμώδες νόσημα και επιτυγχάνεται με το ανοσοποιητικό σύστημα και με τη συντονισμένη αντίδραση-μηχανισμός άμυνας των κυττάρων και των μορίων, που ονομάζεται **ανοσοαπάντηση** ή **ανοσοαπόκριση**.

Υπάρχουν δύο ειδών μηχανισμοί άμυνας: οι **μη ειδικοί** ή **έμφυτοι** και οι **ειδικοί** ή **επίκτητοι**. Τα πιο σημαντικά μέσα που έχει ένα ζώο ώστε να αμυνθεί από τους ξένους μικροοργανισμούς είναι οι μη ειδικοί μηχανισμοί καθώς είναι το ίδιο αποτελεσματικοί σε όλα τα είδη των ξένων μικροοργανισμών (Herbert, 1974). Σε αυτούς ανήκουν το φαινόμενο της **φαγοκυττάρωσης** και η δράση του **συμπληρώματος**. Οι ειδικοί μηχανισμοί, παρόλα αυτά, έχουν το σημαντικό πλεονέκτημα του να είναι "εκπαιδευμένοι". Μαθαίνουν να αναγνωρίζουν το παθογόνο μικροοργανισμό, να αντιδρούν αστραπιαία και στοχευμένα σε αυτό σε μια δεύτερη εμφάνισή του και, για μεγάλο χρονικό διάστημα, να παράγουν ουσίες που προστατεύουν τον οργανισμό από επιμόλυνση (Herbert, 1974). Στους τελευταίους ανήκουν η **χυμική** και η **κυτταρική ανοσία**.

Τόσο οι μη ειδικοί όσο και οι ειδικοί μηχανισμοί άμυνας διεγείρονται σχεδόν ταυτόχρονα από την είσοδο στον οργανισμό ενός παθογόνου, και τα αποτελεσματικά μέσα του κάθε μηχανισμού παίρνουν μέρος στην προσπάθεια καταστροφής και εξάλειψής του (Herbert, 1974). Ιδιαίτερα η ειδική ανοσία δεν εμφανίζεται ποτέ ανεξάρτητα από την μη ειδική (Plachy, 2003).

3.2.1 Μη ειδικοί μηχανισμοί

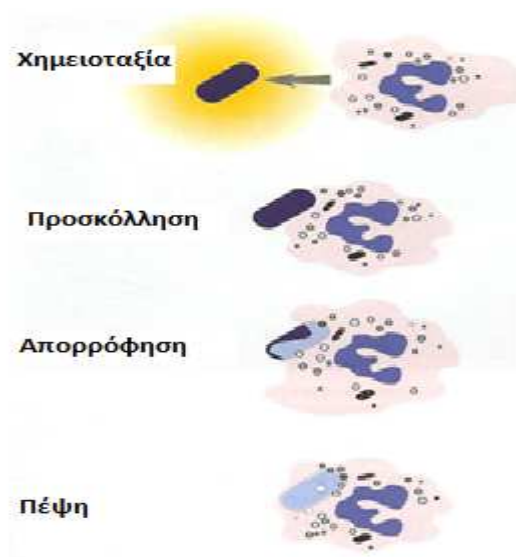
Η μη ειδική ανοσία περιλαμβάνει δυο βασικούς μηχανισμούς, τη φαγοκυττάρωση και το συμπλήρωμα.

3.2.1.1 Φαγοκυττάρωση

Φαγοκυττάρωση ονομάζεται η ικανότητα των κυττάρων να συλλαμβάνουν και να καταστρέφουν στο κυτταρόπλασμα τους μικροοργανισμούς ή σωματίδια (panacea.med.uoa.gr, Δ9). Επιτελείται από τα φαγοκύτταρα τα οποία προέρχονται από την ωρίμανση των **μονοκυττάρων/μακροφάγων** και των **ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων** τα οποία βρίσκονται ελεύθερα στην κυκλοφορία του αίματος (Κοπτόπουλος, 1993). Τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα, αφ' ενός μεν να δρουν αμέσως μετά την είσοδο του παθογόνου παράγοντα, πριν κινητοποιηθούν οι μηχανισμοί της ειδικής άμυνας, αφ' ετέρου δε να φαγοκυτταρώνουν μέσω ειδικών υποδοχέων και να λύουν μικροοργανισμούς ή κύτταρα στόχους χωρίς να έχουν προηγουμένως ευαισθητοποιηθεί. Ειδικότερα, τα πολυμορφοπύρηννα συμβάλλουν στη φαγοκυττάρωση και την καταστροφή κυρίως των εξωκυττάρων μικροοργανισμών, ενώ τα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν και ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς και επιπλέον συμμετέχουν στην ειδική ανοσοαπάντηση ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (παρουσίαση αντιγόνου στα T-λεμφοκύτταρα) αλλά και ως δραστικά κύτταρα της κυτταρικής ανοσίας (έκκριση κυτταροκινών) (Κώνστα, 2006). Τέλος, υπάρχουν και τα **καθηλωμένα φαγοκύτταρα** όπως είναι τα ιστιοκύτταρα στο συνδετικό ιστό, τα κύτταρα του Kupffer στο ήπαρ, τα κύτταρα της μικρογλοίας στον εγκέφαλο, και τα κυψελιδικά μακροφάγα στον πνεύμονα, τα οποία επειδή δεν μετακινούνται περιμένουν τα μικρόβια να φτάσουν σε αυτά για να δράσουν.

Ο μηχανισμός της φαγοκυττάρωσης περιλαμβάνει 4 στάδια (Εικόνα 3.2.1.1.1):

1. Τη χημειοταξία
2. Την οψωνοποίηση ή προσκόλληση
3. Την ενδοκυτταρική πρόσληψη ή εγκόλπωση
4. Την ενδοκυτταρική καταστροφή ή πέψη



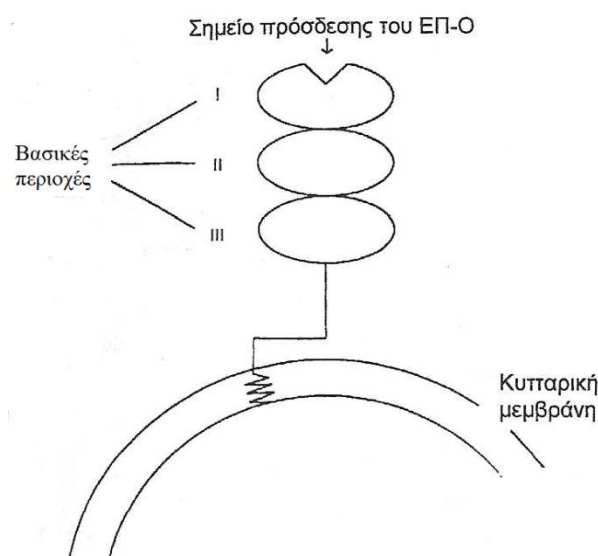
Εικόνα 3.2.1.1.1. Στάδια φαγοκυττάρωσης (Tizard, 2004).

Η κατευθυνόμενη μετανάστευση των μακροφάγων και ουδετερόφιλων ονομάζεται **χημειοταξία**. Η βακτηριακή είσοδος και η προκαλούμενη καταστροφή των ιστών προκαλεί την παραγωγή πολλών και διαφορετικών προσελκυστικών μορίων. Σε αυτά περιλαμβάνονται το πεπτιδίο C5α, που παράγεται με ενεργοποίηση του συμπληρώματος, ένα ινωδοπεπτιδίο B, παραγόμενο από το ινοδογόνο και η αζουροσιδίνη, η οποία είναι ένα πεπτιδίο δομικό στοιχείο των αμυντικών πρωτεϊνών που καλούμαι ντιφενσίνες*. Παράγονται, επίσης, πολλές και διαφορετικές χημειοκίνες* και λιπίδια όπως το λευκοτριένιο B4. Επιπρόσθετα, τα εισβάλλοντα βακτήρια απελευθερώνουν πεπτιδία σε ομάδες φορμυλιωμένης μεθειονίνης, τα οποία προσελκύνονται ιδιαίτερα εύκολα από τα ουδετερόφιλα μερικών θηλαστικών (Tizard, 2004).

Καθώς τα χημειοτακτικά μόρια διαχέονται από περιοχές όπου υπάρχει μικροβιακή εισβολή, η συγκέντρωση αυτών είναι αντιστρόφως ανάλογη της απόστασης από την περιοχή της μικροβιακής εισβολής. Όταν τα φαγοκύτταρα ανιχνεύουν αυτά τα μόρια, μετακινούνται με αμοιβαδοειδείς κινήσεις προς την περιοχή της υψηλότερης συγκέντρωσής τους, δηλαδή προς το μικρόβιο. Τα φαγοκύτταρα δημιουργούν προεξοχές (ελασματοπόδια) στο "πρόσθιο" μέρος αυτών. Οι χημειοπροσελκυστικοί υποδοχείς κατανέμονται ομοιόμορφα στην επιφάνεια των φαγοκυττάρων, αλλά ο σχηματισμός των ελασματοποδίων προωθείται από την επιλεκτική συγκέντρωση των προσελκυστικών μορίων στο "πρόσθιο" μέρος των κυττάρων (την επιφάνεια του φαγοκυττάρου που βρίσκεται πλησιέστερα στη μικροβιακή συγκέντρωση) (Tizard, 2004).

Τα κύτταρα αυτά του ανοσολογικού συστήματος εκφράζουν στην κυτταρική τους μεμβράνη έναν ειδικό υποδοχέα (CD87), ο οποίος ονομάζεται **υποδοχέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (YEP-O)** (Politis *et al.*, 1996). Συνήθως, μεγάλες συγκεντρώσεις του υποδοχέα αυτού παρατηρούνται στα εμπρόσθια

μέρη των μεταναστευόντων κυττάρων, δηλαδή των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων. Ο **ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (ΕΠ-Ο)** συνδέεται με αυτόν τον υποδοχέα, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί την ικανότητά του να μετατρέπει το ανενεργό προένζυμο **πλασμινογόνο** στην ενεργή μορφή του, την **πλασμίνη** (Σχήμα 3.2.1.1.1.). Η τελευταία είναι ικανή να διασπά συγκεκριμένα σύμπλοκα συστατικά της βασικής κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του αγγειακού ενδοθηλίου. Επιπλέον, η πλασμίνη ενεργοποιεί άλλα ένζυμα, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι οποίες αποδομούν περαιτέρω άλλα σύμπλοκα συστατικά (Politis, 2000). Η πρωτεολυτική δραστηριότητα του ΕΠ-Ο και της πλασμίνης θεωρείται πρωταρχικής σημασίας για τη διαδικασία της διαπίδυσης των κυττάρων, δηλαδή της διαδικασίας κατά την οποία τα φαγοκύτταρα διαπερνούν τα τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία.



Σχήμα 3.2.1.1.1. Απεικόνιση των κυρίων δομικών χαρακτηριστικών του μορίου του υποδοχέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (ΕΠ-Ο) (Politis, 1996).

Όταν ένα ουδετερόφιλο αντιμετωπίζει ένα βακτήριο πρέπει να το συλλάβει. Αυτό δεν γίνεται αυτόματα, διότι τόσο τα κύτταρα, όσο και τα βακτήρια που αιωρούνται στα υγρά του σώματος, έχουν αρνητικό φορτίο (ζήτα δυναμικό) και έτσι απωθούνται μεταξύ τους. Το φορτίο των βακτηρίων πρέπει να εξουδετερωθεί καλύπτοντας την επιφάνειά τους με θετικά φορτισμένα μόρια. Τα μόρια που καλύπτουν τα βακτήρια με αυτόν τον τρόπο και προωθούν τη φαγοκυττάρωση ονομάζονται **οψωνίνες** και η διαδικασία της επικάλυψης **οψωνοποίησης**. Παραδείγματα τέτοιων φορτισμένων μορίων περιλαμβάνουν έμφυτα μόρια, όπως η λεκτίνη συνδεδεμένη με μανόζη, τους παράγοντες του συμπληρώματος, καθώς και τα αντισώματα (Tizard, 2004).

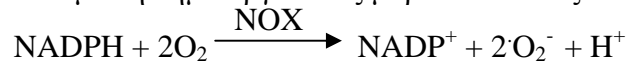
Μικρόβιο που βρίσκεται σε επαφή με το φαγοκύτταρο προκαλεί εγκόλλωση του κυτταρικού τοιχώματος και η οποία προοδευτικά οδηγεί σε πλήρη εγκόλλωση-

ενδοκυτταρική πρόσληψη του μικροβίου Η ευκολία και η ταχύτητα της εγκόλπωσης εξαρτάται από τη φύση της μικροβιακής επιφάνειας. Όσο περισσότερο υδρόφοβο είναι το μικρόβιο, τόσο γρηγορότερα γίνεται η εγκόλπωση, ενώ αντίθετα, τα υδρόφιλα μικρόβια φαγοκυτταρώνονται δυσκολότερα (Κοπτόπουλος, 1993).

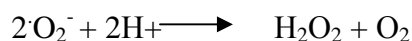
Στο τελευταίο στάδιο (**ενδοκυτταρική καταστροφή**) το παθογόνο που έχει εισέλθει στο φαγοκύτταρο ανευρίσκεται στο φαγόσωμα. Εκεί πραγματοποιείται η καταστροφή του μέσω δύο διακριτών διαδικασιών. Η μία, η αναπνευστική έκρηξη, προκαλεί αύξηση της κατανάλωσης O_2 και της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η άλλη, περιλαμβάνει την απελευθέρωση λυτικών ενζύμων και αντιμικροβιακών πεπτιδίων από ενδοκυτταρικά κοκκία.

3.2.1.1.1 Αναπνευστική έκρηξη (Respiratory burst)

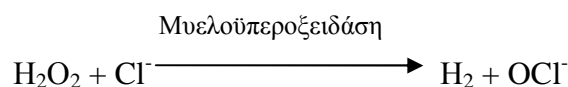
Μέσα σε λίγα λεπτά από την ένωση με τα βακτήρια, τα φαγοκύτταρα αυξάνουν τη δική τους πρόσληψη οξυγόνου. Αυτή η αύξηση είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του συμπλέγματος των ενζύμων της επιφάνειας του κυττάρου, που ονομάζεται **NADPH οξειδάση (NOX)**. Οι παράγοντες αυτού του συμπλέγματος διατηρούνται χωριστά σε ανενεργά κύτταρα. Όταν τα φαγοκύτταρα ενεργοποιούνται με τη συνένωση των Fc υποδοχέων τους σε οψωνοποιημένα βακτήρια, αυτοί οι παράγοντες συνενώνονται (Εικόνα 5.2.1.1.1). Από τη στιγμή αυτή, το ενεργοποιημένο NOX μετατρέπει το NADPH σε $NADP^+$, με απελευθέρωση ηλεκτρονίων. Ένα μόριο οξυγόνου δέχεται ένα ηλεκτρόνιο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μορίου ανιόντος υπεροξειδίου (O_2^-).



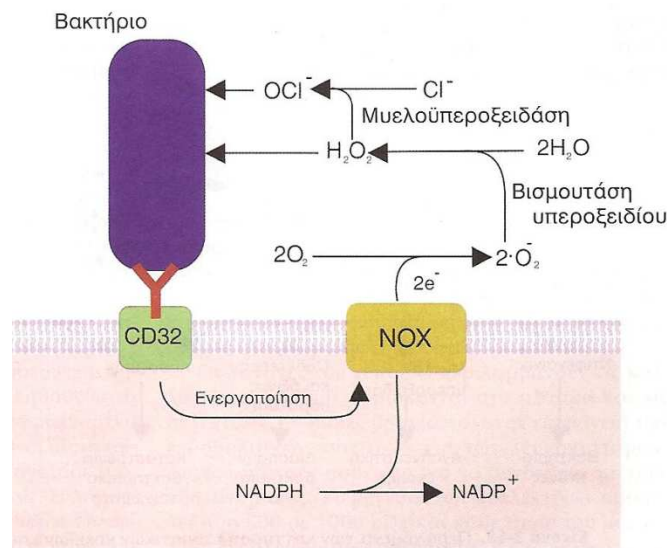
Το $NADP^+$ επιταχύνει τη μετατόπιση της μονοφωσφορικής εξόζης, μιας μεταβολικής οδού που μετατρέπει τη σουκρόζη σε πεντόζη και CO_2 , και απελευθερώνει ενέργεια για να χρησιμοποιηθεί από τα κύτταρα. Τα δύο μόρια του $\cdot O_2^-$ αλληλεπιδρούν αυτόματα (δις-μετάλλαξη) για να παραχθεί ένα μόριο υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) υπό την επήρεια του ενζύμου του υπεροξειδίου της δισμοτουδάσης.



Επειδή αυτή η αντίδραση συμβαίνει τόσο γρήγορα, τα ανιόντα της υπεροξειδάσης δεν συναθροίζονται, ενώ το H_2O_2 συναθροίζεται. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου μετατρέπεται σε βακτηριοκτόνες ενώσεις μέσω της επίδρασης της μυελοϋπεροξειδάσης, του πιο σημαντικού ενζύμου της αναπνευστικής έκρηξης στα φαγοκύτταρα. Η μυελοϋπεροξειδάση βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στα βασικότερα κοκκία των φαγοκυττάρων. Καταλύει την αντίδραση μεταξύ του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των κυτταρικών ανιόντων αλογονιδίου (Cl^- , Br^- , I^- , ή του SCN^-) για να παραχθούν υποαλογονίδια:



Το Cl^- χρησιμοποιείται στις περισσότερες φλεγμαίνουσες περιοχές. Το OCI^- είναι το κυριότερο προϊόν του οξειδωτικού μεταβολισμού των φαγοκυττάρων. Λόγω του ότι αντιδρά έντονα, το OCI^- δεν συναθροίζεται σε βιολογικά συστήματα, αλλά εξαφανίζεται σταθερά σε περιπτώσεις πολλαπλών αντιδράσεων. Όσο τροφοδοτείται το H_2O_2 , και τα φαγοκύτταρα μπορούν να παράγουν H_2O_2 μέχρι 3 ώρες μετά την ενεργοποίηση, η μυελοϋπεροξειδάση θα χρησιμοποιεί Cl^- του πλάσματος για την παραγωγή OCI^- . Το OCI^- σκοτώνει τα βακτήρια οξειδώνοντας τις πρωτεΐνες τους και υποβοηθώντας τις βακτηριοκτόνες δραστηριότητες των ενζύμων του λυσοσώματος (Εικόνα 3.2.1.1.1) (Tizard, 2004).



Εικόνα 3.2.1.1.1. Τα σπουδαιότερα χαρακτηριστικά της οδού της αναπνευστικής έκρηξης στα φαγοκύτταρα. Η διαδικασία αρχίζει με τη συνένωση του αντισώματος στους υποδοχείς τους, δηλαδή στα CD32. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή βακτηριακών προϊόντων, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και τα ιόντα υποχλωριδίου (OCI^-) (Tizard, 2004).

3.2.1.2 Το Συμπλήρωμα (Complement)

Το σύστημα του *συμπληρώματος* αποτελείται από περίπου 30 γλυκοπρωτεΐνες (19 στο πλάσμα και 11 στη μεμβράνη των κυττάρων), από τις οποίες οι 9 είναι οι βασικές και οι υπόλοιπες οι ρυθμιστικές. Στο σύνολό τους συνιστούν το 10% περίπου των πρωτεϊνών του ορού. Ο όρος συμπλήρωμα αναφέρεται στην ικανότητα των πρωτεϊνών αυτών να βοηθούν ή να συμπληρώνουν την αντιμικροβιακή δράση των αντισωμάτων. Το σύστημα του συμπληρώματος μπορεί να ενεργοποιηθεί από μικροοργανισμούς απουσία αντισωμάτων μέσω της *εναλλακτικής οδού*, στα πλαίσια απαντήσεων σε λοιμώξεις στη μη ειδική ανοσία, ή από αντισώματα προσκολλημένα σε μικροοργανισμούς μέσω της *κλασσικής οδού*, στα πλαίσια της ειδικής ανοσίας. Υπάρχουν αρκετά χαρακτηριστικά του συστήματος του συμπληρώματος που είναι σημαντικά για τις παραπάνω λειτουργίες. Η ενεργοποίηση των πρωτεϊνών του

συμπληρώματος περιλαμβάνει διαδοχικές πρωτεολυτικές διασπάσεις των πρωτεϊνών αυτών και οδηγεί στη δημιουργία δραστικών μορίων που συμμετέχουν στην εξάλειψη των μικροοργανισμών με διάφορους τρόπους. Ένας μικρός αριθμός ενεργοποιημένων μορίων του συμπληρώματος μπορεί να παράγει ένα τεράστιο αριθμό δραστικών μορίων και έτσι να επιτύχει μια τεράστια ενίσχυση για την εξάλειψη των μικροοργανισμών. Τα ενεργοποιημένα μόρια των πρωτεϊνών του συμπληρώματος συνδέονται ομοιοπολικά στις κυτταρικές μεμβράνες όπου συμβαίνει η ενεργοποίηση, εξασφαλίζοντας ότι η ενεργοποίηση περιορίζεται στις σωστές θέσεις. Το σύστημα του συμπληρώματος ρυθμίζεται με ακρίβεια από μόρια που υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα του ξενιστή, και η ρύθμιση αυτή εμποδίζει την ανεξέλεγκτη και δυνητικά βλαπτική ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Abbas *et al.*, 2004).

3.2.2 Ειδικοί μηχανισμοί

Οι ειδικοί μηχανισμοί άμυνας αποτελούν ένα πολύπλοκο και εξεζητημένο σύστημα, το οποίο αποτελεί την τελική άμυνα του οργανισμού. Υπάρχουν δύο τύποι ειδικών μηχανισμών άμυνας, η χυμική ανοσία και η κυτταρική ανοσία, στις οποίες μεσολαβούν διαφορετικά μόρια και κύτταρα και παρέχουν την άμυνα κατά εξωκυττάρων και ενδοκυττάρων μικροοργανισμών, αντίστοιχα (Εικόνα 5.2.2.1) (Abbas *et al.*, 2004).

3.2.2.1 Χυμική ανοσία

Στη **χυμική ανοσία** μεσολαβούν πρωτεΐνες που ονομάζονται **αντισώματα**, οι οποίες παράγονται από κύτταρα που ονομάζονται **B-λεμφοκύτταρα**. Αρχικά πολυδύναμα μητρικά κύτταρα από το μυελό των οστών φτάνουν, στα πτηνά, στο θύλακα του Fabricius. Ύστερα τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται σε **ανοσοϊκανά B-λεμφοκύτταρα**, μεταφέρονται στη περιφέρεια μέσω του αίματος και μεταναστεύουν σε δευτερογενή λεμφικά όργανα. Τα ανοσοϊκανά B-λεμφοκύτταρα συνθέτουν και παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους ειδικές πρωτεΐνες που ονομάζονται **ανοσοσφαιρίνες** ή **αντισώματα**. Κάθε B-λεμφοκύτταρο διαθέτει υποδοχείς - αντισώματα που αναγνωρίζουν ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Οι ειδικές αυτές πρωτεΐνες αναγνωρίζουν το αντιγόνο που έχει εισέλθει στον οργανισμό και συνδέονται μ' αυτό. Εξαιτίας της σύνδεσης αυτής το B-λεμφοκύτταρο υφίσταται διαδοχικές διαιρέσεις, από τις οποίες παράγονται οι εξής κατηγορίες κυττάρων: τα **πλασματοκύτταρα**, που παράγουν και εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες αντισωμάτων ίδιων μ' αυτά που υπήρχαν στην επιφάνεια του B-λεμφοκυττάρου από το οποίο προήλθαν, και τα **B-λεμφοκύτταρα μνήμης**, που ενεργοποιούνται αμέσως μετά από επόμενη έκθεση του οργανισμού στο ίδιο αντιγόνο (www.greek-language.gr, Δ10).

Τα πλασματοκύτταρα παράγουν πέντε τύπους *ανοσοσφαιρινών* (ομάδα Y, M, A, E, και D) με διαφορετικές φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες:

- Ανοσοσφαιρίνη IgY των πτηνών (όμοια με την IgG των θηλαστικών): Αποτελεί το 75-80% του συνόλου των ανοσοσφαιρινών του ορού του αίματος. Δρά ως αντιτοξίνη και οψωνίνη, με την ικανότητά της να προσδένεται στους Fc υποδοχείς των μακροφάγων και ουδετερόφιλων, και έτσι αποτελεί την πιο σημαντική τάξη ανοσοσφαιρινών. Επίσης, είναι ουσιώδης για την παροχή ανοσίας στα νεογνήνητα (Roitt *et al.*, 2001). Η IgY ανιχνεύεται στον ορό 5 μέρες μετά τη μόλυνση, εμφανίζει την υψηλότερη συγκέντρωση 3-3,5 βδομάδες μετά, και ύστερα ελαττώνεται σιγά σιγά.
- Ανοσοσφαιρίνη IgM: Αποτελεί το 10% των ανοσοσφαιρινών του ορού και κατά κύριο λόγο παράγεται στην πρωτογενή ανοσολογική αντίδραση. Περιορίζεται κυρίως σε ενδοαγγειακούς χώρους και συσχετίζεται συχνά με αντιδράσεις ανοσίας σε αντιγονικά πολύπλοκους, αιμομεταφερόμενους μολυσματικούς οργανισμούς. Μόλις οι IgM προσδεθούν στον στόχο τους αποτελούν έναν ισχυρό ενεργοποιητή της κλασσικής οδού του συμπληρώματος (Roitt *et al.*, 2001). Εμφανίζεται 4-5 μέρες μετά τη μόλυνση και εξαφανίζεται 10-12 μέρες μετά.
- Ανοσοσφαιρίνη IgA: Μολονότι υπάρχουν σημαντικά ποσά IgA στον ορό, η εκκριτική μορφή της IgA αποτελεί τη σημαντικότερη ανοσοσφαιρίνη των εξωτερικών εκκρίσεων των μη θηλαστικών ζώων. Γι' αυτό, είναι μείζονος σημασίας ανοσοσφαιρίνη για την προστασία της εντερικής, της αναπνευστικής, της γεννητικής και της ουροποιητικής οδού. Προσφέρει μεγάλες υπηρεσίες στην άμυνα αυτών έναντι μικροβιολογικής εισβολής (Tizard, 2004). Η IgA εμφανίζεται 5 μέρες μετά τη μόλυνση.
- Ανοσοσφαιρίνη IgD: Ο ακριβής βιολογικός ρόλος αυτής της τάξης ανοσοσφαιρινών παραμένει ασαφής, αν και μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην αντιγονο-προκαλούμενη διαφοροποίηση των B-λεμφοκυττάρων (Roitt *et al.*, 2001).
- Ανοσοσφαιρίνη IgE: Οι ανοσοσφαιρίνες αυτές βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια των βασεόφιλων. Η ανοσοσφαιρίνη IgE ευαισθητοποιεί αυτά τα κύτταρα ώστε να ενεργοποιηθούν από αντιγόνα. Διαδραματίζει ρόλο στη διαμεσολάβηση των αντιδράσεων άμεσης υπερευαισθησίας, αλλά επίσης είναι σημαντική στην άμυνα εναντίον παρασιτώσεων (π.χ. ελμινθικές* προσβολές) (Roitt *et al.*, 2001).

Σημειωτέον, θα πρέπει να ειπωθεί ότι παρόλο που υπάρχουν κάποιες αναφορές ύπαρξης ενός ομόλογου των IgD στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων των ορνίθων (Chen *et al.*, 1982), είναι γενικά αποδεκτό ότι δεν υπάρχει ομόλογο των IgD στα ορνίθια, με την πλειονότητα των B-λεμφοκυττάρων να εκφράζουν την ανοσοσφαιρίνη IgM. Παρομοίως, δεν έχουν παρατηρηθεί οι ανοσοσφαιρίνες IgE στα πτηνά. Είναι πιθανόν οι ιδιότητες που αποδίδονται στις IgE να επιτελούνται από τις IgY (Davison *et al.*, 2008).

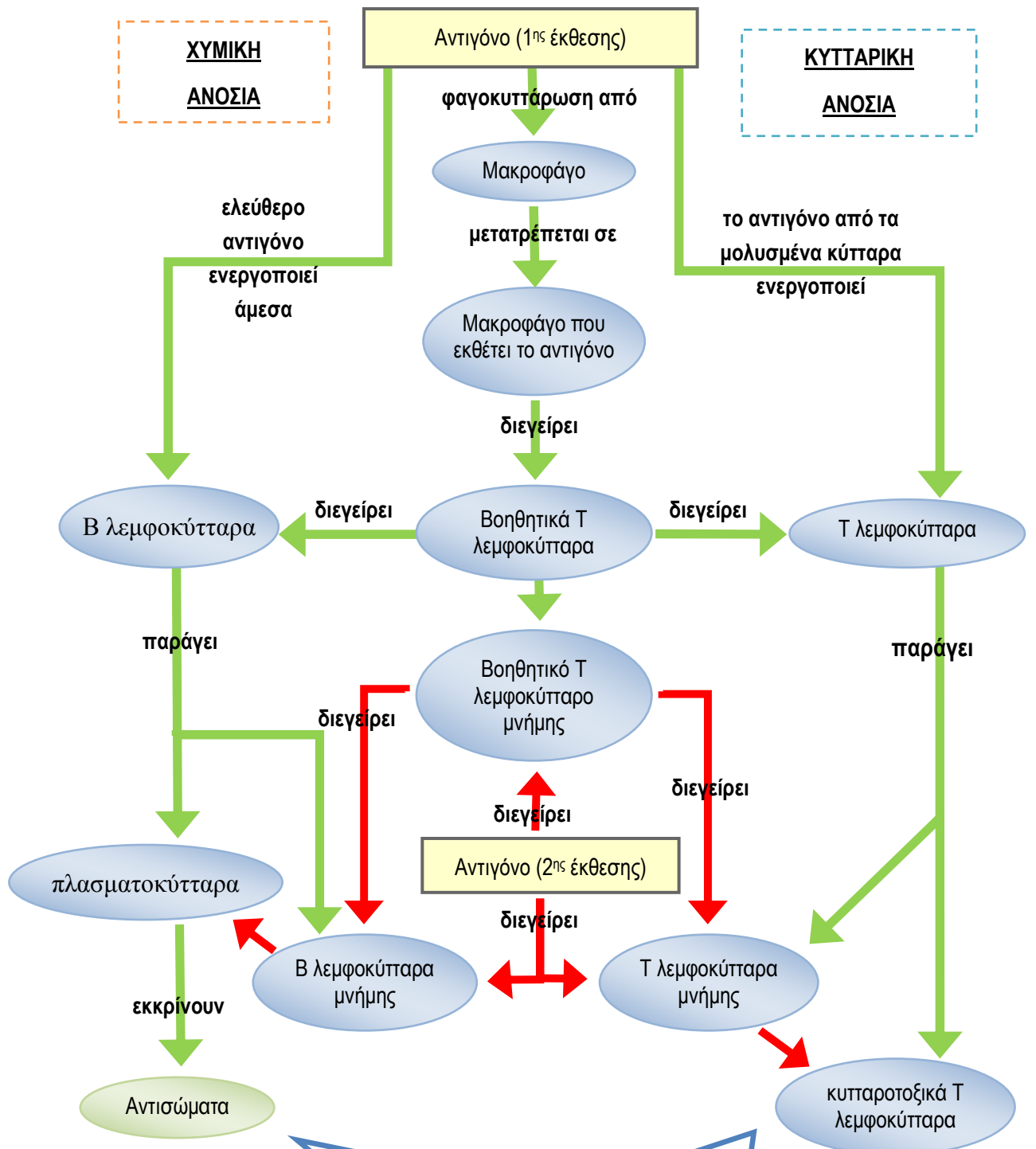
3.2.2.2 Κυτταρική ανοσία

Η προστασία ενός ατόμου από μικροοργανισμούς που έχουν εισέλθει σε κύτταρα πετυχαίνεται με τους μηχανισμούς της **κυτταρικής ανοσίας**. Υπάρχουν δύο μορφές κυτταρικής ανοσίας.

Η πρώτη γίνεται με τα **κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα**, που δρουν μόνα τους και καταστρέφουν κύτταρα στόχους, δηλαδή κύτταρα μολυσμένα π.χ. από ιούς που φέρουν περίβλημα. Στην περίπτωση αυτή οι μικροοργανισμοί που φέρουν περίβλημα, αφήνουν κατά την είσοδό τους ένα μέρος αυτού πάνω στην κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου που θα παρασιτήσουν. Η τοποθέτηση μέρους του περιβλήματος του μικροοργανισμού πάνω στην κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου, έχει ως συνέπεια την αλλαγή της αντιγονικότητας της κυτταρικής μεμβράνης και την αναγνώρισή της από τα T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα ως ξένης. Τα **βοηθητικά T-κύτταρα** στη συνέχεια, διεγείρουν το ανοσοποιητικό σύστημα για την παραγωγή των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων από τις θυμοεξαρτημένες περιοχές των δευτερογενών λεμφικών οργάνων. Αυτά, κατόπιν, μεταναστεύουν προς τα παρασιτούμενα κύτταρα του οργανισμού και τα καταστρέφουν.

Η δεύτερη μορφή κυτταρικής ανοσίας γίνεται με τα T-λεμφοκύτταρα που συμμετέχουν στην αντίδραση υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου. Αυτά δρουν ενισχύοντας τη μικροβιοκτόνο ικανότητα των μονοκυττάρων, που έτσι είναι σε θέση να φονεύουν πολύ ευκολότερα ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς.

Ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι αντιγόνων στην επιφάνεια των κυττάρων, ενεργοποιείται η πρώτη ή η δεύτερη μορφή κυτταρικής ανοσίας αντίστοιχα (Κοπτόπουλος, 1993).



Προστατεύουν από τους εξωκυτταρικούς παθογόνους παράγοντες, καθώς δεσμεύονται στα αντιγόνα και τα κάνουν πιο εύκολους στόχους για τα φαγοκύτταρα και το συμπλήρωμα.

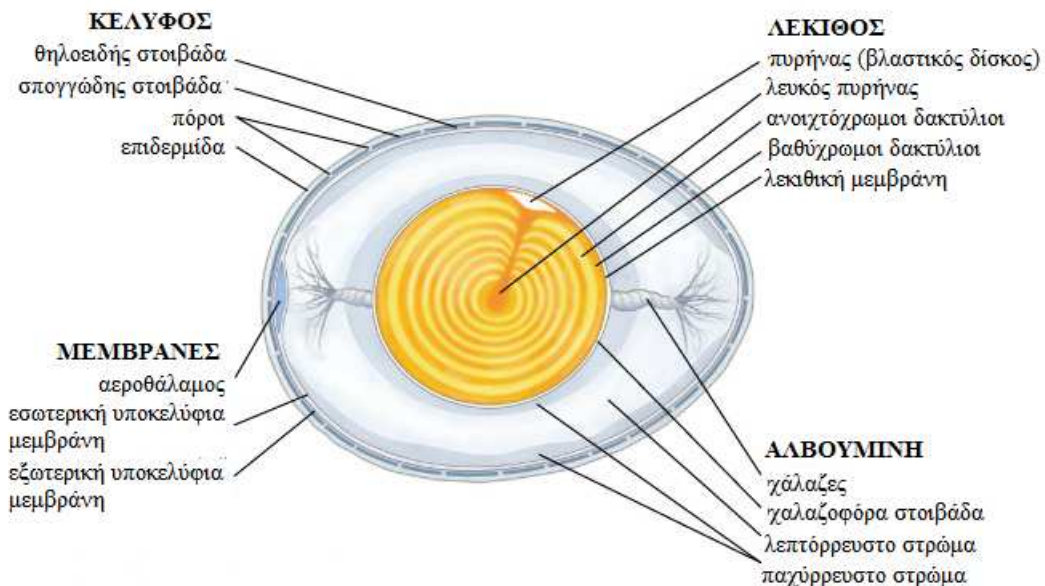
Προστατεύουν από τους ενδοκυτταρικούς παθογόνους παράγοντες δεσμευόμενα επάνω στα μολυσμένα από αυτούς κύτταρα και σε καρκινικά κύτταρα τα οποία καταστρέφουν.

Εικόνα 3.2.2.1. Σχηματική παράσταση των ειδικών μηχανισμών άμυνας. Τα πράσινα βέλη υποδεικνύουν την πρωτογενή ανοσολογική αντίδραση, ενώ τα κόκκινα τη δευτερογενή.

4. ΣΤΑΔΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΕΜΒΡΥΟΥ ΟΡΝΙΘΑΣ

4.1 Περιγραφή του αυγού

Το αυγό αποτελεί το μέσο αναπαραγωγής των πτηνών καθώς εξασφαλίζει ένα ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη και την εξέλιξη του **ζυγωτού*** σε νεοσσό. Το αυγό της όρνιθας είναι σχήματος οβάλ και αποτελείται, από μέσα προς τα έξω, από τη **λέκιθο** (ή κρόκο), την **αλβουμίνη** και το **κέλυφος** (Εικόνα 4.1.1). Η αρχική ανάπτυξη του εμβρύου λαμβάνει χώρα στη λέκιθο. Η αλβουμίνη περιβάλλει τη λέκιθο και προστατεύει την ανάπτυξη του εμβρύου. Πρόκειται για μία ελαστική, ημι-στέρεα ουσία που σκοπό έχει την απορρόφηση των κραδασμών. Η αλβουμίνη, τέλος, περιβάλλεται από δύο υποκελύφειες μεμβράνες και το κέλυφος. Το κέλυφος εξυπηρετεί την ανταλλαγή των αερίων μεταξύ του εξωτερικού περιβάλλοντος και του εσωτερικού του αυγού, και τη διατήρηση των θρεπτικών ουσιών και του νερού στο εσωτερικό του αυγού (msucare.com, Δ11).



Εικόνα 4.1.1 Σχηματική παράσταση καθέτου τομής ενός νωπού αυγού στην οποία φαίνονται τα διάφορα συστατικά μέρη αυτού (www.britannica.com, Δ12).

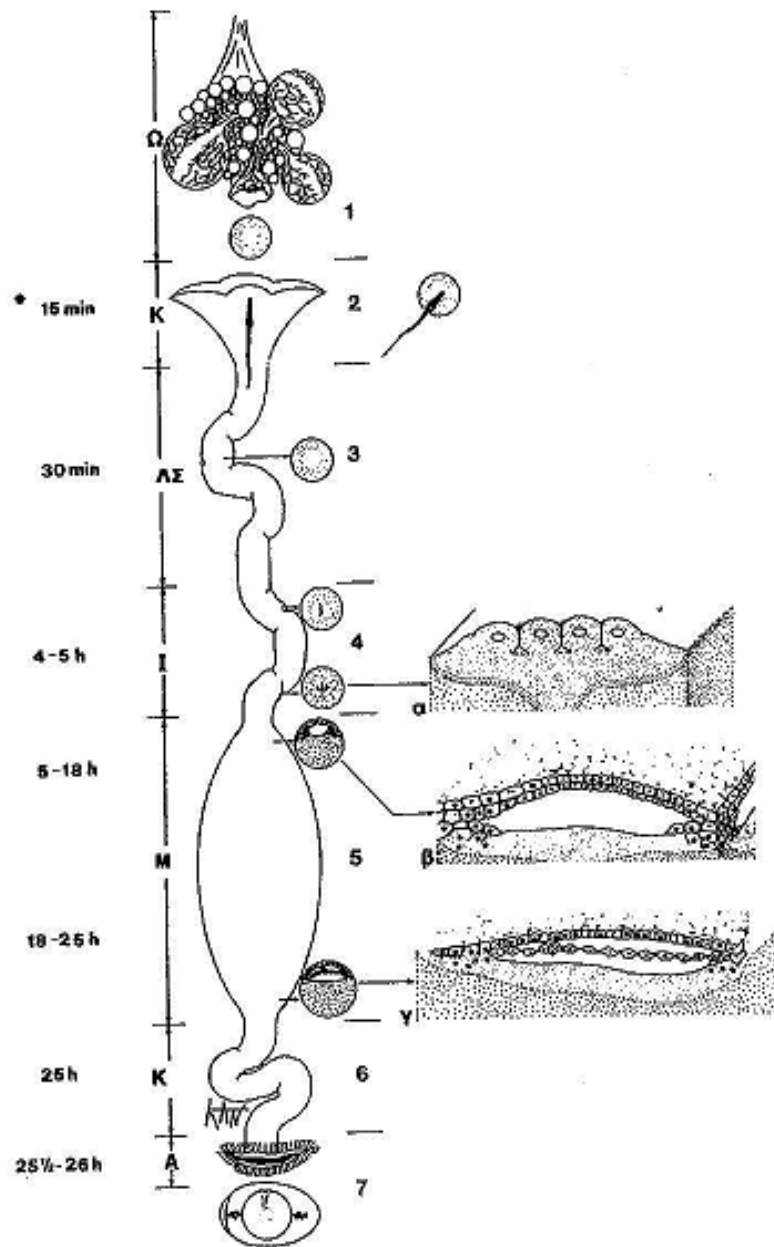
Το αυγό επίσης είναι μια βιολογική πηγή όλων των οργανικών και ανόργανων συστατικών που απαιτούνται για την αναπαραγωγή των ειδών. Τα διάφορα αμινοξέα, λιπίδια, ανόργανες ουσίες και βιταμίνες, που χρειάζονται ώστε το έμβryo να αναπτυχθεί, βρίσκονται στη λέκιθο και την αλβουμίνη. Πιο συγκεκριμένα, το λεύκωμα του αυγού είναι πλούσιο σε φωσφολιπίδια, λεκιθίνη και κεφαλίνη που είναι τονωτικά για το νευρικό σύστημα και την ανάπτυξη του εγκεφάλου. Το αυγό επιπλέον, περιέχει βιταμίνες A, B₁, B₂, B₁₂ και τα ιχνοστοιχεία Fe και P. Η χημική σύνθεση του αυγού και των διαφόρων μερών του παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.1.1.

Πίνακας 4.1.1. Χημική σύνθεση του αυγού και των διαφόρων μερών του.

	Ολόκληρο αυγό (%)	Περιεχόμενο αυγού (%)	Κρόκος (%)	Ασπράδι (%)	Κέλυφος (%)
Βάρος (%)	100,0	89,0	31,0	58,0	11,0
Νερό	65,5	73,5	48,5	87,8	2,0
Ξηρά ουσία	34,5	26,5	51,5	12,2	98,0
Πρωτεΐνες	11,8	12,8	16,6	11,0	4,0
Λίπος	10,0	11,0	32,5	--	--
Υδατάνθρακες	0,8	0,9	1,0	1,0	--
Τέφρα	11,0	1,0	1,5	0,8	94,0

4.2 Ανάπτυξη εμβρύου στον ωαγωγό

Αμέσως μετά από την απελευθέρωση του οοκυττάρου από την αριστερή ωοθήκη και πριν προστεθούν τα εξωτερικά στρώματα του αυγού, στον πυρήνα λαμβάνει χώρα μια μείωση* για να το προετοιμάσει για τη γονιμοποίηση. Μόνο ένα από τα κύτταρα που παράγονται κατά τη διάρκεια της μείωσης προορίζεται να γίνει έμβρυο. Το ωάριο περιέχει τώρα έναν απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων και είναι έτοιμο να γονιμοποιηθεί. Στον *κώδωνα* του πτηνού υπάρχουν ειδικές κρύπτες όπου το σπέρμα από έναν κόκορα μπορεί να αποθηκευτεί και να παραμείνει βιώσιμο για 2 εβδομάδες. Η ωορρηξία προκαλεί σύσπαση των τοιχωμάτων του ωαγωγού και κίνηση στις βλεφαρίδες που βρίσκονται στα τοιχώματα του ωαγωγού, προκαλώντας ένα ανοδικό ρεύμα στον ωαγωγό. Εάν σπέρμα από έναν κόκορα βρίσκεται στις κρύπτες του κώδωνα, θα ενωθεί με το ώριμο ωάριο της όρνιθας και θα πραγματοποιηθεί η γονιμοποίηση (chickscope.beckman.uiuc.edu, Δ13). Στον *λευκωματογόνο σωλήνα* δημιουργείται το *ζυγωτό*. Η πρώτη διαίρεση του ζυγωτού πραγματοποιείται όταν το αυγό είναι στον *ισθμό* και η δεύτερη ακολουθεί σε 20 λεπτά, ενώ μέσα στις επόμενες 4 ώρες σχηματίζεται το *μορίδιο** που αποτελείται από 256 κύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ότι, ενώ το αυγό είναι ακόμα στον ωαγωγό, να σχηματίζεται ο *βλαστικός δίσκος** (Austic and Nesheim, 1990). Όταν γίνεται η απότξη του αυγού, το έμβρυο έχει φθάσει στο στάδιο του *βλαστοδέρματος** και αποτελείται από δύο απλά στρώματα κυττάρων, το εξώδερμα και το εσώδερμα (Εικόνα 4.2.1).



Εικόνα 4.2.1. Σχηματική παράσταση της ωοθυλακιορρηξίας και των σταδίων της εμβρυϊκής εξέλιξης της όρνιθας, στη διάρκεια της διόδου του ωαρίου από τον ωαγωγό, μέχρι την γέννηση του νεοσσού.

Ω= ωοθήκη, Κ= κώδωνας, ΛΣ= λευκωμ. σωλ., Ι= ισθμός, Μ= μήτρα, Κ= κόλπος, Α= αμάρα, 1= ωοθυλακιορρηξία, 2= γονιμοποίηση, 3= ζυγωτό, 4= στάδιο εμβρύου, 2-8 κυττάρων, (α) τομή του σταδίου των 8 κυττάρων σε μεγέθυνση, 5= πρωτογενές και δευτερογενές βλαστίδιο, τομή πρωτογενούς (β) και δευτερογενούς (γ) βλαστίδιου σε μεγέθυνση, 6= παραμονή στο στάδιο του δευτερογενούς βλαστίδιου = 5000 κύτταρα, 7= γέννηση αυγού (Γιαννακόπουλος, 1991).

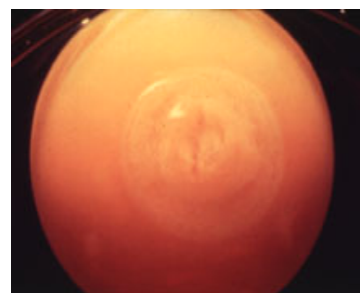
4.3 Εμβρυϊκή ανάπτυξη

Επώαση

Η ηλικία και το μέγεθος της ανάπτυξης του εμβρύου όταν γεννιέται το αυγό ποικίλλει. Εάν τα αυγά ψυχθούν μετά την απότρυξη, η ανάπτυξη του εμβρύου παύει έως ότου αυξηθεί και πάλι η θερμοκρασία. Η ανάπτυξη μπορεί να επαναληφθεί ακόμα και αφού τα αυγά έχουν ψυχθεί για αρκετές ημέρες. Η θερμοκρασία των αυγών που επωάζονται από τις μητέρες τους είναι 41,1 °C (η μέση θερμοκρασία του σώματος μιας όρνιθας). Η θερμοκρασία φυσικά μεταβάλλεται όταν αφήνει η όρνιθα τα αυγά που κλωσάει για να καταναλώσει την τροφή της, κ.λπ.. Αυτό έχει επιπτώσεις στο πόσο γρήγορα αναπτύσσεται το έμβρυο και, επομένως, στο πότε θα εκκολαφθεί ο νεοσσός. Τα τεχνητά επωασμένα αυγά διατηρούνται σε μια σταθερή θερμοκρασία 37,2-37,8 °C.. Σε αυτήν τη θερμοκρασία τα αυγά εκκολάπτονται σε 21 ημέρες. Παρακάτω αναφέρονται τα στάδια ανάπτυξης του εμβρύου ανά ημέρα κατά τη διάρκεια της επώασης σε σταθερή θερμοκρασία.

1^η ημέρα

Λίγο μετά την έναρξη της επώασης, και συγκεκριμένα 1-6 ώρες μετά τη γέννηση του αυγού σχηματίζεται το *γαστρίδιο** το οποίο αποτελείται από το εξώδερμα, το μεσόδερμα και το ενδόδερμα. Στις 16 ώρες επώασης, εμφανίζεται μια ευδιάκριτη γραμμή κυττάρων. Αυτή αποτελεί την αρχική γραμμή ή ταινία και είναι ο επιμήκης άξονας του εμβρύου. Από την αρχική γραμμή θα αναπτυχθεί το κεφάλι και η σπονδυλωτή στήλη του εμβρύου (Δ11). Πιο συγκεκριμένα στις 18 ώρες επώασης εμφανίζεται ένας πρόδρομος ιστός του πεπτικού σωλήνα, στις 20 ώρες η σπονδυλική στήλη, στις 21 ώρες ξεκινά ο σχηματισμός του νευρικού συστήματος, στις 22 ώρες ο σχηματισμός του κεφαλιού, στις 23 ώρες εμφανίζονται νησίδες αίματος που ύστερα θα εξελιχθούν σε κυκλοφορικό σύστημα και στις 24 ώρες ξεκινά ο σχηματισμός του ματιού.



2^η ημέρα

Τη δεύτερη ημέρα οι νησίδες αίματος ξεκινάνε να σχηματίζουν το αγγειακό σύστημα και την 25^η ώρα της επώασης σχηματίζεται η καρδιά σε άλλο σημείο. Ύστερα από 44 ώρες επώασης το αγγειακό σύστημα και η καρδιά ενώνονται και η καρδιά ξεκινά να χτυπά. Ακόμα, το έμβρυο ξεκινά να στρέφεται αριστερά, δημιουργούνται οι καταβολές των αυτιών (35^η ώρα), και οι εμβρυϊκοί υμένες (άμνιο, χόριο, λεκιθικός ασκός, αλλαντοειδής) αρχίζουν να αναπτύσσονται.



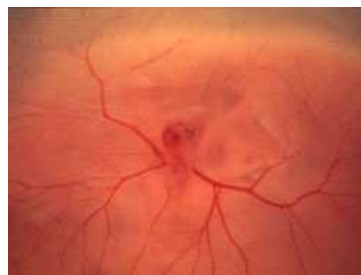
3^η ημέρα

Ο αμνιακός σάκος περιβάλλει τελείως το έμβρυο. Το κεφάλι και το ανώτερο σώμα του εμβρύου κάμπτονται ακόμη περισσότερο και η ουρά αρχίζει να κάμπτει επίσης. Τα αυτιά είναι σαφώς ορατά. Τα δύο μέρη του εμβρυϊκού ματιού, ο φακός και το οπτικό κυπέλιο που περιβάλλει το φακό, είναι επίσης διακριτά. Τα διαφορετικά τμήματα του εγκεφάλου μπορούν να φανούν. Επειδή η καρδιά αυξάνεται τόσο γρήγορα σε αυτή τη φάση, δεν μπορεί να χωρέσει μέσα στο έμβρυο. Ο σφιχτός σχηματισμός υποχρεώνει την καρδιά να συστρέφεται καθώς αυξάνεται. Το υπόλοιπο του σώματος γυρίζει τελικά για να τοποθετηθεί στην αριστερή πλευρά του, όπου βρίσκεται η καρδιά. Πιο συγκεκριμένα στις 50 ώρες επώασης ξεκινά ο σχηματισμός του άμνιου, στις 60 ώρες της ρινικής δομής, στις 62 ώρες των ποδιών, στις 64 ώρες των φτερών και στις 70 ώρες της αλλαντοειδής μεμβράνης (Esminger, 1992).



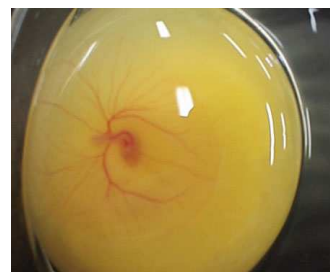
4^η ημέρα

Η στρέψη και η κάμψη του σώματος του εμβρύου συνεχίζεται την τέταρτη ημέρα. Ολόκληρο το σώμα του εμβρύου στρέφεται κατά 90° και βρίσκεται στην αριστερή πλευρά της λεκίθου. Το κεφάλι και η ουρά έχουν έρθει τόσο κοντά, που το έμβρυο σχηματίζει το σχήμα “C”. Το στόμα, η γλώσσα και τα ρουθούνια αναπτύσσονται ως μέρη του πεπτικού και του αναπνευστικού συστήματος. Η καρδιά συνεχίζει να μεγαλώνει και είναι ορατός ο κτύπος της αν ανοιχτεί προσεκτικά το αυγό. Τα υπόλοιπα εσωτερικά όργανα συνεχίζουν να μεγαλώνουν. Στο τέλος της τέταρτης ημέρας το έμβρυο έχει όλα τα απαραίτητα όργανα για τη διατήρησή του στη ζωή μετά την εκκόλαψη και τα περισσότερα μέρη του εμβρύου μπορούν να διακριθούν. Παρ’ όλα αυτά το έμβρυο δεν διαφέρει ακόμα από τα υπόλοιπα έμβρυα των θηλαστικών ζώων (Δ11).



5^η ημέρα

Αρχίζουν να διαμορφώνονται τα αναπαραγωγικά όργανα (και συγχρόνως γίνεται η διαφοροποίηση του φύλου), τα οστά των άκρων και ο πρόλοβος. Η καρδιά αρχίζει να παίρνει συγκεκριμένη μορφή και τα αγγεία καλύπτουν τα 2/3 της λεκίθου. Το κεφάλι και το ράμφος ξεκινούν να παίρνουν την κανονική τους μορφή (North & Bell, 1990).



6^η ημέρα

Την έκτη ημέρα είναι ευδιάκριτα τα άκρα του εμβρύου. Τα πλευρά αρχίζουν να εμφανίζονται και να διαμορφώνεται ο στόμαχος και το ράμφος. Το σώμα σε σύγκριση με το κεφάλι είναι μικρό. Τέλος ξεκινάει η συγχώνευση του χωρίου και της αλλαντοειδούς μεμβράνης.



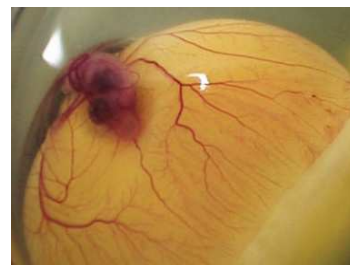
7^η ημέρα

Το σώμα, που ήταν πολύ μικρό, αρχίζει να αναπτύσσεται πολύ γρήγορα (Πανοπούλου – Διαμαντοπούλου, 1997). Ο χιτώνας του ματιού αρχίζει να διαμορφώνεται. Η καρδιά είναι πλήρως κλεισμένη στο εσωτερικό της θωρακικής κοιλότητας και το έμβρυο ξεκινά να μοιάζει περισσότερο με ένα πουλί.



8^η ημέρα

Θύλακες πτερυγίων εμφανίζονται σε συγκεκριμένες περιοχές. Αρχίζουν να διαμορφώνονται οι σκαρδαμυκτικές μεμβράνες των ματιών, και η κοιλότητα του μυελού του οστού του μηρού.



9^η ημέρα

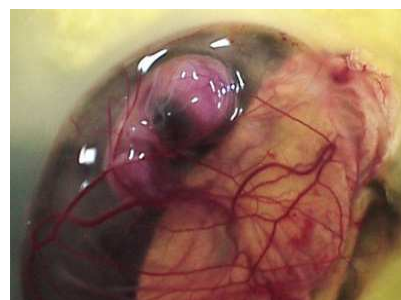
Την 9^η ημέρα το έμβρυο κινείται αρκετά. Αρχίζει να παρουσιάζει τη μορφή πτηνού και οι επιγονατίδες αρχίζουν να διαμορφώνονται. Σχηματίζεται η χοριοαλλαντοϊδική μεμβράνη από τη συγχώνευση του χορίου και της αλλαντοειδούς μεμβράνης. Η πλήρης αγγείων χοριοαλλαντοΐδα εφάπτεται στην εσωτερική επιφάνεια του κελυφικού υμένα του αυγού. Με τα αγγεία



της συλλέγει οξυγόνο από τον αέρα, που περιβάλλει το κέλυφος το αυγού. Ταυτόχρονα, αποβάλλει το διοξείδιο του άνθρακα. Στην χοριοαλλαντοϊδική κοιλότητα συλλέγονται τα απεκκρίματα του εμβρυϊκού ουροποιητικού συστήματος, που στα πτηνά είναι πλούσια σε ουρικό οξύ (Μαγράς, 1992).

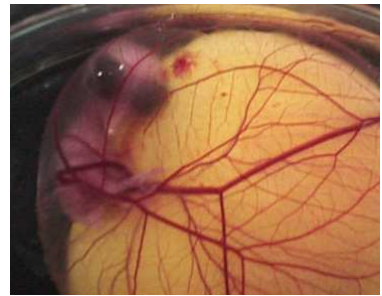
10^η ημέρα

Αρχίζει η σκλήρυνση του ράμφους. Τα νύχια αρχίζουν να διαμορφώνονται, και το λειρί και τα φτερά είναι ορατά.



11^η ημέρα

Αυθόρμητες κινήσεις των ποδιών και των φτερών ξεκινούν την 11^η ημέρα (Austic & Nesheim, 1990). Τα νύχια αρχίζουν να κάμπτονται. Το λειρί εμφανίζεται κομμένο οδοντωτά και το έμβρυο απορροφά ασβέστιο από το κέλυφος για την ανάπτυξη των οστών του. Τα κοιλιακά τοιχώματα εμφανίζονται και το εντερικό σύστημα μπορεί να φανεί στο λεκιθικό σάκο (North & Bell, 1990).



12^η ημέρα

Φολίδες εμφανίζονται στα πόδια και τα πλευρά αρχίζουν να οστεοποιούνται.



13^η ημέρα

Την 13^η ημέρα το χνούδι περιβάλλει όλο το σώμα, και το χρώμα του διακρίνεται μέσα από τα λεπτά τοιχώματα των σάκων (Austic & Nesheim, 1990). Ο σκελετός αρχίζει να ασβεστοποιείται και τα περισσότερα όργανα είναι διαφοροποιημένα (North & Bell, 1990).



14^η ημέρα

Το σώμα του εμβρύου στρέφεται παράλληλα προς το μεγάλο άξονα του αυγού με το κεφάλι του τοποθετημένο κανονικά στο αμβλύ άκρο του αυγού (North & Bell, 1990). Το κρανίο αρχίζει να οστεοποιείται.



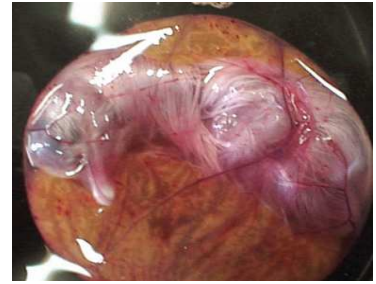
15^η ημέρα

Οι φολίδες, τα νύχια και το ράμφος γίνονται σκληρά.



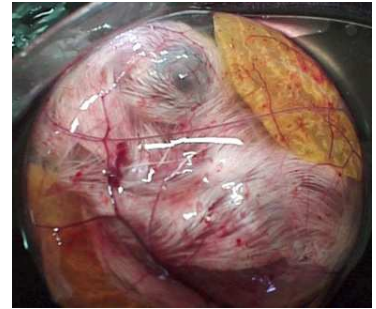
16^η ημέρα

Το έμβρυο στρέφει το ράμφος προς τον αεροθάλαμο.



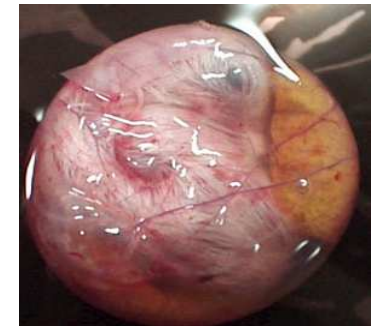
17^η ημέρα

Το κεφάλι του εμβρύου στρέφεται έτσι ώστε το ράμφος να βρίσκεται κανονικά κάτω από το δεξί φτερό και πλησίον του κατώτερου μέρους του αεροθαλάμου (North & Bell, 1990).



18^η ημέρα

Το αμνιακό υγρό αρχίζει να ελαττώνεται και το έμβρυο προετοιμάζεται για τη περίοδο της εκκόλαψης.



19^η ημέρα

Ο λεκιθικός σάκος αρχίζει να εισέρχεται στο σώμα του εμβρύου μέσω του ομφαλού (Austic & Nesheim, 1990). Τα συστατικά του λεκιθικού σάκου χρησιμοποιούνται ως τροφή από το νεοσσό τις πρώτες ημέρες της ζωής του. Το έμβρυο τοποθετεί το σώμα του κατάλληλα ώστε να τρυπήσει το κέλυφος (North & Bell, 1990).



20^η ημέρα

Ο λεκιθικός σάκος έχει ολοκληρώσει την είσοδό του στο σώμα. Το έμβρυο καταλαμβάνει όλο το χώρο μέσα στο αυγό εκτός από τον αεροθάλαμο. Ο ομφαλός έχει αρχίσει να κλείνει. Το ράμφος του νεοσσού διατρύπτει τις υποκελύφειες μεμβράνες και εισέρχεται στον αεροθάλαμο. Το έμβρυο σιγά-σιγά εισπνέει λίγο αέρα και η πνευμονική αναπνοή ξεκινά. Έπειτα σπάει λίγο το κέλυφος και οι πνεύμονες γίνονται πλήρως λειτουργικοί



(North & Bell, 1990). Ο νεοσσός διευκολύνεται στη θραύση του κελύφους από ένα σκληρό εξόγκωμα, τον αδάμαντο, που βρίσκεται στην άκρη του πάνω ράμφους (Πανοπούλου - Διαμαντοπούλου, 1997).

21^η ημέρα

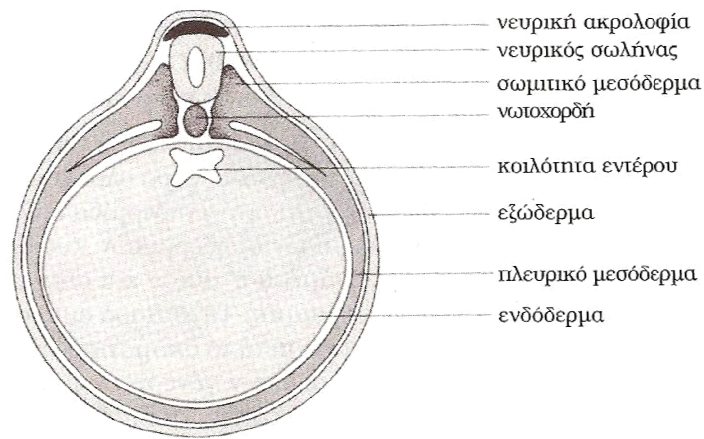
Ο νεοσσός, αφού έχει σπάσει λίγο το κέλυφος, ξεκουράζεται για λίγη ώρα, και ύστερα σπάει σε κυκλική αριστερόστροφη γραμμή το κέλυφος. Αν ο νεοσσός έχει τοποθετήσει το σώμα του σωστά για την εκκόλαψη, σπάει το κέλυφος στο αμβλύ άκρο. Από την ώρα που το κέλυφος διαρρηγνύεται για πρώτη φορά μέχρι να βγει ο νεοσσός, κουρασμένος και βρεγμένος, περνάνε περίπου 10 με 20 ώρες (North & Bell, 1990).



Οι δύο πρώτες περιόδους της προγεννητικής ανάπτυξης (*εμβρυογένεση**, *μορφογένεση**), περίπου μέχρι την 5^η ημέρα επώασης στο έμβρυο ορνίθων, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραπέρα διάπλαση του εμβρύου. Αν κατά τη διάρκειά τους το έμβρυο υποστεί κάποια δυσμενή επίδραση, ανεξαρτήτως προελεύσεως (από το ίδιο το έμβρυο ή τη μητέρα) και αιτιολογίας (αίτιο φυσικό ή χημικό), τίθεται σε κίνδυνο όχι μόνο η φυσιολογική διάπλαση του (σχηματισμός τεράτων), αλλά και η επιβίωσή του (πρόκληση θανάτου) (Μαγράς, 1992). Η περίοδος αυτή αντιστοιχεί με τους πρώτους 2 μήνες της εμβρυογένεσης του ανθρώπου όπου η επίδραση δυσμενών παραγόντων παρουσιάζει ιδιαίτερα σημαντικά ποσοστά τερατογένεσης ή και θανάτου του εμβρύου

4.3.1 Σχηματισμός νευρικού συστήματος εμβρύου όρνιθας

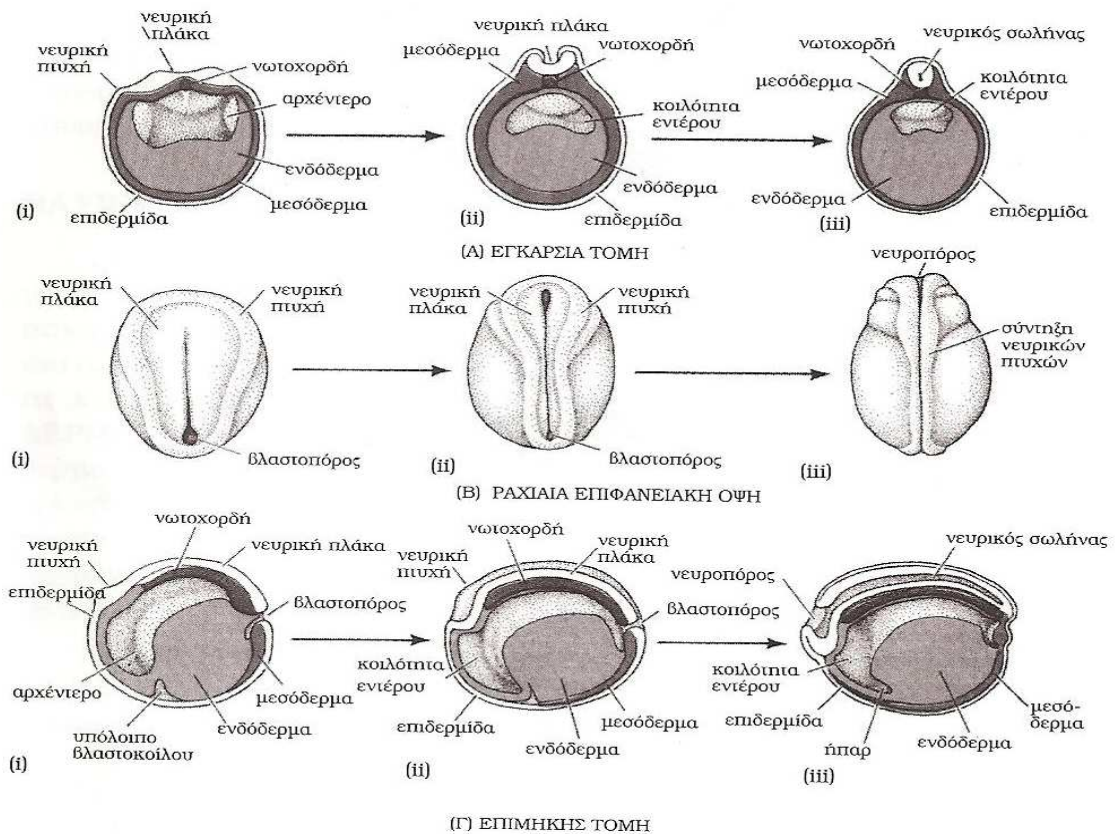
Το τέλος της *γαστριδιοποίησης** σηματοδοτεί την έναρξη της οργανογένεσης που ξεκινά με την *νευριδιοποίηση*. Κατά την *νευριδιοποίηση* από το εξώδερμα σχηματίζεται ένας επιμήκης κυλινδρικός σχηματισμός που ονομάζουμε νευρικό σωλήνα. Στο στάδιο αυτό αρχίζει ο σχηματισμός του σώματος του εμβρύου κατά μήκος του προσθίου-οπισθίου άξονα συμμετρίας. Τα στρώματα των κυττάρων που αποτελούν τις βλαστικές στοιβάδες υφίστανται μορφολογικές μεταβολές και το γαστρίδιο μετατρέπεται σε ένα επίμηκες, κυλινδρικό έμβρυο, που ονομάζεται *νευρίδιο* (Εικόνα 4.3.1.1) (Αναγνωστοπούλου-Μπέη, 1993).



[

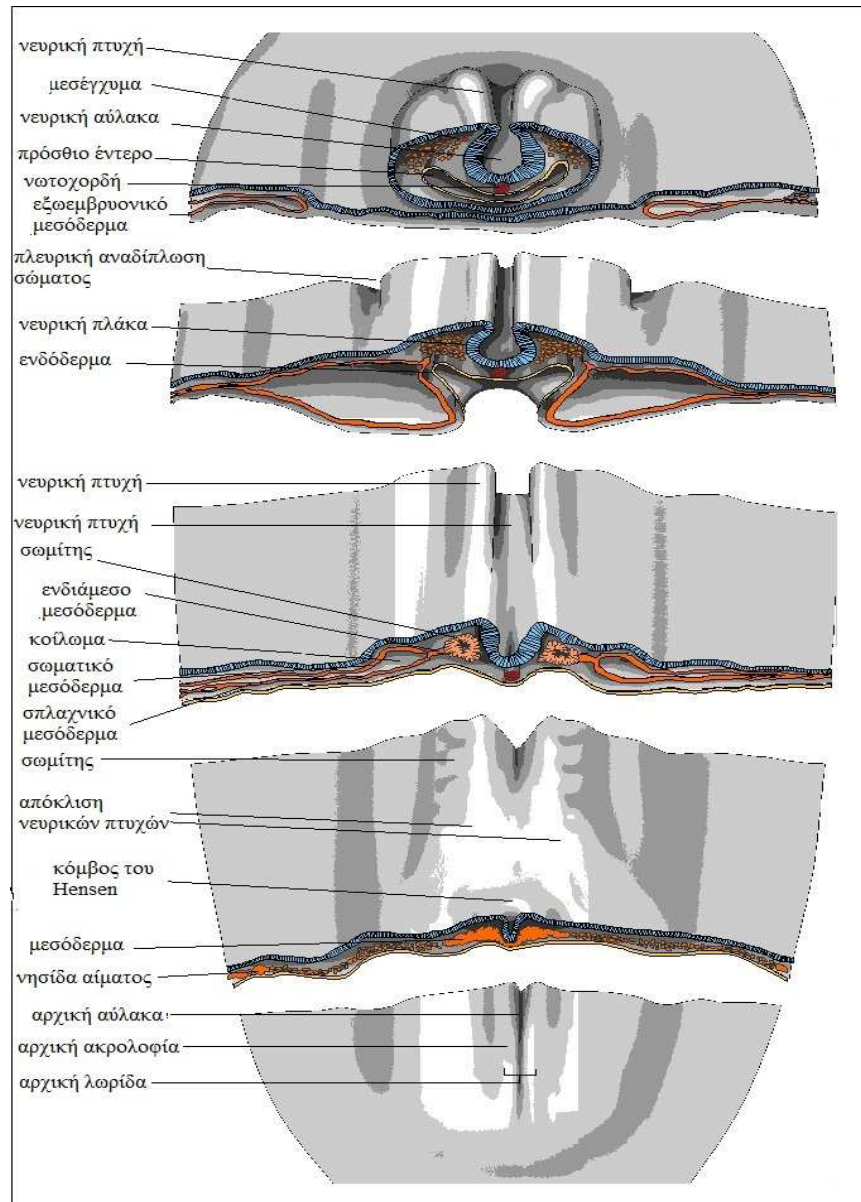
μετά το
σωλήνα

Αρχική ένδειξη της νευριδιοποίησης αποτελεί η πλάτυνση του ραχιαίου εξωδέρματος, την πρώτη ημέρα επώασης, το οποίο σχηματίζει τη **νευρική πλάκα** (Εξωδερμικά κύτταρα που δεν αποκτούν νευρικές ιδιότητες, δημιουργούν την επιδερμίδα). Τα άκρα της νευρικής πλάκας ανυψώνονται και σχηματίζουν τις **νευρικές πτυχές**, οι οποίες παχύνουν και αυξάνουν σε ύψος έτσι ώστε να σχηματίσουν τη **νευρική αύλακα**. Η νευρική αύλακα εκτείνεται κατά μήκος της μελλοντικής ραχιαίας πλευράς του εμβρύου. Μετά την ανύψωση, οι νευρικές πτυχές συγκλίνουν και συντήκονται, με αποτέλεσμα το κλείσιμο της νευρικής αύλακας και το σχηματισμό του **νευρικού σωλήνα** (Εικόνα 4.3.1.2). Ο νευρικός σωλήνας αποτελεί την αρχική υποτυπώδη μορφή του κεντρικού συστήματος (Αναγνωστοπούλου-Μπέη, 1993). Το πρόσθιο και το οπίσθιο άνοιγμα του νευρικού σωλήνα, που ονομάζονται αντίστοιχα **πρόσθιος** και **οπίσθιος νευροπόρος**, κλείνουν τελευταία. Οι παρυφές του εξωδέρματος δεξιά και αριστερά του νευρικού σωλήνα συνενώνονται επάνω από το νευρικό σωλήνα και αποτελούν το **επιπολής εξώδερμα**. Από το ραχιαίο εξώδερμα, τελικά, σχηματίζεται ολόκληρο το νευρικό σύστημα, ο αμφιβληστροειδής χιτώνας του οφθαλμού, η επίφυση, ο οπίσθιος λοβός της υπόφυσης και η μυελώδης ουσία των επινεφριδίων (Μαγράς, 1992).



Εικόνα 4.3.1.2. Νευριδιοποίηση εμβρύου. (Α) Εγκάρσιες τομές, (Β) Ραχιαία επιφάνεια και (Γ) Επιμήκειες τομές, στα στάδια (i) της νευρικής πλάκας, (ii) της νευρικής πτυχής, και (iii) του σχηματισμού του νευρικού σωλήνα. (Κατά Balinsky, 1975, Αναγνωστοπούλου-Μπέη, 1993).

Η σύντηξη των νευρικών πτυχών διαχωρίζει το νευρικό εξώδερμα από την υποθετική επιδερμίδα, η οποία περιβάλλει τώρα ολόκληρο το έμβryo. Ανάμεσα στην επιδερμίδα και το νευρικό σωλήνα εντοπίζονται τα κύτταρα που αποτελούν τη **νευρική ακρολοφία** και αρχίζουν, σύντομα μετά το σχηματισμό τους, να μετακινούνται πλευρικά και κοιλιακά για να δώσουν γένεση σε μια ποικιλία κυτταρικών τύπων σε διάφορες θέσεις μέσα στο σώμα. Ανάμεσα στα παράγωγα της νευρικής ακρολοφίας περιλαμβάνονται χρωστικά κύτταρα*, νευρώνες* και κύτταρα γλοίας* του συμπαθητικού και παρασυμπαθητικού νευρικού συστήματος, κύτταρα του σκελετικού και συνδετικού ιστού, και κύτταρα του μυελού του αδένα των επινεφριδίων (Αναγνωστοπούλου-Μπέη, 1993).

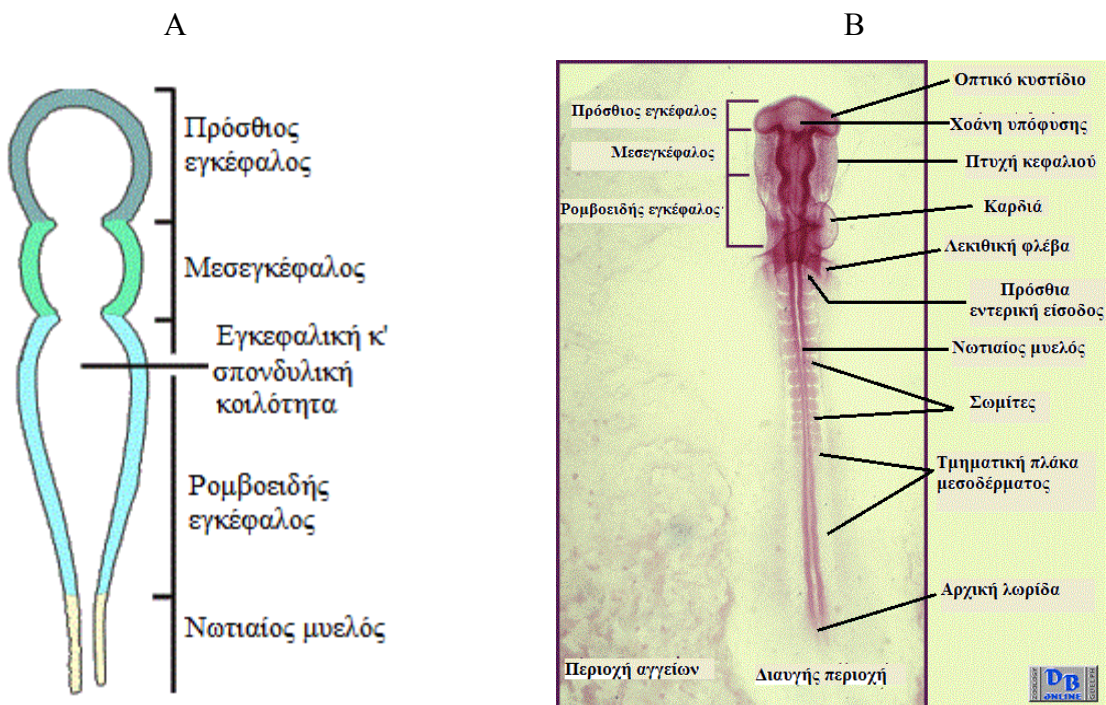


Εικόνα 4.3.1.3 Τρισδιάστατη εικόνα τμημάτων εμβρύου ορνιθίου ηλικίας 24 ωρών, κατά μήκος της ραχιαίας περιοχής. Η νευριδιοποίηση ολοκληρώνεται στο κεφάλι, ενώ οι οπίσθιες περιοχές δεν έχουν συμπληρώσει ακόμα τη γαστριδιοποίηση.

Η διαφοροποίηση του νευρικού σωλήνα στα διάφορα τμήματα του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος συντελείται ταυτόχρονα στο ανατομικό, ιστολογικό και κυτταρικό επίπεδο. Στο ανατομικό επίπεδο, ο νευρικός σωλήνας παρουσιάζει διογκώσεις και μεταξύ αυτών σχισμές που οδηγούν σταδιακά στο σχηματισμό των τμημάτων του εγκεφάλου και της σπονδυλικής στήλης. Στο ιστολογικό επίπεδο, οι κυτταρικοί πληθυσμοί ανακατατάσσονται και δημιουργούν τα διάφορα λειτουργικά τμήματα του εγκεφάλου και της σπονδυλικής στήλης. Τέλος, στο κυτταρικό επίπεδο, τα

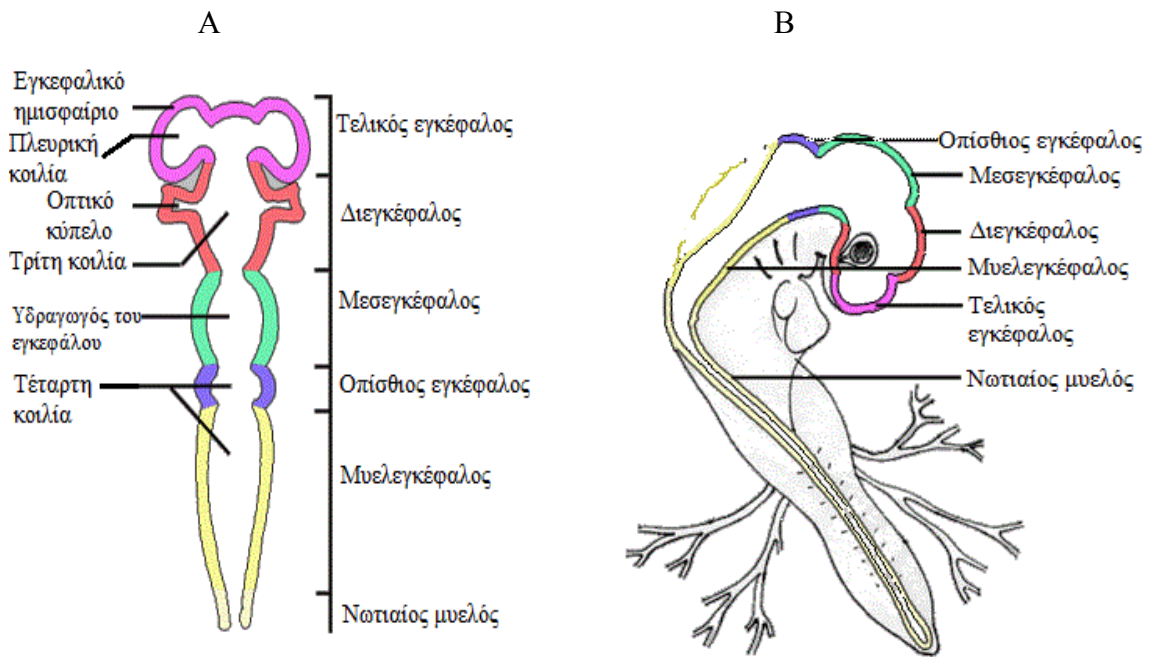
νευροεπιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιούνται στους ποικίλους τύπους των νευρώνων και κυττάρων γλοίας (Αναγνωστοπούλου-Μπέη, 1993).

Αρχικά ο νευρικός σωλήνας είναι επιμήκης, αλλά τη δεύτερη ημέρα της επώασης η δομική του οργάνωση μεταβάλλεται. Κατά τη διάρκεια αυτής της διεργασίας, κύτταρα από το πρόσθιο τμήμα του νευρικού σωλήνα αρχίζουν να σχηματίζουν το *αρχέγονο πρόσθιο* και *μέσο εγκέφαλο*, ενώ κύτταρα από το οπίσθιο τμήμα σχηματίζουν τον *ρομβοειδή εγκέφαλο* και τον *νωτιαίο μυελό* (Kandel *et al.*, 2000). Δημιουργούνται, έτσι, τρεις διογκώσεις στο νευρικό σωλήνα, διαιρώντας την εμβρυική εγκεφαλική και σπονδυλική κοιλότητα σε τρία κυστίδια: τον *πρόσθιο εγκέφαλο*, το *μεσεγκέφαλο* και το *ρομβοειδή εγκέφαλο*. Το στάδιο αυτό είναι γνωστό ως το *στάδιο των "τριών κυστιδίων"* (Εικόνα 4.3.1.4).



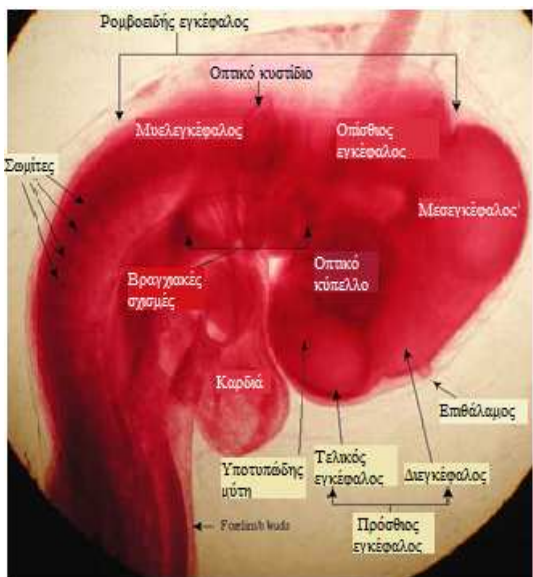
Εικόνα 4.3.1.4. Στάδιο "τριών κυστιδίων". A: Σχηματική παράσταση του σταδίου B: Εικόνα εμβρύου 33 ωρών (www.uoguelph.ca, Δ14).

Λίγο αργότερα ο νευρικός σωλήνας εισέρχεται στο στάδιο που ονομάζεται *στάδιο των "πέντε κυστιδίων"*, όπου η εγκεφαλική και σπονδυλική κοιλότητα διαιρείται σε πέντε κυστίδια κατά μήκος της μέσης γραμμής (δημιουργούνται και δύο οπτικές κοιλίες που διογκώνονται προς το πλάι, αλλά συνυπολογίζονται με τον τελικό εγκέφαλο). Η καταγωγή των τριών κυστιδίων είναι ακόμα εμφανής σε αυτό το σημείο, με τον πρόσθιο εγκέφαλο να έχει χωριστεί σε τελικό εγκέφαλο και σε διεγκέφαλο, και το ρομβοειδή εγκέφαλο να έχει χωριστεί σε οπίσθιο εγκέφαλο και σε μυελεγκέφαλο. Λόγω αυτής της περαιτέρω διαφοροποίηση του νευρικού σωλήνα, είναι δυνατόν τώρα να δει κανείς που θα σχηματιστούν οι διάφορες κοιλίες και άλλα υπολείμματα της εγκεφαλικής και σπονδυλικής κοιλότητας (Εικόνα 4.3.1.5) (Δ14).

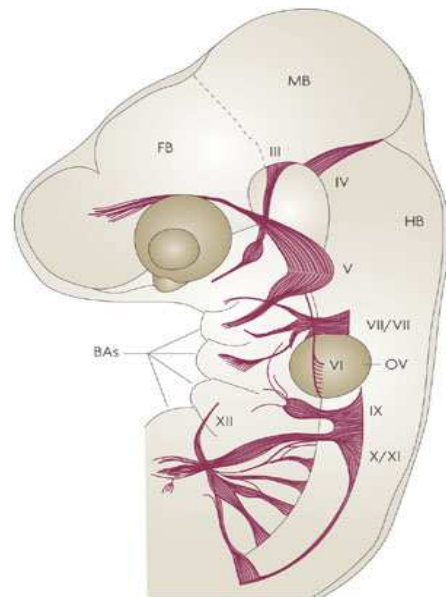


Εικόνα 4.3.1.5. Στάδιο "πέντε κυστιδίων". Α: Σχηματική παράσταση του σταδίου Β: Πλευρική σχηματική παράσταση εμβρύου 50 ωρών (Δ14).

Στην εικόνα 4.3.1.6 φαίνεται έμβρυο ηλικίας 60-70 ωρών και καταγράφονται τα μέρη του εγκεφάλου ενώ στην εικόνα 4.3.1.7 φαίνεται μια πλευρική άποψη των κρανιακών νευρών όταν το έμβρυο είναι στην 4^η ημέρα της επώασης. Παρουσιάζονται τα νευρικά μονοπάτια από τον ρομβοειδή εγκέφαλο (HB), στα δεξιά, στις βραγχιακές κάμαρες (BAs) και σε άλλες δομές του κεφαλιού (τον μεσεγκέφαλο (MB) και τον πρόσθιο εγκέφαλο (FB)), στα αριστερά. Τα λατινικά νούμερα υποδηλώνουν τα νεύρα: III = οφθαλμοκινητικός, IV= τροχλιακός, V = τρίδυμος, VI = απαγωγός, VII/VIII = προσωπικό/ αιθουσοχωκλιακό, IX = γλωσσοφαρυγγικό, X = πνευμονογαστρικό, XI = παραπληρωματικό, XII = υπογλώσσιος, OV = ακουστικό κυστίδιο (Mason, 2007). Η ανάπτυξη του εγκεφάλου συνεχίζεται καθ' όλη τη διάρκεια της επώασης, κατά την οποία το μέγεθος του αυξάνεται δραματικά. Η ανάπτυξη συνεχίζεται και κατά τη διάρκεια των δύο ή τριών πρώτων εβδομάδων της ζωής του ορνιθίου (Rogers, 1995). Όταν ο εγκέφαλος σχηματιστεί πλήρως ο τελικός εγκέφαλος θα αποτελείται από τον εγκέφαλο και τις πλευρικές κοιλίες, ο διεγκέφαλος από την επίφυση, τον θάλαμο, τον υποθάλαμο και το οπτικό κύπελλο, ο μεσεγκέφαλος από τον εγκεφαλικό μίσχο και τον μεσεγκέφαλο, ο οπίσθιος εγκέφαλος από την παρεγκεφαλίδα, και ο μυελεγκέφαλος από τον προμήκη μυελό (Πίνακας 4.3.1.1).



Φωτογραφία 60-70 ωρών (uc.edu, Δ15).



Nature Reviews | Neuroscience

3.1.7. Σχέδιο του 4 ημερών (2007).

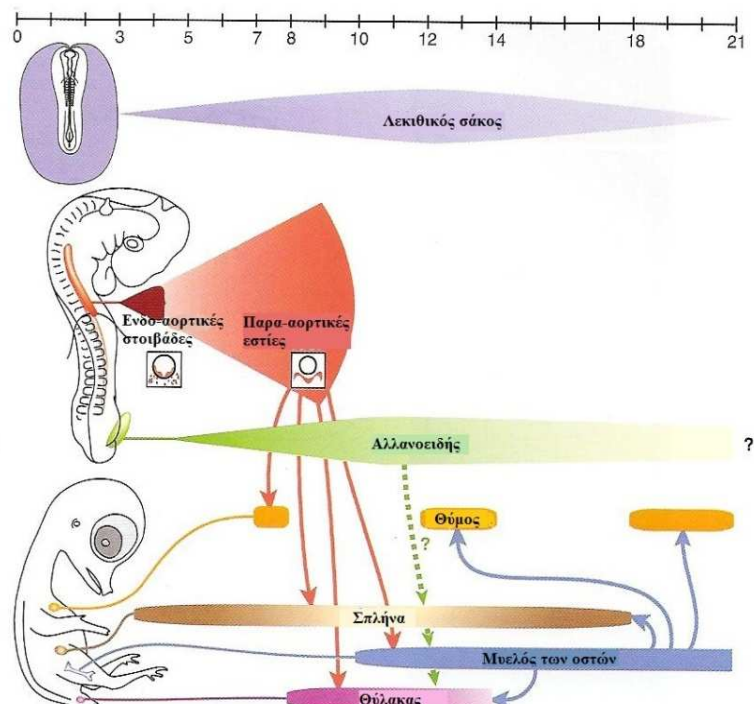
κάθε μέρους του

	Αρχικές διαιρέσεις	Υποδιαιρέσεις	Μέρη σχηματισμένου εγκεφάλου	Λειτουργίες
	Πρόσθιος εγκέφαλος	Τελικός εγκέφαλος	- Εγκέφαλος - Πλευρικές κοιλίες	- Έλεγχος σκελετικών μυών - Αισθητήρια αντίληψη
		Διεγκέφαλος	- Επίφυση - Θάλαμος - Υποθάλαμος - Οπτικό κύπελλο	- Βιολογικό ρολόι - Σταθμός αισθητικών οδών - Ρύθμιση του αυτόνομου συστήματος - Μάτι, όραση
	Μεσεγκέφαλος	Μεσεγκέφαλος	- Εγκεφαλικός μίσχος - Μεσεγκέφαλος	- Σύνδεση με τον εγκέφαλο - Οπτικά αντανακλαστικά
	Ρομβοειδής εγκέφαλος	Οπίσθιος εγκέφαλος	- Παρεγκεφαλίδα	- Σχεδιασμός και συντονισμός της κατά βούλησης κίνησης - Διατήρηση ισορροπίας
		Μυελόεγκεφαλος	- Προμήκης Μυελός	- Ρυθμίσεις ζωτικών λειτουργιών
Νωτιαίος μυελός	Νωτιαίος μυελός	- Νωτιαίος μυελός		

4.3.2 Σχηματισμός ανοσοποιητικού συστήματος εμβρύου όρνιθας

Οι αναπτυσσόμενοι νεοσσοί και τα νεογέννητα ορνίθια προστατεύονται παροδικά έναντι βακτηριακών τοξινών, βακτηρίων, παρασίτων και ιών χάρη των μητρικών Ig που μεταφέρονται μέσω της λεκίθου. Τα μητρικά αντισώματα εξακολουθούν να υφίστανται μέχρι ένα μήνα μετά την εκκόλαψη (Hamal *et al.*, 2006). Το ορνίθιο ξεκινά να αναπτύσσει τους δικούς του αμυντικούς μηχανισμούς κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής του, αλλά σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία η ανοσοϊκανότητα εμφανίζεται λίγες μέρες μετά την εκκόλαψη (Mast and Goddeeris, 1999). Από ανοσολογικής άποψης, η μετα-εκκολαπτική περίοδος είναι κρίσιμη, καθώς το ορνίθιο εκτίθεται απότομα σε ένα μεγάλο εύρος αντιγόνων από το περιβάλλον. Σημειώνεται ότι τα πτηνά, κατά αυτό το στάδιο, μειονεκτούν έναντι των θηλαστικών τα οποία συνεχίζουν να προμηθεύονται μητρικά αντισώματα μέσω του πρωτογάλακτος. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι κατά την πρώτη μέρα της εκκόλαψης η οποιαδήποτε αντιγονική διέγερση δεν ενεργοποιεί την παραγωγή αντισωμάτων, πιθανόν λόγω της μη ολοκληρωμένης οργάνωσης των δευτερογενών λεμφικών οργάνων του νεογνού (Fellah *et al.*, 2008).

Γενικά τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος προέρχονται από κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος. Ο λεκιθικός σάκος κατά τη διάρκεια της επώασης, παράγει δύο ξεχωριστές γενιές προγονικών κυττάρων ερυθράς και λευκής σειράς. Η μια πραγματοποιείται μεταξύ 1^{ης} και 5^{ης} ημέρας επώασης και απορρέει από *in situ* διαφοροποιημένα προγονικά κύτταρα. Η άλλη ξεκινάει την 5^η ημέρα επώασης και τελειώνει κατά την εκκόλαψη και απορρέει από τον λεκιθικό σάκο και από διαφοροποιημένα αρχέγονα εμβρυϊκά κύτταρα. Μεταξύ της 6^{ης} και 9^{ης} ημέρας επώασης μια μεγάλη ομάδα από αιμοποιητικά κύτταρα βρίσκονται στο χαλαρό μεσέγχυμα, κοιλιακά της αορτής. Χάρη στη θέση τους, αυτές οι δομές έχουν οριστεί ως **παρα-αορτικές εστίες**. Αυτά τα κύτταρα φαίνεται να είναι υπεύθυνα για το πρώτο κύμα αποίκησης του θύμου αδένου (Dunon *et al.*, 1998, 1999) και για τη δημιουργία του μυελού των οστών (Le Douarin *et al.*, 1984). Η δημιουργία του μυελού των οστών ξεκινά τη 10,5^η ημέρα επώασης και συνεχίζει μέχρι την εκκόλαψη. Σε εκείνη τη περίοδο, η λειτουργία των παρα-αορτικών εστιών έχει σταματήσει (Fellah *et al.*, 2008). Τα Β λεμφοκύτταρα πρώτα μεταναστεύουν από το θύλακα στα δευτερογενή λεμφικά όργανα τρεις ημέρες πριν από την εκκόλαψη (Davinson *et al.*, 2008), ενώ ο πρώτος πληθυσμός των Τ λεμφοκυττάρων φεύγει από το θύμο αδένου περίπου την 6^η ημέρα επώασης, με το δεύτερο και τρίτο κύμα να πραγματοποιείται περίπου τη 12^η και 18^η ημέρα επώασης αντίστοιχα (Coltey *et al.*, 1989; Εικόνα 4.3.2.1). Κάθε κύμα διαρκεί 1 ή 2 ημέρες και διαχωρίζεται από το προηγούμενο κύμα με περιόδους αδράνειας (Fellah *et al.*, 2008). Τα μητρικά αντισώματα βοηθούν στην προστασία του νεοσσού μέχρι να αναπτύξει πλήρως τα δικά του αντισώματα.



Εικόνα 4.3.2.1. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών ανάπτυξης των αιμοποιητικών μερών, των αιμοποιητικών στοιχείων και οι διαδρομές μετακίνησης των αιμοποιητικών κυττάρων στο έμβryo. (Davison *et al.*, 2008).

Οι τρεις κύριες ομάδες αντισωμάτων που έχουν καταγραφεί στα πτηνά είναι : IgM, IgA και IgY (το τελευταίο είναι όμοιο με το IgG των θηλαστικών). Τα IgY μεταφέρονται επιλεκτικά από το κυκλοφορικό σύστημα της όρνιθας στη λέκθο του αυγού (Patterson *et al.*, 1962a, b). Η ποσότητα των IgY που μεταφέρεται στη λέκθο είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση του IgY στον ορό του αίματος της όρνιθας (Kramer and Cho, 1970; Loeken and Roth, 1983; Al-Natour *et al.*, 2004; Hamal *et al.*, 2006). Το δεύτερο βήμα της μεταφοράς μητρικών αντισωμάτων απαιτεί την απορρόφηση των IgY στην εμβρυική κυκλοφορία μέσω της μεμβράνης της λέκθου. Αυτή η μεταφορά ξεκινάει με αργούς ρυθμούς περίπου την 7^η ημέρα επώασης (Kramer and Cho, 1970) και αυξάνεται απότομα κατά τη διάρκεια των τριών τελευταίων ημερών της επώασης ώστε να φτάσει τα 600μg/ημέρα. Η συνολική ποσότητα που απορροφάται από το έμβryo αποτελεί μόνο το 10% της συνολικής ποσότητας της λέκθου. Η συνολική ποσότητα των IgY φτάνει το ανώτερο επίπεδο 2 ημέρες μετά την εκκόλαψη, αγγίζοντας τα 1-5mg/ml (Kowalczyk *et al.*, 1985) και μεταγενέστερα μειώνονται μέχρι η *de novo* σύνθεσή τους γίνει εμφανής. Μια ακόμη λειτουργία του λεκθικού σάκου είναι η παραγωγή της πρώτης γενιάς των μακροφάγων (Davinson *et al.*, 2008).

Ενώ τα IgY βρίσκονται μόνο στη λέκθο, και όχι στην αλβουμίνη, το αντίθετο συμβαίνει για τα IgM και IgA αντισώματα. Πολύ μικρή ποσότητα από αυτά τα αντισώματα μπορεί να εντοπιστεί στη λέκθο (Yamamoto, 1975), με τη μεγαλύτερη

ποσότητα να απεκκρίνεται στο λευκό του αυγού (Rose and Orlans, 1981), αγγίζοντας τις ποσότητες των 0,15 και 0,7 mg/ml για τα IgM και IgA αντισώματα, αντίστοιχα (Rose *et al.*, 1974). Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αυτά τα αντισώματα διανέμονται στο λεκιθικό σάκο και στο αμνιακό υγρό (Kaspers *et al.*, 1991) αλλά δεν μεταφέρονται στην εμβρυϊκή κυκλοφορία (Higgins, 1975). Όταν το αμνιακό υγρό απορροφάται από το έμβρυο την 10^η-12^η ημέρα επώασης, τα IgM και IgA εντοπίζονται κατά την εκκόλαψη, στο έντερο. Εναλλακτικά τα Ig μεταφέρονται στο έντερο όταν το εναπομείναν περιεχόμενο του λεκιθικού σάκου μεταφέρεται μέσω του λεκιθικού μίσχου κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων ημερών μετά την εκκόλαψη (Davinson *et al.*, 2008).

Ο θύλακας του Fabricius αναπτύσσεται όπως και ο θύμος αδένας, από ένα ενδο-μεσοδερμικό στοιχείο που αποικίζεται από αιμοποιητικά κύτταρα εξωτερικής προέλευσης. Στο ορνίθιο, η καταβολή του θύλακα εμφανίζεται την τέταρτη ημέρα επώασης ως ένας επιθηλιακός κάλυκας που αναδύεται στην πρωτογενή περιοχή της αμάρας. Σε αντίθεση με το θύμο αδένος, η επέκταση του θύλακα πραγματοποιείται μόνο μια συγκεκριμένη περίοδο που διαρκεί από την 8^η μέχρι την 14^η ημέρα της επώασης (Houssaint *et al.*, 1976). Τα θυλάκια δεν σχηματίζονται με έναν συγχρονισμένο ρυθμό και νέοι κάλυκες μπορεί να εμφανιστούν μεταξύ 11^{ης} και 14^{ης} ημέρας επώασης. Η πρώτη επιφάνεια από IgM-θετικών κυττάρων εντοπίζεται από την 12^η ημέρα επώασης και κατά την εκκόλαψη περισσότερο από το 90% των κυττάρων του θύλακα του Fabricius είναι ώριμα B κύτταρα (Fellah *et al.*, 2008).

Η σύνθεση των IgM από τα θυλακοειδή κύτταρα πραγματοποιείται μόλις αναγνωρισμένα λεμφοκύτταρα εμφανίζονται στον θύλακα, δηλαδή περίπου την 14^η ημέρα επώασης (Leslie and Clem, 1969). Τα IgY παράγωγα λεμφοκύτταρα εμφανίζονται στα θυλακοειδή θυλάκια αργότερα, περίπου την ώρα της εκκόλαψης. Κύτταρα που περιέχουν IgM παρατηρήθηκαν έξω από τον θύλακα περίπου την 17^η ημέρα επώασης, ενώ δεν βρεθήκαν κύτταρα που περιέχουν IgY αλυσίδες στο σπλήνα, στην αμυγδαλή του εντέρου και στον θύμο αδένος μέχρι τέσσερις ημέρες μετά την εκκόλαψη (Kincade and Cooper, 1971). Ταχεία επέκταση των κυττάρων που περιέχουν IgM και IgY ξεκινά στον σπλήνα τρεις και οχτώ ημέρες μετά την εκκόλαψη, αντίστοιχα (Fellah *et al.*, 2008).

5. ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΕΜΒΡΥΟΥ

Το αναπτυσσόμενο έμβρυο χρειάζεται υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες, ανόργανες ουσίες, βιταμίνες, νερό και οξυγόνο για να ολοκληρώσει κανονικά την ανάπτυξη του (North & Bell, 1990).

Οι υδατάνθρακες πιθανόν προμηθεύουν την ενέργεια που χρειάζεται για την ανάπτυξη του εμβρύου αρχικά, καθώς η ουρία που φανερώνει την έναρξη του μεταβολισμού των πρωτεϊνών, ανιχνεύεται στη συνέχεια στα υγρά των εμβρυϊκών υμένων μετά την 4^η ημέρα επώασης. Τα λίπη που προέρχονται από τη λέκιθο, χρησιμοποιούνται ως πηγή ενέργειας για την ανάπτυξη του εμβρύου αργότερα στη διάρκεια της επώασης (Γιαννακόπουλος, 1991).

Το ασβέστιο είναι το σημαντικότερο στοιχείο που χρειάζεται για την ανάπτυξη του εμβρύου και μεταφέρεται σε αυτό από το κέλυφος. Αυτό, φαίνεται από το γεγονός ότι η συγκέντρωση του ασβεστίου στο έμβρυο αυξάνει σημαντικά μετά την 12^η ημέρα της επώασης, καθώς αρχίζει η ταχεία εμβρυϊκή ανάπτυξη και η ανάπτυξη του σκελετού έχει σχεδόν ολοκληρωθεί (Γιαννακόπουλος, 1991). Το περιεχόμενο του αυγού είναι πηγή και άλλων στοιχείων για το έμβρυο. Σε πολλές περιπτώσεις, ελλείψεις στοιχείων στη διατροφή της όρνιθας έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της ποσότητας των στοιχείων που είναι διαθέσιμες στο έμβρυο (North & Bell, 1990).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ

Όλοι οι οργανισμοί εξελίχθηκαν υπό την επίδραση του μαγνητικού πεδίου της γης, αλλά και των μαγνητικών πεδίων που δημιουργούσαν οι ηλιακές ή ατμοσφαιρικές αναταράξεις. Το μαγνητικό πεδίο της γης παραμένει σχετικά σταθερό, ενώ οι ηλιακές και ατμοσφαιρικές επιδράσεις στη φύση είναι σποραδικές και σχετικά μικρής χρονικής διάρκειας (Bloxham and Gubbins, 1989). Μέχρι πριν από έναν αιώνα περίπου, αυτές ήταν οι μόνες πηγές εξωτερικών μαγνητικών πεδίων που επηρέαζαν τα βιολογικά συστήματα (Martin, 1992).

Στις μέρες μας, με την εξέλιξη της τεχνολογίας εκτιθέμεθα σε ένα συνεχές βομβαρδισμό ηλεκτρομαγνητικού πεδίου. Αυτό έχει ονομαστεί «ηλεκτρομαγνητικό νέφος» και θεωρείται υπεύθυνο για διάφορα προβλήματα υγείας (Marino, 1988). Τα ενδεχόμενα βιολογικά αποτελέσματα που οφείλονται στις κατασκευασμένες από τον άνθρωπο πηγές ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας έχουν προσελκύσει το επιστημονικό ενδιαφέρον από τα τέλη του 1800 και έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής κατά τα τελευταία 30 χρόνια.

Μέρος αυτού του ηλεκτρομαγνητικού νέφους αποτελεί η ακτινοβολία που εκπέμπεται από τις κεραιές της κινητής τηλεφωνίας. Οι κεραιές της κινητής τηλεφωνίας εκπέμπουν με συχνότητα 900-2100 MHz με πιο συνηθισμένη τα 900 MHz. Στην Ελλάδα, οι δύο Νόμοι που έχουν σχέση με την προστασία του κοινού από μη ιονίζουσα ακτινοβολία είναι η Κοινή Υπουργική Απόφαση υπ' αριθ. 53571/3839, «Μέτρα προφύλαξης του κοινού από τη λειτουργία κεραιών εγκατεστημένων στην ξηρά», (ΦΕΚ 1105/Β/6-9-2000) και ο Νόμος 3431/2006 «Περί ηλεκτρονικών επικοινωνιών και άλλες διατάξεις», (ΦΕΚ 13/Α/3-2-2006, Άρθρο 31). Σύμφωνα με τον Νόμο 3431/2006, γύρω από κάθε κατασκευή κεραιάς που εκπέμπει ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν θα πρέπει να υπάρχουν χώροι προσπελάσιμοι, από το γενικό πληθυσμό, στους οποίους τα επίπεδα έκθεσης θα υπερβαίνουν το 70% των ορίων της Διεθνούς Επιτροπής Προστασίας από Μη-Ιονίζουσες Ακτινοβολίες (ICNIRP). Επιπλέον, σε περίπτωση εγκατάστασης κατασκευής κεραιάς σε απόσταση μικρότερη από 300 μέτρα από την περίμετρο κτιριακών εγκαταστάσεων βρεφονηπιακών σταθμών, σχολείων, γηροκομείων και νοσοκομείων, τα επίπεδα έκθεσης του κοινού απαγορεύεται να υπερβαίνουν το 60% των ορίων της ICNIRP. Δηλαδή εφαρμόζονται ακόμα αυστηρότερα όρια σε σχέση με αυτά που ορίζονται από την ICNIRP, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 3. Επίπεδα αναφοράς, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, για το γενικό πληθυσμό σε συνήθεις εφαρμογές ασυρμάτων δικτύων. Τα επίπεδα αναφοράς που ισχύουν στην Ελλάδα αντιστοιχούν στο 70% (60%) των ορίων της ICNIRP.

Εφαρμογή	Ένταση Ηλεκτρικού πεδίου (V/m)	Ένταση Μαγνητικού πεδίου (A/m)	Πυκνότητα Ισχύος Ισοδύναμου Επιπέδου ΗΜ κύματος (W/m ²)
Κινητή τηλεφωνία 900 MHz (GSM)	28.7 (24.6)	0.08 (0.066)	3.15 (2.7)
Κινητή τηλεφωνία 1800 MHz (DCS)	40.6 (34.8)	0.11 (0.096)	6.3 (5.4)
Κινητή τηλεφωνία 2100 MHz (UMTS)	42.7 (36.6)	0.11 (0.096)	7 (6)

Οι κεραίες της κινητής τηλεφωνίας μπορεί να βρίσκονται κοντά (στα όρια του 70%) σε μονάδες εκτροφής αγροτικών ζώων. Πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται από αυτές τις κεραίες επηρεάζει την υγεία των ατόμων που βρίσκονται κοντά σε αυτές.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξετάσει την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας 900MHz, αντίστοιχη με αυτήν που εκπέμπεται από τις κεραίες της κινητής τηλεφωνίας, στο ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων, χρησιμοποιώντας τα ορνίθια και ως ζωικό μοντέλο πρόβλεψης για τις πιθανές επιπτώσεις της ακτινοβολίας στο ανοσοποιητικό σύστημα των ανθρώπων.

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν γονιμοποιημένα αυγά όρνιθας καθώς για αρκετές δεκαετίες το αναπτυσσόμενο έμβryo της όρνιθας θεωρείται ως ιδανικό μοντέλο για την έρευνα μηχανισμών ζωτικής σημασίας σε διάφορους τομείς βιολογικής έρευνας σε σχέση με τα υπόλοιπα ανώτερα σπονδυλωτά (Veicsteinas *et al.*, 1996). Η γρήγορη εμβρυογένεση της όρνιθας εμπλέκει εξελικτικούς μηχανισμούς που είναι όμοιοι με αυτούς των ανώτερων θηλαστικών, αλλά λαμβάνουν μέρος με μεγαλύτερη ταχύτητα. Επιπλέον, σε έναν φωτόκο οργανισμό, κάθε έκθεση του εμβρύου σε κάποιον εξωτερικό παράγοντα, όπως η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, επιδρά άμεσα στο έμβryo και στη διαδικασία της εμβρυϊκής ανάπτυξης και όχι έμμεσα μέσω του μητρικού οργανισμού (Ubeda *et al.*, 1994, Rajendra *et al.*, 2004).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος τα αυγά ακτινοβολήθηκαν κατά τις πρώτες 5 ημέρες της επώασης καθώς αυτές οι μέρες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παραπέρα διάπλαση του εμβρύου. Οι παράμετροι που μελετήθηκαν είναι η ενεργότητα του πλασμινογόνου της ουροκινάσης της κυτταρικής μεμβράνης και η παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα μακροφάγα και στα ετερόφιλα, και η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου στα μακροφάγα.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Υλικά

2.1.1 Επωαστική μηχανή

Χρησιμοποιήθηκαν δυο επωαστικές μηχανές μοντέλο FIEM MG επώασης/εκκόλαψης. Κάθε επωαστική μηχανή είχε τοποθετηθεί σε διαφορετικό δωμάτιο έτσι ώστε η επωαστική μηχανή της πειραματικής ομάδας να βρίσκεται αρκετά μακριά από αυτή του μάρτυρα. Οι επωαστικές μηχανές που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα είχαν τα παρακάτω χαρακτηριστικά (Εικ. 2.1.1.1):

1. Διαστάσεις: 53 εκ. μήκος x 58 εκ. βάθος x 55 εκ. ύψος.
2. Βάρος: 33-35 κιλά.
3. Τοίχους φτιαγμένους από ξύλο (MDF) καλυμμένο από πλαστικό πάχους 0,1 εκ..
4. Θερμόμετρο.
5. Υγρόμετρο.
6. Δύο πλαστικούς δίσκους με 30 αυγοθήκες σε κάθε δίσκο.
7. Ανεμιστήρα στο πίσω μέρος για την ομοιόμορφη κατανομή του ζεστού αέρα μέσα στην μηχανή.
8. Στρογγυλή αντίσταση παραγωγής θερμότητας.
9. Μηχάνημα για την αυτόματη στροφή των πλαστικών δίσκων αριστερά-δεξιά. Οι δίσκοι γυρνούσαν κατά 90° κάθε 1 ώρα.

Δεν χρησιμοποιήθηκαν μεταλλικοί δίσκοι για να μην επηρεάζεται η κατανομή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μέσα στην επωαστική μηχανή.



Εικόνα 2.1.1.1 Φωτογραφία του εσωτερικού της επωαστικής μηχανής

2.1.2 Πομπός ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και υπολογισμός δοσιμετρίας

Η παραγωγή του πομπού, που είχε ένα ελεγχόμενο τοπικό ταλαντωτή στα 900 MHz, τροφοδοτούνταν σε έναν ενισχυτή έτσι ώστε να δημιουργηθεί σήμα 1 W (+30dbm), το οποίο μεταφερόταν σε μια κεραία Yagi (6.2 dBi gain) με οριζόντια πόλωση. Η επωαστική μηχανή τοποθετήθηκε στο πεδίο εκπομπής της κεραίας, η οποία στόχευε στο μέσον της επωαστικής μηχανής. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για το μέγεθος του ηλεκτρικού πεδίου μπροστά στην επωαστική μηχανή με ένα μετρητή ακτινοβολίας SRM-3000 (Narda Safety Test Solutions, Pfullingnen, Germany). Η μέση τιμή της ισχύος του ηλεκτρικού πεδίου στα 900 MHz ήταν 1,79 V/m, ενώ η μέση τιμή της ισχύος, όταν ο πομπός ήταν κλειστός, ήταν λιγότερη από 0,013 V/m. Αυτό σημαίνει ότι τα αυγά εκτέθηκαν σε 135 φορές μεγαλύτερη ισχύ.

Η μέτρηση της δοσιμετρίας της έκθεσης πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό SEMCAD X (version 14.0 Aletsch, Schmid & Partner Engineering AG, Zurich, Switzerland). Το λογισμικό χρησιμοποιεί τη μέθοδο Finite-Difference Time-Domain (FDTD) για τη λύση του ηλεκτρομαγνητικού προβλήματος. Οι διηλεκτρικές ιδιότητες για τη λέκιθο και την αλβουμίνη του αυγού ελήφθησαν από Ragni et al., 2007. Στο μοντέλο χρησιμοποιήθηκε μια αρμονική πηγή επίπεδου κύματος, διαβαθμισμένη στις παραπάνω μετρήσεις του ηλεκτρικού πεδίου.

2.2 Χειρισμός αυγών

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 120 αυγά, κάθε φορά, από σμήνος Redbro (broiler) ηλικίας 32 εβδομάδων. Αμέσως μετά τη παραλαβή τους, τα αυγά αποθηκεύτηκαν για 5 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-21°C) και σχετική υγρασία 80%. Ύστερα τα αυγά χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες των 60 αυγών, και τοποθετήθηκαν στις επωαστικές μηχανές. Τα αυγά επώαστηκαν τις 18 πρώτες ημέρες στους 37,5-37,7 °C και σε σχετική υγρασία 55-65%, και τις 3 τελευταίες ημέρες στους 36,1-37,2 °C και σε σχετική υγρασία 70-75%.

Η επωαστική μηχανή των αυγών της πειραματικής ομάδας τοποθετήθηκε 2 μ. μακριά από την κεραία εκπομπής. Το πρωτόκολλο της έκθεσης περιελάμβανε 900 MHz συνεχόμενης έκθεσης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας κατά τη διάρκεια των πέντε πρώτων ημερών της επώασης. Ο μέσος ρυθμός ειδικής απορρόφησης (SAR) στα εκτεθειμένα αυγά προσδιορίστηκε, όπως παραπάνω αριθμητικά, σε $0,13 \pm 0,03$ mW/kg.

2.3 Χειρισμός ορνίθων

Μία μέρα μετά την εκκόλαψη των εμβρύων, τα ορνίθια μεταφέρθηκαν σε κλωβοστοιχίες όπου υπήρχαν θερμομητέρες. Η πειραματική ομάδα και ο μάρτυρας ήταν σε ξεχωριστές κλωβοστοιχίες. Τα ορνίθια καταλάωναν τροφή και νερό κατά βούληση. Στα ορνίθια δεν χορηγήθηκαν εμβόλια ή φάρμακα έτσι ώστε να μην επηρεαστούν οι μετρήσεις για το ανοσολογικό σύστημα.

2.4 Αιμοληψίες- Χειρισμός αίματος

Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν κατά την 1^η, 7^η, 14^η, 21^η ημέρα ηλικίας των ορνίθων, με σκοπό την απομόνωση των μακροφάγων και των ετερόφιλων. Σε κάθε αιμοληψία, συλλέχθηκαν 4 δείγματα αίματος από κάθε ομάδα.

Τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα απομονώθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο των Politis et al. (1995; 2001), η οποία περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

- Ανάμειξη 5 ml αίματος με 5 ml αλατώδους ρυθμιστικού διαλύματος (ΑΡΔ; Hanks Balanced Salt Solution, Sigma).
- Τοποθέτηση του μίγματος στο πάνω μέρος στοιβάδας 6,5 ml διαλύματος πολυσουκρόζης και διατριζοϊκού νατρίου, πυκνότητας 1,077 g/ml (Histopaque, Sigma), σε πλαστικό σωλήνα 50 ml τύπου Falcon.
- Φυγοκέντρηση μίγματος στα 500 × g στους 4 °C για 45 λεπτά. Μετά τη φυγοκέντρηση παρατηρείται σχηματισμός 3 καλά διαχωριζόμενων στοιβάδων: πάνω, ενδιάμεση και κάτω.
- Ανάκτηση των μακροφάγων που βρίσκονται στην ενδιάμεση στοιβάδα (Politis et al., 2001) με πλαστική πιπέτα.
- Έκπλυση των κυττάρων με ΑΡΔ.
- Λύση του μικρού αριθμού ερυθροκυττάρων στην ανωτέρω στοιβάδα, με την προσθήκη 20 ml νερού διπλής απόσταξης για 45 δευτερόλεπτα.
- Αποκατάσταση ισοτονικότητας του διαλύματος με προσθήκη 10 ml αποστειρωμένου διαλύματος NaCl (2,7%).
- Φυγοκέντρηση μακροφάγων στα 1000 × g στους 4 °C για 5 λεπτά.
- Ανάκτηση των κυττάρων σε νέο ΑΡΔ. Η τελική συγκέντρωση των μακροφάγων στο ανώτερο διάλυμα ήταν 1×10^6 κύτταρα / ml διαλύματος. Η καταμέτρηση των κυττάρων έγινε σε πλάκα Burger.

Τα ουδετερόφιλα μαζί με τα ερυθρά αιμοσφαίρια εντοπίζονται στην κάτω στοιβάδα μετά τη φυγοκέντρηση (Politis et al., 2001). Για την απομόνωσή τους πραγματοποιήθηκαν τα εξής βήματα:

- Ανάκτηση όλων των κυττάρων της κάτω στοιβάδας με πλαστική πιπέτα.
- Λύση των ερυθροκυττάρων με την προσθήκη 20 ml νερού διπλής απόσταξης για 45 δευτερόλεπτα.
- Αποκατάσταση ισοτονικότητας του διαλύματος με προσθήκη 10 ml αποστειρωμένου διαλύματος NaCl (2,7%).
- Φυγοκέντρηση ουδετερόφιλων στα 1000 × g στους 4 °C για 5 λεπτά.
- Ανάκτηση των κυττάρων σε νέο ΑΡΔ. Η τελική συγκέντρωση των μακροφάγων στο ανώτερο διάλυμα ήταν 1×10^6 κύτταρα / ml διαλύματος. Η καταμέτρηση των κυττάρων έγινε σε πλάκα Burger.

2.5 Προσδιορισμός της ενεργότητας του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης

Ο ΕΠ-Ο που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη είναι ενεργό ένζυμο και για αυτό το λόγο η ενεργότητά του μπορεί να μετρηθεί σε «ζωντανά» ενεργοποιημένα με οξική μυριστική φορβόλη (ΟΜΦ, 80 μM), μονοκύτταρα-μακροφάγα και ουδετερόφιλα (Politis et al., 2001). Για τον προσδιορισμό της ενεργότητας ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

- Φυγοκέντρηση των μακροφάγων και ουδετερόφιλων (2×10^6 ml) σε πλαστικά φιαλίδια τύπου Ependorf στα $11000 \times g$ στους 4°C για 5 λεπτά.
- Ανάκτηση των κυττάρων σε ΑΡΔ, στο οποίο προστέθηκε ΟΜΦ (0 ή 80 μM). Το διάλυμα επώαστηκε στους 37°C για 30 λεπτά.
- Φυγοκέντρηση των κυττάρων στα $11000 \times g$ στους 4°C για 5 λεπτά.
- Ανάκτηση των κυττάρων σε ΑΡΔ.
- Τοποθέτηση κυττάρων σε 250 μl ρυθμιστικού διαλύματος Tris (100 mM) του οποίου το pH ρυθμίστηκε στο 8,0, για τον προσδιορισμό της ενεργότητας του ΕΠ-Ο στην κυτταρική μεμβράνη.

Το διάλυμα του Tris περιέχει επίσης 100 mM NaCl, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ πλασμινογόνο (Sigma), 0,6 mM χρωμογενικό υπόστρωμα βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης (Sigma). Το μίγμα της αντίδρασης επώαστηκε για 2 ώρες και η απορρόφηση μετρήθηκε φασματομετρικά ανά 30 λεπτά στα 405 nm, σύμφωνα με τη τεχνική της ELISA. Ο ρυθμός σχηματισμού της π-νιτροανιλίνης μετρήθηκε στο γραμμικό μέρος της καμπύλης της απορρόφησης σε σχέση με το χρόνο. Ως μάρτυρας, χρησιμοποιήθηκε ένα δείγμα χωρίς πλασμινογόνο.

Η παραπάνω μέθοδος βασίζεται στην ακόλουθη αρχή: ο ΕΠ-Ο που βρίσκεται στη κυτταρική μεμβράνη, μετατρέπει το εξωγενούς προέλευσης πλασμινογόνο, που προστίθεται στο διάλυμα της τελικής αντίδρασης, στο ενεργό ένζυμο πλασμίνη. Η πλασμίνη που παράγεται υδρολύει ακολούθως το χρωμογενικό υπόστρωμα της βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης, απελευθερώνοντας την τελευταία. Το υπόστρωμα της βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης στη μη διασπασθείσα του μορφή δεν απορροφά το φως στα 405 nm. Αντίθετα, η ελεύθερη π-νιτροανιλίνη απορροφά το φως και η απορρόφηση μπορεί να μετρηθεί στα 405 nm. Στο σύστημα αυτό, οι αλλαγές της απορρόφησης του φωτός συνδέονται άμεσα με τη συγκέντρωση της πλασμίνης και ως εκ τούτου εμμέσως με την ενεργότητα του ΕΠ-Ο.

Για να περιοριστεί στο ελάχιστο η πιθανότητα να υπάρξει λύση των κυττάρων, με αποτέλεσμα μια ποσότητα ΕΠ-Ο να μεταφερθεί στο διάλυμα, τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα απομακρύνθηκαν με φυγοκέντρηση πριν και μετά από κάθε προσδιορισμό. Δεν ανιχνεύτηκε ενεργότητα του ΕΠ-Ο στο διάλυμα μετά την απομάκρυνση των κυττάρων. Αυτό υποδεικνύει, ότι δε μεταφέρθηκε στο διάλυμα καμία ποσότητα ΕΠ-Ο απ' το εσωτερικό του κυττάρου. Οι αλλαγές που παρατηρούνται στην απορρόφηση οφείλονται στην μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη από

τον ευρισκόμενο στην κυτταρική μεμβράνη ως ενεργό ένζυμο ΕΠ-Ο. Η βιωσιμότητα των κυττάρων κατά τη διάρκεια της αντίδρασης ήταν πάντα μεγαλύτερη από 97%.

2.6 Προσδιορισμός της παραγωγής ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου

Η παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου, άμεσου δείκτη της ενεργοποιημένης αναπνευστικής λειτουργίας, μετρήθηκε με τη χρησιμοποίηση του ενζύμου της δεσμουτάσης του υπεροξειδίου (Politis et al., 1995). Τα κύτταρα, (2×10^6 / ml) σε 1,4 ml ΑΡΔ, επώαστηκαν με την παρουσία ή την απουσία 10 μ l δεσμουτάσης του υπεροξειδίου (3 mg/ml, Sigma) για 2 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 0,1 ml κυτοχρώματος C τύπου IV (35 mg/ml, Sigma), καθώς επίσης και 1,5 ml ΟΜΦ (2 mg/ml). Μετά από επώαση 10 λεπτών, ακολούθησε φυγοκέντρηση των κυττάρων στα $1500 \times g$ για 20 λεπτά. Το υπερκείμενο διάλυμα συλλέχθηκε και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 550 nm. Η ποσότητα του παραχθέντος ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου υπολογίστηκε ως η διαφορά μεταξύ του ποσού που παράχθηκε παρουσία ή απουσία της δεσμουτάσης του υπεροξειδίου.

2.7 Προσδιορισμός της παραγωγής οξειδίου του αζώτου

Η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου μετρήθηκε χρησιμοποιώντας τη δημοσιευμένη μέθοδο των Lee et al., 2009. Τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν εις τριπλούν σε 1×10^7 κύτταρα/ ml σε πλάκα 96 τρυπών (100 μ l/ τρύπα) στα 41 °C και 5 % CO₂ για 24 ώρες με 1.0 μ g/ml ανασυνδιασμένη ιντερφερόνη- γ (IFN- γ) (Song et al., 1997) ή με αρνητικούς ελέγχους (PBS) (Lillehoj et al., 2004). Τα υπερκείμενα των καλλιιεργειών (100 μ l) μεταφέρθηκαν σε καθαρή πλάκα 96 τρυπών, και προστέθηκαν 100 μ l αντιδραστηρίου Griess (sigma). Επώαστηκαν για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα στα 540 nm (OD₅₄₀). Η συγκέντρωση του οξειδίου του αζώτου προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας κανονική καμπύλη που δημιουργήθηκε με γνωστές συγκεντρώσεις νιτρώδους νατρίου.

2.8 Στατιστική επεξεργασία

Τα δεδομένα αναφορικά με τις μετρήσεις, υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης με σταθερούς παράγοντες την πειραματική ομάδα (n=1,2) και την εβδομάδα δειγματοληψίας (n=1,2,3,4). Πριν την ανάλυση τα στοιχεία υποβλήθηκαν σε λογαριθμικό μετασχηματισμό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ($\mu.o. \pm T.S.$). Η ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα SAS (2002).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

3.1 Ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης

Στο διάγραμμα 3.1.1. παρουσιάζεται η επίδραση της ακτινοβολίας στην ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης των μακροφάγων και των ετερόφιλων. Η ακτινοβολία επέδρασε σημαντικά ($P < 0,05$) στην ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης στα μακροφάγα και τα ετερόφιλα. Συγκεκριμένα η ενεργότητα της κυτταρικής μεμβράνης ήταν μειωμένη στην πειραματική ομάδα κατά 36% στα μακροφάγα και κατά 43,9% στα ετερόφιλα. Ακόμα παρατηρήθηκε ότι η ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης ήταν μεγαλύτερη στα ετερόφιλα σε σχέση με τα μακροφάγα.



-Ο της κυτταρικής
κυττάρων.

Ο ΕΠ-Ο, όπως αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος, εμπλέκεται στο μηχανισμό της χημειοταξίας. Τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα απομακρύνονται από τη κυκλοφορία του αίματος ως απάντηση στους χημειοτακτικούς παράγοντες που απελευθερώνονται κατά την καταστροφή ενός ιστού από μόλυνση, τραυματισμό ή και τα δύο. Η μετανάστευση των μακροφάγων ή των ετερόφιλων σε έναν μολυσμένο ή τραυματισμένο ιστό είναι μια τυπική απάντηση σε μια φλεγμονώδη αντίδραση. Τα ετερόφιλα και τα μακροφάγα ξεκινούν τη μετανάστευσή του (ή αλλιώς χημειοταξία) με το να διεισδύουν μέσα από τριχοειδή αγγεία, μια διαδικασία γνωστή ως διαπίδυση. Στο πρώτο στάδιο της διαπίδυσης, τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα, πιθανότατα καθοδηγούμενα από τους χημειοτακτικούς παράγοντες που βρίσκονται στο κυκλοφορικό σύστημα, έρχονται σε επαφή με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η

αλληλεπίδραση των φαγοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων διευκολύνεται με την έκφραση αρκετών προσκολλημένων στη κυτταρική μεμβράνη μορίων (CAMs) που βρίσκονται και στους δύο αυτούς τύπους κυττάρων. Τα λευκοκύτταρα καθοδηγούνται από τα CAMs που ενεργούν σαν "φανάρια" πληροφορώντας τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα που πρέπει να εισέλθουν, να εξέλθουν, να σταματήσουν ή να πάνε πιο σιγά (Klein & Horejsi, 1997; Politis, 1996, 2000).

Τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα, για να ξεπεράσουν τους φραγμούς των τοιχωμάτων των αγγείων, χρησιμοποιούν μια περιορισμένη πρωτεολυτική δραστηριότητα κατά την επαφή τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Plesner et al., 1994). Τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα εκφράζουν τον υποδοχέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (ΥΠΕ-Ο, CD 87). Τυπικά, οι ΥΠΕ-Ο παρατηρούνται σε όλα τα μεταναστευτικά κύτταρα (Sitrin et al., 2000). Ο ΕΠ-Ο μπορεί να προσδεθεί στον υποδοχέα του διατηρώντας την ενζυμική του δραστηριότητα. Έτσι, ο υποδοχέας δεσμεύει τον ΕΠ-Ο ο οποίος μετατρέπει το προένζυμο (ζυμογόνο) πλασμινογόνο σε ενεργό ένζυμο πλασμίνη. Η ενεργοποίηση του πλασμινογόνου στην ενεργό πλασμίνη περιλαμβάνει τη διάσπαση ενός πεπτιδικού δεσμού, που έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή του μορίου από πρωτεΐνη μονής αλυσίδας σε πρωτεΐνη διπλής αλυσίδας που συγκρατείται με δύο δισουλφιδικούς δεσμούς. Η πλασμίνη είναι ικανή να διασπά συγκεκριμένα σύμπλοκα συστατικά της βασικής κυτταρικής μεμβράνης των κυττάρων του ενδοθηλίου, αλλά και να ενεργοποιεί άλλα ένζυμα, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι οποίες αποδομούν περαιτέρω άλλα σύμπλοκα συστατικά (Politis, 1996, 2000).

Ο ΕΠ-Ο συντίθεται ως πρωτεΐνη μονής αλυσίδας. Η αλληλουχία των αμινοξέων του ενζύμου στα ορνίθια έχει αποσαφηνιστεί πλήρως κατά τη μελέτη της Leslie et al. (1989) και αποτελείται από 414 αμινοξέα με μοριακό βάρος 47.183. Ο ΕΠ-Ο απαντάται σε δύο μορφές: με τη μορφή της μονής και τη μορφή της διπλής αλυσίδας.

Η ακολουθία του cDNA έδειξε ότι το mRNA του ΕΠ-Ο των ορνίθων είναι 2.500 νουκλεοτίδια σε μέγεθος και περιέχει μια μεγάλη 3'-μη κωδικοποιημένη περιοχή (998 νουκλεοτίδια). Η ομοιότητα των ακολουθιών των ΕΠ-Ο πρωτεϊνών των ορνίθων και των ανθρώπων είναι 43,1%. Το cDNA του ΕΠ-Ο των ορνίθων είναι παρόμοιο με αυτό των θηλαστικών τόσοσον αφορά στο μέγεθος (8.158 ζευγάρια βάσεων μεταξύ της έναρξης μεταγραφής και πολυαδενυλιακών ακολουθιών (polyadenylation sites)) όσο και στην οργάνωση (11 εξώνια). Παρόλα αυτά, η αλληλουχία στο γονίδιο ΕΠ-Ο των ορνίθων είναι ίδια με αυτή των θηλαστικών μόνο στα τμήματα των εξώνιων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (Leslie et al., 1989).

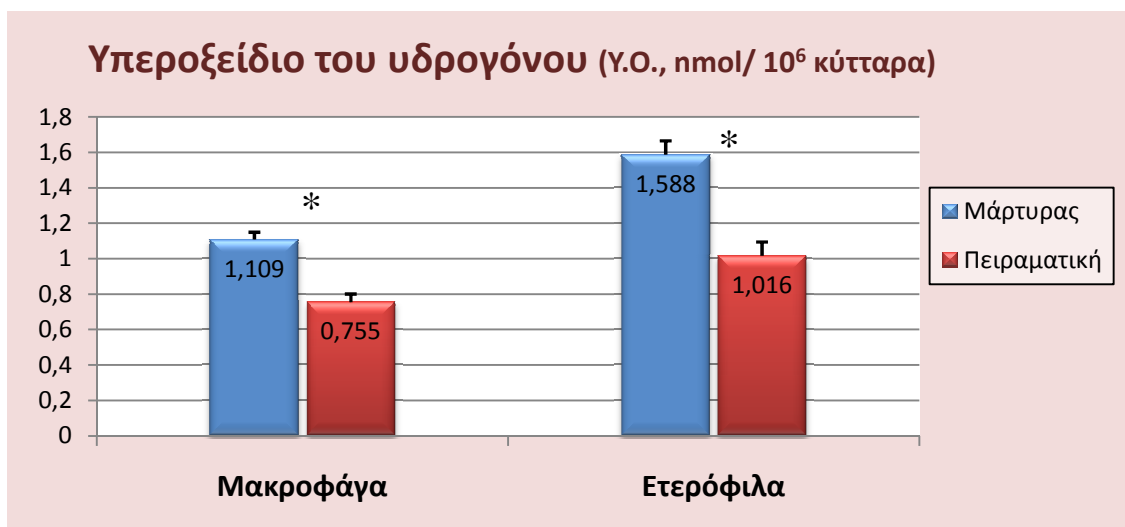
Η γρήγορη μεταφορά των φαγοκυττάρων είναι ένα σημαντικό βήμα για τη άμυνα του οργανισμού. Αποτυχία ή καθυστέρηση στη μεταφορά των φαγοκυττάρων στο σημείο της μόλυνσης έχει σημαντικές επιπτώσεις. Η μειωμένη παραγωγή του ΕΠ-Ο δρα αρνητικά στη διαπίδυση των μακροφάγων και των ετερόφιλων. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες (ενδεικτικά Worely et al., 2006; Bauvois et al., 1996; Rhodes et al., 1983) που αφορούν στην ταχύτητα κίνησης των φαγοκυττάρων υπό την επίδραση διαφόρων χημειοτακτικών παραγόντων *in vitro*. Αν και εκτιμάται ότι

η μείωση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο θα προκαλέσει καθυστέρηση στην προσέγγιση των φαγοκυττάρων στο σημείο της μόλυνσης, η ακριβής επίπτωση αποτελεί ακόμα αντικείμενο ερευνών σε εξέλιξη.

Γενικά η μείωση της χημειοτακτικής ικανότητας των φαγοκυττάρων απέχει, αρκετά από τον όρο της ανοσοκαταστολή αλλά λογικό συμπέρασμα θα ήταν η επίδραση στην εξέλιξη μιας φλεγμονής και τη χρονική διάρκεια αυτής.

3.2 Παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου

Η επίδραση της ακτινοβολίας στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Υ.Ο.) από τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.2.1. Η ακτινοβολία επέδρασε σημαντικά ($P < 0,05$) στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου από τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα. Συγκεκριμένα η παραγωγή των ανιόντων του υπεροξειδίου του υδρογόνου ήταν μειωμένη κατά 31,9% στα μακροφάγα και κατά 36% στα ετερόφιλα των ατόμων-μελών της πειραματικής ομάδας σε σχέση με αυτών του μάρτυρα. Επιπλέον, η παραγωγή των ανιόντων του υπεροξειδίου του υδρογόνου ήταν μεγαλύτερη στα ετερόφιλα σε σχέση με τα μακροφάγα.



γή ανιόντος του
κροφάγα και τα

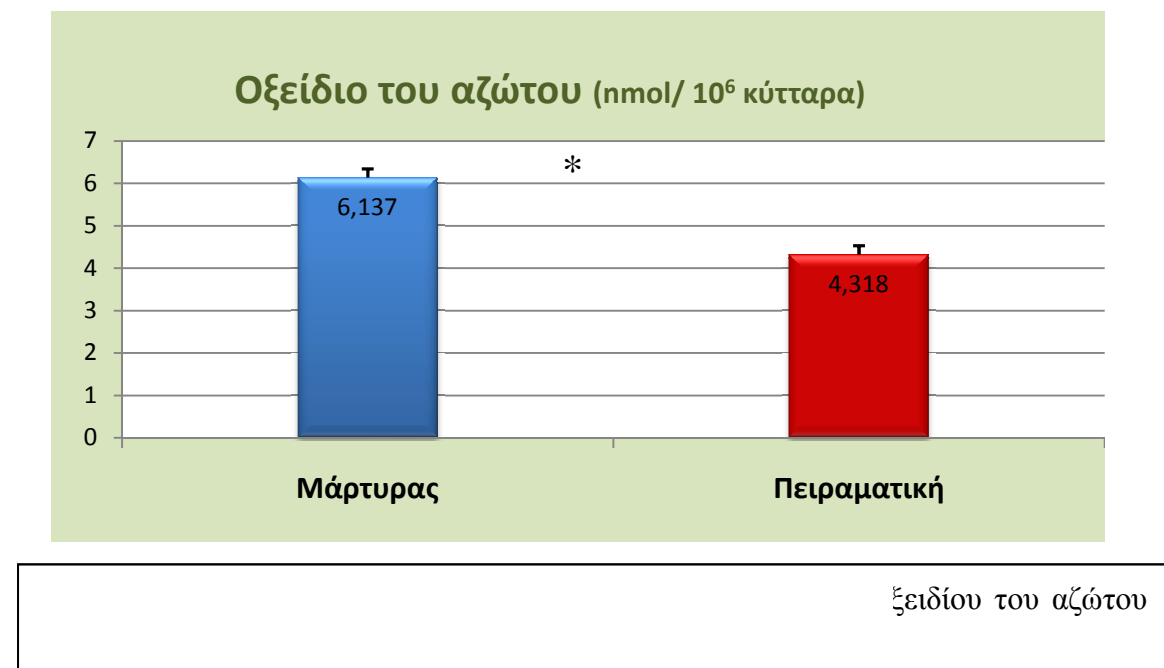
Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται και βοηθάει τη φαγοκυττάρωση ξένων ουσιών καθώς παράγει βακτηριοκτόνες αντιδραστικές οξυγονούχες ουσίες (αναπνευστική έκρηξη). Η αναπνευστική έκρηξη είναι μια διαδικασία κατά την οποία όξινοι μεταβολίτες, τοξικοί για τα εισερχόμενα μικρόβια, παράγονται από

ενεργοποιημένα μακροφάγα και ετερόφιλα. Η αναπνευστική έκρηξη περιλαμβάνει ένα σύμπλεγμα ενζύμων που λέγεται NADPH οξειδάση. Η NADPH οξειδάση βρίσκεται στο πλάσμα του αίματος και στη μεμβράνη των μακροφάγων και των ετερόφιλων. Το σύμπλεγμα αυτό καταλύει τη μετατροπή του μοριακού οξυγόνου σε σουπεροξειδίου ανιόν συνοδευόμενο με τη μετατροπή του NADPH σε NADP. Μόλις παραχθούν τα σουπεροξειδικά ανιόντα, διαχωρίζονται αμέσως σε υπεροξειδίου του υδρογόνου, ρίζες υδροξειλίου και μονοατομικά οξυγόνα, το σύνολο των οποίων έχει ως αποτέλεσμα τη παύση των φυσιολογικών λειτουργιών των μικροοργανισμών που έχουν φαγοκυτταρωθεί από τα φαγοκύτταρα (Allen & Adersen, 1996).

Η μείωση της παραγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου που παρατηρήθηκε στη παρούσα έρευνα ήταν ανάλογη με τη μείωση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο. Οι πιθανές αρνητικές συνέπειες στην ανοσοϊκανότητα του οργανισμού από την μείωση της παραγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου απαιτείται να αποτελέσει αντικείμενο ιδιαίτερης μελέτης, καθώς μια παράταση του χρόνου εκκαθάρισης της μόλυνσης είναι πιθανή σύμφωνα με το θεωρητικό μοντέλο. Ο χρόνος αντίδρασης των μηχανισμών ανοσίας είναι σημαντικός για την εξέλιξη μιας μόλυνσης συγκρινόμενος με το ρυθμό πολλαπλασιασμού του εισβολέα-παράγοντα μόλυνσης.

3.3 Παραγωγή οξειδίου του αζώτου

Η επίδραση της ακτινοβολίας στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου από τα μακροφάγα παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.3.1. Η επίδραση της ακτινοβολίας ήταν σημαντική ($P < 0,05$) στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου από τα μακροφάγα. Συγκεκριμένα η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου ήταν μειωμένη κατά 29,6% στα μακροφάγα των ατόμων-μελών της πειραματικής ομάδας σε σχέση με αυτών του μάρτυρα.



Το οξειδίο του αζώτου (NO) είναι ένα πολυλειτουργικό μόριο, που δρα ως αγγειοδιασταλτικός, νευροδιαβιβαστικός και ρυθμιστικός παράγοντας των φλεγμονωδών διεργασιών (Sild & Horak, 2009). Επίσης συμβάλλει σε μια πρόσθετη διεργασία καταστροφής των φαγοκυτταρούμενων στόχων. Τα μακροφάγα συνθέτουν το NO από ένα τερματικό γουανιδικό αζωτούχο άτομο της L-αργινίνης η οποία μετατρέπεται σε L-κιτρουλίνη χωρίς την απώλεια ενός γουανιδικού ατόμου άνθρακα (Hibbs et al., 1988). Παρουσία δραστικών προϊόντων του οξυγόνου, μέσα στα φαγοκυτταρικά κυστίδια, το NO μετατρέπεται σε διάφορους άλλους παράγοντες (π.χ. υπεροξυνιτρίδιο), που είναι εξαιρετικά τοξικοί για τα βακτήρια, τη ζύμη, του ιούς και άλλα παθογόνα (Γερμενής, 2000).

Η αντιμικροβιακή και κυτοτοξική δραστηριότητα του NO ενισχύεται από άλλα παράγωγα των μακροφάγων όπως τα οξέα, η γλουταδιόνη, η κυστεΐνη και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (MacMicking et al., 1997). Οι οξειδωτικοί οδοί του NO και του υπεροξειδίου του υδρογόνου είναι από τους πιο αποτελεσματικούς αντιμικροβιακούς μηχανισμούς που διαθέτουν τα φαγοκύτταρα. Η δραστηριότητά τους αποδεικνύεται από την ιδιαίτερα αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου που παρατηρείται αμέσως μετά από τη φαγοκυττάρωση, διαρκεί για 3 περίπου ώρες και ονομάζεται, όπως προαναφέρθηκε, «αναπνευστική έκρηξη» (Γερμενής, 2000). Ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ της παραγωγής οξειδίου του αζώτου και της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου βρέθηκε, στη παρούσα έρευνα, να είναι 0,451 και να είναι στατιστικά σημαντικός.

Στη παρούσα έρευνα καταγράφηκε ελάχιστο μικρότερο ποσοστό μείωσης της παραγωγής του NO σε σχέση με τη μείωση της παραγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Και οι δυο αυτοί παράγοντες συμβάλλουν στην αποτελεσματικότητα του φαγοκυτταρικού μηχανισμού, και ως εκ τούτου, οι μειωμένες τιμές που καταγράφηκαν έχουν ως αποτέλεσμα και την ανάλογη μείωση της φαγοκυτταρικής ικανότητας.

3.4 Επίδραση της ηλικίας στην ενεργότητα ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης

Η επίδραση της ηλικίας στην ενεργότητα ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης των μακροφάγων και των ετερόφιλων παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.4.1. Στα μακροφάγα παρατηρήθηκε μικρή και μη στατιστικώς σημαντική ($P > 0,05$) αύξηση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης. Όσον αφορά στα ετερόφιλα διαπιστώθηκε μεταξύ πρώτης και τετάρτης εβδομάδας της ηλικίας μια στατιστικώς σημαντική ($P < 0,05$) αύξηση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο η οποία όμως δεν ήταν σταθερή σε όλο το εξεταζόμενο χρονικό διάστημα, καθώς την τρίτη εβδομάδα της ηλικίας παρατηρήθηκε μια μη στατιστικώς σημαντική μείωση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο σε σχέση με την δεύτερη εβδομάδα της ηλικίας.



Ο της κυτταρικής
v.

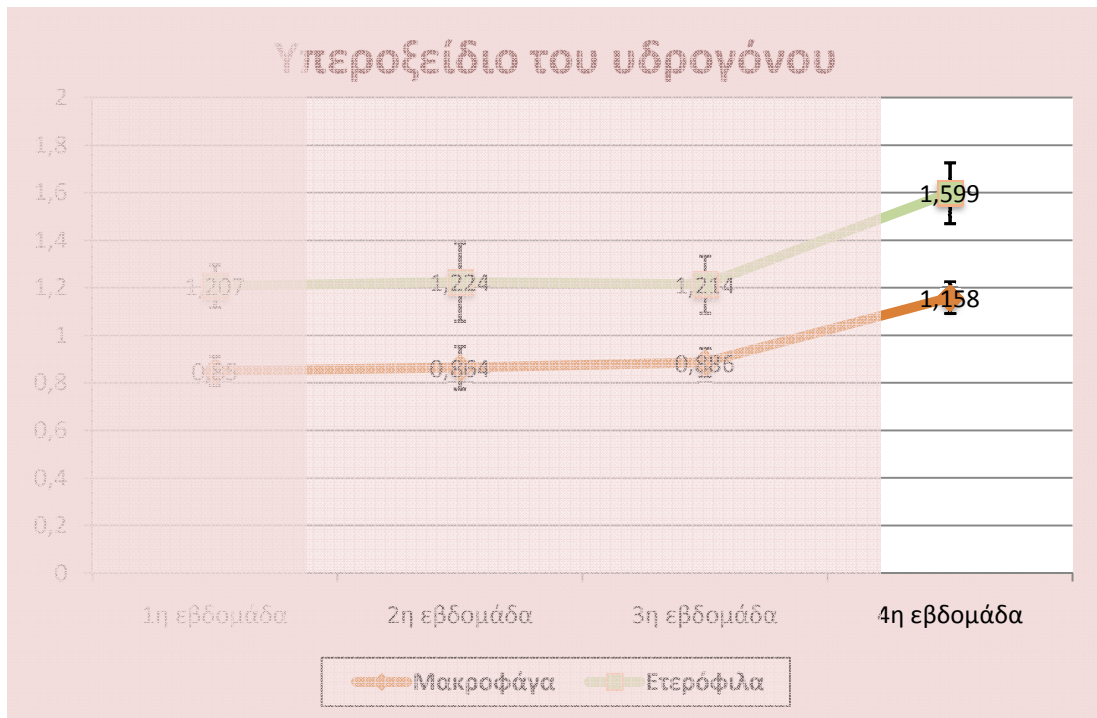
Στο πείραμα της Fragou et al. (2004) η ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης των μακροφάγων και των ετερόφιλων των χοιριδίων, διπλασιάστηκε από την 12^η στην 24^η ημέρα μετά τον απογαλακτισμό. Πιο συγκεκριμένα ο ΕΠ-Ο των μακροφάγων την 12^η ημέρα ήταν 0,10 (ΔΑ/h/10⁶ cells) και την 24^η ημέρα ήταν 0,23, και ο ΕΠ-Ο των ετερόφιλων ήταν 0,16 και 0,29 αντίστοιχα. Η λογική εξήγηση που δίνει η συγγραφέας για την δραματική αύξηση των παραμέτρων στο πείραμα που διεξήγαγε μεταξύ της ημέρας 0-36, ήταν η μετάβαση του ανοσοποιητικού συστήματος των χοιριδίων, από το στάδιο της ανωριμότητας στην κατάσταση της ωριμότητας. (με δεδομένο ότι ο θηλασμός διαρκεί 21 ημέρες, η πραγματική ηλικία των χοιριδίων κατά τα στάδια του πειράματος ήταν 21, 33, 45 και 57 ημερών αντίστοιχα).

Λαμβάνοντας υπόψη το προηγούμενο συμπέρασμα θα μπορούσαμε αντίστοιχα να ισχυριστούμε ότι η σταθερότητα της ενεργότητας του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης των μακροφάγων κατά το πειραματικό διάστημα της παρούσας εργασίας υποδηλώνει ότι τα ορνίθια γεννιούνται με ένα συγκριτικά ώριμο ανοσοποιητικό σύστημα.

3.5 Επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου

Η επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου από τα μακροφάγα και τα ετερόφιλα παρουσιάζεται στα διάγραμμα 3.5.1.

Παρατηρείται σταθερότητα στην παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου από την πρώτη ως την τρίτη εβδομάδα του πειράματος και μια μικρή αύξηση την τέταρτη εβδομάδα, η οποία ήταν στατιστικώς σημαντική ($P < 0,05$) μόνο όσον αφορά τα μακροφάγα.

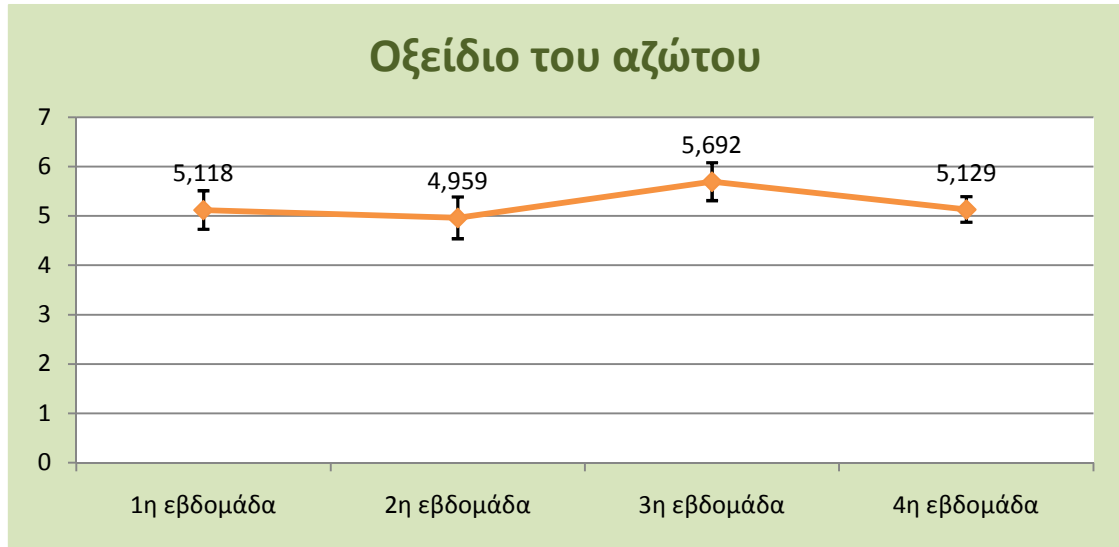


ου υπεροξειδίου
ριλα.

Όπως και στη προηγούμενη παράγραφο, στο πείραμα της Fragou et al. (2004) η παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου των μακροφάγων και των ετερόφιλων των χοιριδίων, διπλασιάστηκε από την 12^η στην 24^η ημέρα μετά τον απογαλακτισμό τους. Πιο συγκεκριμένα το υπεροξείδιο του υδρογόνου των μακροφάγων την 12^η ημέρα ήταν 0,07 (nmol/10⁶ cells) και την 24^η ημέρα ήταν 0,14, και το υπεροξείδιο του υδρογόνου των ετερόφιλων ήταν 0,11 και 0,22 αντίστοιχα. Έτσι, ως λογικό συμπέρασμα και αυτής της μετρήσεως, όσον αφορά στα ορνίθια, εξάγεται ότι γεννιούνται με ένα συγκριτικά ώριμο ανοσοποιητικό σύστημα.

3.6 Επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου

Η επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου από τα μακροφάγα παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3.6.1. Η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου παρέμεινε σχετικά σταθερή κατά τη διάρκεια του πειράματος, με μικρές αυξομειώσεις οι οποίες δεν είχαν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους ($P > 0,05$).



Διάγραμμα 3.6.1 Επίδραση της ηλικίας στην παραγωγή οξειδίου του αζώτου από τα μακροφάγα.

Γενικά, λαμβάνοντας υπόψη όσα προαναφέρθηκαν στις παραγράφους 3.4, 3.5 και 3.6 και αφορούν στη σχέση της ηλικίας με την ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος, υποδεικνύουν ότι τα ορνίθια γεννιούνται με ένα συγκριτικά ώριμο ανοσοποιητικό σύστημα καθώς δεν υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές από την 1^η ως την 4^η εβδομάδα της ηλικίας τους και τα αποτελέσματα παραμένουν σχετικά σταθερά κατά τη πάροδο του χρόνου.

Αντίθετα το ανοσοποιητικό σύστημα των χοιριδίων είναι ανώριμο για 3-4 εβδομάδες μετά τη γέννησή τους και για αυτό τα νεογέννητα χοιρίδια εξαρτώνται από τη μητρική πηγή ανοσίας που είναι το πρωτόγαλα.

Τέλος πρέπει να επισημανθεί ότι η ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης και η παραγωγή του ανιόντος του υπεροξειδίου ήταν πάντα μεγαλύτερες στα ετερόφιλα σε σχέση με τα μακροφάγα. Η ανωτέρω διαπίστωση, εξηγεί τη μικρή διάρκεια ζωής των ετερόφιλων (4-5 ημέρες), η οποία σε περιπτώσεις σοβαρών λοιμώξεων, περιορίζεται σε λίγες μόνο ώρες και αυτό γιατί μετακινούνται ταχύτατα στην περιοχή της λοίμωξης, επιτελούν την λειτουργία τους και κατά τη διεργασία αυτή, λόγω της μεγάλης τους δραστηριότητας, καταστρέφονται και τα ίδια. Αντίθετα τα μακροφάγα μπορούν να ζήσουν επί μήνες ή χρόνια (Guyton & Hall, 2000)

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα έρευνα εξέτασε την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας συχνότητας 900 MHz και ισχύος 1,79 V/m στο ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων. Συγκεκριμένα οι παράμετροι που αναλύθηκαν ήταν: α) η ενεργότητα του πλασμινογόνου της ουροκινάσης (ΕΠ-Ο) της κυτταρικής μεμβράνης η οποία συνδέεται με τη χημειοταξία, δηλαδή με τη ταχύτητα προσέλευσης των φαγοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής, β) η παραγωγή του ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου και η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου τα οποία συνδέονται με τη φαγοκυττάρωση μικροοργανισμών.

Το βασικό συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η έκθεση των εμβρύων της όρνιθας στη συγκεκριμένη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει αρνητική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης ήταν μειωμένη κατά 36% στα μακροφάγα και κατά 43,9% στα ετερόφιλα, η παραγωγή του ανιόντος του υπεροξειδίου του υδρογόνου κατά 31,9% και 36% αντίστοιχα, και η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου μειωμένη κατά 29,6% στα μακροφάγα.

Οι παραπάνω μειωμένες τιμές των μετρήσεων παρόλα αυτά δεν θα πρέπει να ερμηνευτούν ως πλήρης καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος. Ενδεικτικά κανένα από τα ορνίθια δεν απεβίωσε μέχρι το τέλος του πειράματος. Ως εκ τούτου, το ανοσοποιητικό σύστημα πιθανότατα επαρκεί για την προστασία του οργανισμού από μικροοργανισμούς ή σωματίδια και με αυτές τις μειωμένες τιμές.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δεν μπορούν να συγκριθούν με αντίστοιχες παλαιότερες μελέτες, καθώς δεν έχει μελετηθεί ξανά η επίδραση της έκθεσης σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συχνότητας 900MHz, κατά τις 5 πρώτες ημέρες της επώασης, στο ανοσοποιητικό σύστημα των ορνίθων. Υπάρχουν μελέτες που έγιαναν σε διάφορα υποκείμενα και με διαφορετικές συχνότητες ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, οι οποίες έδειξαν ανάλογες αρνητικές επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα, όμως υπάρχει και ικανός αριθμός μελετών οι οποίες, αντίθετα με τη παρούσα έρευνα, δεν κατέγραψαν οποιαδήποτε σημαντική επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα διαφόρων υποκειμένων.

Παράλληλη παρατήρηση της παρούσας έρευνας αποτέλεσαν οι μεταβολές των παραπάνω παραγόντων κατά το χρονικό διάστημα μετά την εκκόλαψη και μέχρι την τέταρτη εβδομάδα της ηλικίας των ορνίθων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όσον αφορά στα μακροφάγα, η ενεργότητα του ΕΠ-Ο της κυτταρικής μεμβράνης ήταν σταθερή καθ' όλο το εξεταζόμενο χρονικό διάστημα, όπως επίσης σταθερή ήταν και η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου, ενώ σχετικά σταθερή μετρήθηκε και η παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου η οποία έδειξε μικρή αύξηση μόνο μεταξύ τρίτης και τέταρτης εβδομάδας. Όσον αφορά στα ετερόφιλα, τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της ενεργότητας του ΕΠ-Ο κατά τα εξεταζόμενο χρονικό διάστημα με διπλασιασμό των επιπέδων μεταξύ τέταρτης και πρώτης εβδομάδας, ενώ αντίθετα τα επίπεδα του

υπεροξειδίου του υδρογόνου ήταν σταθερά σε όλο το εξεταζόμενο χρονικό διάστημα. Οι παρατηρήσεις αυτές, συγκρινόμενες με αντίστοιχες σε θηλαστικά ζώα στα οποία μετρήθηκε σταθερή αύξηση αυτών των παραγόντων κατά το πρώτο χρονικό διάστημα και μάλιστα μετά τον απογαλακτισμό τους, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα ορνίθια εκκολάπτονται με συγκριτικά ώριμο ανοσοποιητικό σύστημα όσον αφορά το φαινόμενο της φαγοκυττάρωσης. Πιθανώς αυτό να σχετίζεται με την απουσία περιόδου αντίστοιχής με αυτής του θηλασμού.

Η συνεχής επέκταση των διαφόρων πηγών ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας απαιτεί τη μελλοντική διεξαγωγή μελετών, ίσως σε πολυκεντρικό επίπεδο, υπό τυποποιημένες διαδικασίες έτσι ώστε, να μελετηθεί η επίδραση ενός ευρέος φάσματος συχνοτήτων και εντάσεων ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας υπό συγκρίσιμες συνθήκες τόσο σε κυτταρικό / οργανικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο οργανισμού.

Λεξιλόγιο

Βλαστόδερμα (ή βλαστικός δίσκος): εμβρυϊκός σχηματισμός, σε μορφή ελάσματος, αποτελούμενος από μία ή περισσότερες στοιβάδες κυττάρων (βλαστομεριδίων)

Βλαστικός δίσκος: βλ. βλαστόδερμα

Βλαστομερίδιο: καθένα από τα κύτταρα που προκύπτουν από τη διαίρεση του γονιμοποιημένου ωού, κατά τα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης

Γαστριδίιο: το γονιμοποιημένο κύτταρο το οποίο έχει αποκτήσει σωματικό άξονα, συμμετρία και τρεις κυτταρικές στοιβάδες (εκτόδερμα, μεσόδερμα, ενδόδερμα)

Γαστριδιοποίηση: το στάδιο δημιουργίας του γαστριδίου

Ελμινθικά παράσιτα: σκώληκες που παρασιτούν στο εντερικό σύστημα των ανθρώπων και των ζώων

Εμβρυογένεση: η περίοδος από τη γονιμοποίηση του ωαρίου μέχρι την ανάπτυξη ενός ώριμου εμβρύου

Ζυγωτό: το κύτταρο που δημιουργείται κατά την ένωση ενός σπερματοζωαρίου και ενός ωαρίου

Κύτταρα γλοίας: τα κύτταρα (αστροκύτταρα, ολιγοδενδρα κύτταρα, μικρονευρογλοιακά κύτταρα) που καλύπτουν τις κοιλίες του εγκεφάλου και τον αυλό του κεντρικού σωλήνα του νωτιαίου μυελού

Μείωση: ειδικός τύπος κυτταρικής διαίρεσης κατά τον οποίο δημιουργούνται απλοειδή κύτταρα (n) με το μισό αριθμό των χρωμοσωμάτων, από διπλοειδή κύτταρα ($2n$), σε οργανισμούς που παράγονται αμφιγονικά.

Μήκος κύματος: η απόσταση μεταξύ δύο διαδοχικών κορυφών ενός κύματος

Μορίδιο: το στάδιο του εμβρύου μετά το ζυγωτό το οποίο αποτελείται από κύτταρα που ονομάζονται βλαστομερίδια

Μορφογένεση: η περίοδος, μετά την εμβρυογένεση, κατά την οποία το σχηματισμένο εμβρυϊκό σώμα αρχίζει να αποκτά σταδιακά τα χαρακτηριστικά του είδους του

Νευρώνας: το κύτταρο που αποτελεί δομικό μέρος και λειτουργική μονάδα του νευρικού συστήματος

Ντιφενσίνες: πρωτεΐνες που αμύνονται στην προσπάθεια «εισβολής» επικίνδυνων για τον ανθρώπινο οργανισμό μικροβίων

Συχνότητα: ο αριθμός των επαναλήψεων στη μονάδα του χρόνου

TWA (Time Weighted Average): Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των οριακών τιμών επαγγελματικής έκθεσης για να καθορίσει τη μέση συγκέντρωση μιας χημικής ουσίας με την οποία επιτρέπεται να εκτίθεται ο εργαζόμενος κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου, συνήθως 8 ωρών.

Χημειοκίνες: μεγάλη οικογένεια κυτταροκινών (μικρού μοριακού βάρους συχνά γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες) με χαρακτηριστική κοινή ιδιότητα την ικανότητα να προκαλούν χημειοταξία των κυττάρων που φέρουν τους υποδοχείς τους

Χρωστικά κύτταρα: τα κύτταρα που περιέχουν χρωστικά κοκκία όπως μελανίνη

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbas A. K., Lichtman A. H., (2004). Basic immunology. *W.B. Saunders Company*. Philadelphia, μετάφραση Μιχάλης Σ., (2004). Βασική ανοσολογία. *Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχλίδης*. Αθήνα.
- Allen L.A., Adersen A., (1996). Mechanisms of phagocytosis. *Current Opinion in immunology*, 8: 36-40.
- Al-Natour M. Q., Ward L. A., Saif Y. M., Stewart-Brown B., Keck L. D., (2004). Effect of different levels of maternally-derived antibodies on protection against infectious bursal disease virus. *Avian. Dis.*, 48: 177-182, *from* Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier*.
- Amati M., Mariotti L., Ciuccarelli M., Tomasetti M., Valentino M., Governa M., (2006). Biological effects of low-frequency electromagnetic fields: An in vitro study | [Effetti biologici di campi elettromagnetici a bassa frequenza: Esperimenti in vitro]. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia*, 28 (3): 326-327.
- Atasoy A., Sevim Y., Kaya I., Yilmaz M., Durmus A., Sonmez M., Omay S.B., Ovali E., (2009). The effects of electromagnetic fields on peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bratislava Medical Journal*, 110 (9): 526-529.
- Austic R.E., Neisheim M.C., (1990). Poultry Production. *Williams & Wilkins*.
- Balik H. H., Turgut-Balik D., Balikci K., Özcan I. C., (2004). Some ocular symptoms and sensations experienced by long term users of mobile phones. *Pathologie Biologie*, 53: 88-91.
- Balinsky B. I., (1975). An introduction to embryology. Fourth Edition. *W.B. Saunders Company*. Philadelphia, από Αναγνωστοπούλου-Μπέη Α., (1993). Βιολογία Ανάπτυξης. *Art of Text*. Θεσσαλονίκη.
- Bauvois B., Weyenbergh J. V., Rouillard D., Wietzerbin J., (1996). TGF-β1-Stimulated Adhesion of Human Mononuclear Phagocytes to Fibronectin and Laminin Is Abolished by IFN-γ: Dependence on α5β1 and β2 Integrins. *Experimental Cell Research*, 222: 209-217.
- Bloxham J., Gubbins D., (1989). The evolution of the earth's magnetic field. *Sci Am* 12:68-75.
- Bonhomme-Faivre L., Marion, S. Forestier F., Santini R., Auclair H., (2003). Effects of electromagnetic fields on the immune systems of occupationally exposed humans and mice. *Archives of Environmental Health*, 58 (11): 712-717.

- Boscol P., Di Sciascio M.B., D'Ostilio S., Del Signore A., Reale M., Conti P., Bavazzano P., Paganelli R., Di Gioacchino M., (2001). Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women. *Sci. Total Environ.*, 273: 1–10.
- Capri M., Salviolo S, Altilia S., Sevini F., Remondini D., Mesirca P., Bersani F., Monti D., Franceschi C., (2006). Age-dependent effects of in vitro radiofrequency exposure (mobile phone) on CD95+ T Helper human lymphocytes, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1067: 493–499.
- Chen C.-L. H., Leymeyer J. E., Cooper M. D., (1982). Evidence for an IgD homologue on chicken lymphocytes. *J. Immunol.*, 129: 2580-2585, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*
- Cicekcibasi A.E., Celik I., Salbacak A., Ozkan Y., Okudan N., Buyukmumcu M., (2008). Determination of the effects of extremely low frequency electromagnetic fields on the percentages of peripheral blood leukocytes and histology of lymphoid organs of the mouse. *Saudi Medical Journal*, 29 (1): 36-41.
- Coltey M., Bucy R. P., Chen C. H., Cihak J., Losch U., Char D., Le Duarin N. M., Cooper M. D., (1989). Analysis of the first two waves of thymus homing stem cells and their T cell progeny in chick-quail chimera. *J. Exp. Med.*, 170: 543-557, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. *Avian Immunology. Elsevier.*
- Cuppen J.J.M., Wiegertjes G.F., Lobee H.W.J., Savelkoul H.F.J., Elmusharaf M.A., Beynen A.C., Grooten H.N.A., Smink W., (2007). Immune stimulation in fish and chicken through weak low frequency electromagnetic fields. *Environmentalist*, 27 (4): 577-583
- Dasdag S., Sert C., Akdag Z., Batun S., 2002. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on hematologic and immunologic parameters in welders. *Archives of Medical Research*, 33 (1): 29-32.
- Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*
- Davison F., Magor K. E., Kaspers B., Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*
- Dmoch A., Moszczyński P., (1998). Levels of immunoglobulin and subpopulations of T lymphocytes and NK cells in men occupationally exposed to microwave radiation in frequencies of 6–12 GHz [Article in Polish]. *Med. Pr.*, 49: 45–49.

- Dunon D., Allioli N., Vainio O., Ody C., Imhof B. A., (1998). Renewal of thymocyte progenitors and emigration of thymocytes during avian development. *Dev. Comp. Immunol.*, 22: 279-287, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Dunon D., Allioli N., Vainio O., Ody C., Imhof B. A., (1999). Quantification of T-cell progenitors during ontogeny: thymus colonization depends on blood delivery of progenitors. *Blood*, 93: 2234-2243, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Esminger M. E., (1992). Poultry science. *Interstate Publishers Inc.*. Illinois.
- Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D.. Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Fernie K.J., Leonard N.J., Bird D.M., (2000). Behavior of free-ranging and captive American kestrels under electromagnetic fields. *J. of toxicology and environmental health*, 59: 597-603.
- Fragou S., Fegeros K., Xylouri E., Baldi A., Politis I., (2004). Effect of Vitamin E Supplementation on Various Functional Properties of Macrophages and Neutrophils Obtained from Weaned Piglets. *J. Vet. Med.*, 51: 178-183.
- Frahm J., Lantow M., Lupke M., Weiss D.G., Simkó M., (2006). Alteration in cellular functions in mouse macrophages after exposure to 50 Hz magnetic fields. *Journal of Cellular Biochemistry*, 99 (1): 168-177.
- Frahm J., Mattsson M.-O., Simkó M., (2010). Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages. *Toxicology Letters*, 192 (3): 330-336.
- Garcia Callejo F.J., Garcia Callejo F., Pena Santamaria J., Alonso Castaneira I., Sebastian Gil E., Marco Algarra J., (2005). Hearing level and intensive use of mobile phones. *Acta Otorrinolaringol Esp.*, 56:187-191.
- Gobba F., Bargellini A., Bravo G., Scaringi M., Cauteruccio L., Borella P., (2009). Natural killer cell activity decreases in workers occupationally exposed to extremely low frequency magnetic fields exceeding 1 μ T. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 22 (4): 1059-1066.
- Guyton A. C., Hall J. E.(2000). Φυσιολογία του ανθρώπου και μηχανισμοί των νόσων. Μετάφραση: Ευαγγέλου Α.. 6^η έκδοση. *Επιστημονικές εκδόσεις Παρισσιανός Γ*.
- Hamal K. R., Burgess S. C., Pevzner I. Y., Erf G. F., (2006). Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chicken. *Poult. Sci.*, 85: 1364-1372, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.

- Hamal K. R., Burgess S. C., Pevzner I. Y., Erf G. F., (2006). Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chicken. *Poult. Sci.*, 85: 1364-1372, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*
- Herbert W.J.,(1970). *Veterinary Immunology. Blackwell Scientific Publications. Oxford.*
- Hibbs J.B., Taintor R.R., Vavrin Z. and Rachlin E.M., (1988). Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 157: 87-94.
- Higgins D. A., (1975). Physical and chemical properties of fowl immunoglobulins. *Vet. Bull.*, 45:139-154, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*
- Houssaint E., Belo M., Le Duarin N. M., (1976). Investigations on cell lineage and tissue interactions in the developing bursa of Fabricius through interspecific chimeras. *Dev. Biol.*, 53: 250-264, **from** Fella J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. *Avian Immunology. Elsevier.*
- Huber R., Treyer V., Schuderer J., Berthold T., Buck A., Kuster N., Landolt H. P., Achermann P., (2005). Exposure to pulse-modulated radio frequency electromagnetic fields affects regional cerebral blood flow. *European Journal of Neuroscience*, 21: 1000-1006.
- Jacobi-Elizondo J.S., Gómez-Flores R., Tamez-Guerra R., Rodríguez-Padilla C., Heredia-Rojas J.A., (2001). Acute effects of 60-Hz electromagnetic fields on ex vivo murine lymphocyte and macrophage functions, and in vitro tumor cell growth. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 43 (3): 130-134.
- Janssen T., Boege P., Mikusch-Buchberg J., (2005). Investigation of potential effects of cellular phones on human auditory function by means of distortion product otoacoustic emissions. *J. Acoust. Soc. Am.*, 117: 1241-1247.
- Kandel E. R., Schwartz H. J., Jessel T. M., (2000). Νευροεπιστήμη και Συμπεριφορά. Μετάφραση: Καζλαρής Χ., Καραμανλίδης Α., Παπαδόπουλος Γ. Χ. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης. Ηράκλειο.
- Kaspers B., Schraner I., Losch U., (1991). Distribution of immunoglobulins during embryogenesis in the chicken. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, 38: 73-79, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). *Avian Immunology. Elsevier.*

- Kincade P. W., Cooper M. D., (1971). Development and distribution of immunoglobulin-containing cells in the chicken. An immunofluorescent analysis using purified antibodies to mu, gamma and light chains. *J. Immunol.*, 106: 371-382, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Klein K., Horejsi V., (1997). Immunology. *Blackwell Science*, Oxford, UK.
- Kowalczyk K., Daiss J., Helpert I., Roth T. F., (1985). Quantitation of maternal-fetal IgG transport in the chicken. *Immunology*, 54: 755-762, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Kramer T. T., Cho H. C., (1970). Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg. *Immunology*, 19: 157-167, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Le Douarin N. M., Houssait E., Jotereau F. V., Belo M., (1975). Origin of hemopoietic stem cells in embryonic bursa of Fabricius and bone marrow studied through interspecific chimeras. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72: 2701-2705, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Lee S.H., Lillehoj H.S., Lillehoj E.P., Chun H., Park H., Cho S., (2009). In vitro Treatment Effect of the Methanol Extracts of Korean Medicinal Fruits (Persimmon, Raspberry, Tomato) on Chicken Lymphocytes, Macrophages and Tumor Cells. *Poultry Science*, 46: 149-154.
- Leslie G. A., Clem L. M., (1969). Phylogeny of immunoglobulin structure and function. 3. Immunoglobulins of the chicken. *J. Exp. Med.*, 130: 1337-1352, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Leslie N.D., Kessler C.A., Bell S.M., Degen J.L., (1989). The chicken urokinase-type plasminogen activator gene. *Journal of Biological Chemistry*, 265: 1339-1344.
- Lillehoj H.S., Choi G., (2004). Nitric oxide production by macrophages stimulated with sporozoites, lipopolysaccharide, or INF- γ and its dynamic changes in SC and TK strains of chickens infected with *Eimeria tenells*. *Avian Diseases*, 48: 244-253.
- Loeken M. R., Roth T. F., (1983). Analysis of maternal IgG suppopulations which are transported into the chicken oocyte. *Immunology*, 49: 21-28, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- MacMicking J., Xie Q., Nathan C., (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology*, 15: 323-350.

- Marino A.A., (1988). Environmental Electromagnetic Energy and Public Health. In Marino AA (cd.) *“Modern Bioelectricity.”* New York: M. Dekker, pp 965-1044.
- Martin A.H., (1992). Development of Chicken Embryos Following to 60 Hz Magnetic Fields with Differing Waveforms. *Bioelectromagnetics*, 13:223-230.
- Mason I., (2007). Initiation to end point: the multiple roles of fibroblast growth factors in neural development. *Nature Reviews Neuroscience*, 8: 583-596.
- Mast J., Goddeeris B. M., (1999). Development of immunocompetence of broiler chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 70: 245-256, **from** Fellah J. S., Jaffredo T., Dunon D., (2008). Development of the Avian Immune System. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A.. Avian Immunology. *Elsevier*.
- Meo S. A., Al-Dreess A. M., (2005). Mobile phone related hazards and subjective hearing and vision symptoms in the Saudi population. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 18: 45-49.
- Mika K., (2000). The effects of electromagnetic field emitted by GSM phones on working memory. *Cognitive Neuroscience*, 11: 1641-1643.
- Moszczynski P., Lisiewicz J., Dmoch A., Zabinski Z., Bergier L., Rucinska M., Sasiadek U., (1999). The effect of various occupational exposures to microwave radiation on the concentrations of immunoglobulins and T lymphocyte subsets [Article in Polish], *Wiad. Lek.*, 52: 30–34.
- North M.O., Bell D.D., 1990. Commercial Chicken Production Manual, Fourth edition. *Chapman & Hall*. New York.
- Onodera H., Jin Z., Chida S., Suzuki Y., Tago H., Itoyama Y., (2003). Effects of 10-T static magnetic field on human peripheral blood immune cells. *Radiation Research*, 159 (6): 775-779.
- Patterson R., Younger J. S., WEigle W. O., Dixon F. J., (1962a). Antibody production and transfer to egg yolk in chickens. *J. Immunol.*, 89: 272-278, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Patterson R., Younger J. S., WEigle W. O., Dixon F. J., (1962b). The metabolism of serum proteins in the hen and chick and secretion of serum proteins by the ovary of the hen. *J. Gen. Physiol.*, 45: 501-513, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Persson B. R.R., Salford L.G., Brun A., (1997). Blood-brain barrier permeability in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless communication. *Wireless Networks*, 3: 455-461.
- Plesner T., Ploug M., Ellis V., Ronne E., Hoyer-Hansen G., Wittrup M., Pedersen T.L., Tscherning T., Dano K., Hansen N.E., (1994). The receptor for urokinase-type plasminogen activator and urokinase is translocated from two distinct intracellular

- compartments to the plasma membrane on stimulation of human neutrophils. *BI.*, 83:808-15.
- Politis I., (2000). The role of plasminogen activator in the bovine mammary gland. *Adv. Experim. Med. & Biol.*, 480: 203-207.
- Politis I., Hidioglou N., White J. H., Gilmore J. A., Williams S. N., Scherf H., FriggM., (1996). Effects of vitamin E on mammary and blood leukocyte function, with emphasis on chemotaxis, in periparturient dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 57: 468-471.
- Ragni L., Al-Shami A., Mikhaylenko G., Tang J., (2007). Dielectric characterization of hen eggs during storage. *Journal of Food Engineering*, 82: 450-459.
- Rajendra P., Sujatha H.N., Devendranath D., Gunasekaran B., Sashidhar R.B., Subramangam C., Channakeshava, (2004). Biological effects of power frequency magnetic fields: Neurochemical and toxicological changes in developing chick embryos. *BioMagnetic Research and Technology*, 2:1-9.
- Roitt I., Brostoff J., Male D., (2001). Immunology. Sixth edition. *Harcourt Publishers Limited*. London, μετάφραση Κουσουλάκος Σ. Λ., (2004). Ανοσολογία. Έκτη έκδοση. *Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.* Αθήνα.
- Rhodes J. M., Jewell D. P., (1983). Motility of neutrophils and monocytes in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*,24:73-77.
- Rose M. E., Orlans E., (1981). Immunoglobulins in the egg, embryo and young chick. *Dev. Comp. Immunol.*, 5: 15-20, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Rose M. E., Orlans E., Buttress M., (1974). Immunoglobulin classes in the hen's egg: the separation in yolk and white. *Eur. J. immunol.*, 4: 521-523, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Salerno S., La Mendola C., Lo Casto A., Mamone G., Caccamo N., Cardinale A.E., Salerno A., (2006). Reversible effect of MR and ELF magnetic fields (0.5 T and 0.5 mT) on human lymphocyte activation patterns. *International Journal of Radiation Biology*, 82 (2): 77-85.
- Salford L. G., Brun A., Eberhardt J. L., Persson B. R.R., (1993). Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50 and 200 Hz. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 30: 293-301.
- Shafey T. M., Al-Mufarej S., Al- Batshan H. A., (2006). Effect of electric field during incubation of eggs on the immune response of hatched chickens. *Electromagn Biol Med.*, 25(3): 163-75.

- Sild E., Horak P., (2009). Nitric oxide production: an easily measurable condition index for vertebrates. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63: 959-966.
- Sitrin R.G., Pan P.M., Harper H.A., Todd R.F., Harsh D.M., Blackwood R.A., (2000). Clustering of urokinase receptors (uPAR; CD87) induces proinflammatory signaling in human polymorphonuclear neutrophils. *Journal of Immunology*, 165: 3341-3349.
- Song K.D., Lillehoj H.S., Choi K.D., Zarlenga D., Han J.Y., (1997). Expression and functional characterization of recombinant chicken interferon-gama. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 58: 321-333.
- Tuschl H., Neubauer G., Garn H., Duftschmid K., Winker N., Brusl H., (1999). Occupational exposure to high frequency electromagnetic fields and its effect on human immune parameters. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 12 (3): 239-251.
- Tuschl H., Novak W., Molla-Djafari H., (2006). In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics*, 27 (3): 188-196.
- Ubeda A., Trillo M.A., Chacon L., Blanco M.J., Leal J., (1994). Chick embryo development can be irreversibly altered by early exposure to weak extremely low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 15:385-398.
- Veicsteinan A., Belleri M., Cinquetti A., Parolini S., Barbato G., Molinari Tosatti M.P., (1996). Development of Chicken Embryos Exposed to an Intermittent Horizontal Sinusoidal 50 Hz Magnetic Field. *Bioelectromagnetics*, 17:411-424.
- Yamamoto H., (1975). Identification of immunoglobulins in chicken eggs and their antibody activity. *Jpn. J. vet. Res.*, 23: 117, **from** Davison F., Magor K. E., Kaspers B.. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Davison F., Kaspers B., Schat K. A., (2008). Avian Immunology. *Elsevier*.
- Yurekli A.I., Ozkan M., Kalkan T., Saybasili H., Tuncel H., Atukeren P., Gumustas K., Seker S., (2006). GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats, *Electromagn. Biol. Med.*, 25: 177–188.
- Tizard I. R., (2004). *Veterinary Immunology-An introduction*. Seventh edition. *Elsevier*. USA, μετάφραση Κοπτόπουλος Γ. Σ., (2007). Κτηνιατρική ανοσολογία. Έβδομη έκδοση. . *Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.* Αθήνα.
- Worley M. J., Nieman G. S., Geddes K. , Heffron F., (2006). *Salmonella typhimurium* disseminates within its host by manipulating the motility of infected cells. *PNAS*, 103: 17915-17920.
- Αναγνωστοπούλου-Μπέη Α., (1993). Βιολογία Ανάπτυξης. *Art of Text*. Θεσσαλονίκη.
- Γερμενής Α., (2000). Ιατρική ανοσολογία. *Εκδόσεις Παπαζήση*.

- Γιαννακόπουλος Α.Λ., (1991). Ορνιθοτροφία. *Εκδοτικός οίκος αδελφών Κυριακίδη*. Θεσσαλονίκη.
- Κοπτόπουλος Γ. Σ., (1993). Στοιχεία κτηνιατρικής ανοσολογίας. *Εκδοτικός οίκος αδελφών Κυριακίδη*. Θεσσαλονίκη.
- Κώνστα Ε., (2006). Λειτουργικές δοκιμασίες φαγοκυττάρων. Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, 6^{ος} κύκλος. 9-11 Νοεμβρίου, Αθήνα.
- Μαγράς Ν. Ι., (1992). Εμβρυολογία των Κατοικίδιων Ζώων. Τρίτη έκδοση. *Εκδοτικός οίκος αδελφών Κυριακίδη*. Θεσσαλονίκη.
- Μεντζαφός Δ., (2001). Ειδικά κεφάλαια Φυσικής για φοιτητές των γεωπονικών επιστημών. Δεύτερη έκδοση. Αθ. Σταμούλης. Αθήνα.
- Πανοπούλου-Διαμαντοπούλου Ελ., (1997). Εκτροφή Μονογαστρικών. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Αθήνα.
- Χαραλαμπίδης Σ. Θ., (1998). Ανοσολογία Παρασιτώσεων. Δεύτερη έκδοση. University Studio Press. Θεσσαλονίκη.

Ιστοσελίδες

- Δ1, www.medlook.net/ Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία: Γιατί προκαλεί φόβο;
- Δ2, www.eeae.gr/ Ακτινοβολία
- Δ3, kyttariki.biol.uoa.gr/ Παράρτημα Ι, Περιγραφή των ιδιοτήτων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, Μαργαρίτης Λ. Χ. και Παναγόπουλος Δ. Ι.
- Δ4, www.eekt.gr/ Τεχνολογία ΚΤ & Άνθρωπος, Η/Μ Ακτινοβολία – Βασικές Γνώσεις
- Δ5, www.chem.kuleuven.be/ Safety Aspects When Working With Ionizing Radiation
- Δ6, www.jlab.org/ Effects of radiation on cells
- Δ7, www.nrc.gov/ Biological effects of radiation
- Δ8, science.howstuffworks.com/ Radiation
- Δ9, panacea.med.uoa.gr/ Φαγοκυττάρωση, Δ. Γρίβας, 2006.
- Δ10, www.greek-language.gr/ Διδακτικά βιβλία του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου, Βιολογία Γενικής Παιδείας (Γ΄ Τάξη Εν. Λυκ.)
- Δ11, msucare.com/ Poultry Production in Mississippi: Contents of the Chicken Egg
- Δ12, www.britannica.com/ yolk
- Δ13, chickscope.beckman.uiuc.edu
- Δ14, www.uoguelph.ca/ Developmental Biology, S. K. Ackerley
- Δ15, biology.clc.uc.edu/ Embryonic development of the brain, D. B. Fankhauser