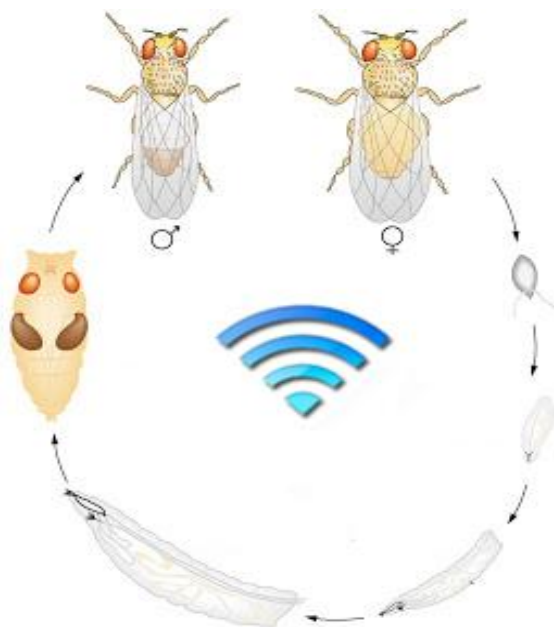




Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Βιολογίας & Ιατρικής Σχολής
Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης
«Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική»

Διπλωματική Εργασία
«Διερεύνηση μηχανισμών επίδρασης της ακτινοβολίας
ασύρματης τεχνολογίας στην ωογένεση, γονιμότητα και
επιβίωση του πρότυπου οργανισμού *Drosophila
melanogaster.*»



ΤΣΑΤΣΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΗ, ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΟΣ

Τομέας Διεξαγωγής: Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δ. Ι. Στραβοπόδης, Επίκουρος Καθηγητής (*Επιβλέπων*), Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Βιοφυσικής, ΕΚΠΑ

Ι. Σ. Παπασιδέρη, Καθηγήτρια & Διευθύντρια, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και
Βιοφυσικής, ΕΚΠΑ

Α. Σ. Σκουρολιάκου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Σχολή Ενεργειακής Τεχνολογίας,
ΑΤΕΙ Αθήνας

ΑΘΗΝΑ 2017



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τμήμα Βιολογίας & Ιατρική Σχολή
Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης
«Εφαρμογές της Βιολογίας στην Ιατρική»

Διπλωματική Εργασία

**«Διερεύνηση μηχανισμών επίδρασης της ακτινοβολίας
ασύρματης τεχνολογίας στην ωογένεση, γονιμότητα και
επιβίωση του πρότυπου οργανισμού *Drosophila
melanogaster*.»**

ΤΣΑΤΣΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΗ, ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΟΣ

Τομέας Διεξαγωγής: Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Δ. Ι. Στραβοπόδης, Επίκουρος Καθηγητής (*Επιβλέπων*), Τομέας Βιολογίας
Κυττάρου και Βιοφυσικής, ΕΚΠΑ

Ι. Σ. Παπασιδέρη, Καθηγήτρια & Διευθύντρια, Τομέας Βιολογίας Κυττάρου και
Βιοφυσικής, ΕΚΠΑ

Α. Σ. Σκουρολιάκου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Σχολή Ενεργειακής Τεχνολογίας,
ΑΤΕΙ Αθήνας

ΑΘΗΝΑ 2017



HELLENIC REPUBLIC
National and Kapodistrian University of Athens

Medical School & Faculty of Biology
M.Sc “Applications of Biology in Medicine”

DIPLOMA THESIS

**“Investigation of wireless technology radiation effectors on
the oogenesis, fecundity and survival of model organism
Drosophila melanogaster.”**

TSATSOU ANTIGONI, MOLECULAR BIOLOGIST

Department of Cell Biology and Biophysics

Three-member Inquiry Committee:

D. J. Stravopodis, Assistant Professor (*Supervisor*), Department of Cell
Biology and Biophysics

I. Papisideri, Professor & Headmistress, Department of Cell Biology and
Biophysics

A. Skouroliakou, Assistant Professor, Department of Energy
Technology Engineering, Technological Educational Institute of Athens

ATHENS 2017

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι δυνητικοί κίνδυνοι για την υγεία που πιθανά προκαλούνται από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ΗΜΑ) ασύρματων συσκευών έχουν αποτελέσει τα τελευταία χρόνια αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Στα πλαίσια αυτά, πραγματοποιήθηκε η παρούσα διπλωματική εργασία στον Τομέα Βιολογίας Κυττάρου και Βιοφυσικής το έτος 2015-2016, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή κ. Δημήτρη Ι. Στραβοπόδη σε συνεργασία με τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Λουκά Χ. Μαργαρίτη. Συγκεκριμένα, έγινε προσπάθεια μελέτης της επίδρασης της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας από ασύρματο δίκτυο WiFi και βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στην ωογένεση, γονιμότητα και βιωσιμότητα της *D. Melanogaster*. Παράλληλα, έγινε προσπάθεια μελέτης της επίδρασης της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω θερμά τον Επιβλέπων Καθηγητή κ. Δημήτρη Ι. Στραβοπόδη για τις γνώσεις και τη βοήθεια που μου προσέφερε αμέριστα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής αυτής εργασίας. Για τους ίδιους λόγους θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Λουκά Χ. Μαργαρίτη καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να αποτελέσω μέλος της ερευνητικής του ομάδας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω για τη βοήθειά τους και τα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, την Καθηγήτρια κ. Ισιδώρα Παπασιδέρη, Υπεύθυνη του Τομέα και του Μεταπτυχιακού στα πλαίσια του οποίου πραγματοποιήθηκε η παρούσα διπλωματική και κ. Αικατερίνη Σκουρολιάκου, Επίκουρη Καθηγήτρια ΤΕΙ Αθηνών.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια Αρετή Μαντά για την πολύτιμη βοήθεια της, τις υποδείξεις της και για όλη τη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της διπλωματικής εργασίας καθώς και τις συμφοιτήτριες μου και μέλη της ερευνητικής ομάδας Παναγιώτα Νταούτη και Άννα Παππά για την άψογη συνεργασία μας, τη συμπαράστασή τους και για το ευχάριστο και φιλικό περιβάλλον που δημιουργούσαν στο εργαστήριο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου και πάνω από όλους τους γονείς μου και τον αδερφό μου που με στήριξαν σε όλη τη διάρκεια του Μεταπτυχιακού και την εκπόνηση της διατριβής.

Αντιγόνη Τσάτσου
Φεβρουάριος 2017

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	13
Abstract	15
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	17
1.1. Θεμελιώδεις δυνάμεις.....	19
1.2. Ηλεκτρομαγνητισμός: Ηλεκτρισμός ή μαγνητισμός.....	19
1.2.1. Εξισώσεις Maxwell	20
1.3. Ηλεκτρομαγνητική Ακτινοβολία.....	24
1.4. Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα	25
1.4.1.Μη ιονίζουσα ακτινοβολία	28
1.4.1.1.Περιοχή εξαιρετικά χαμηλών συχνοτήτων	29
1.4.1.2.Ραδιοκύματα	29
1.4.1.3.Μικροκύματα	29
1.4.1.4.Υπέρυθρη ακτινοβολία	30
1.4.1.5.Ορατή ακτινοβολία (ορατό φως).....	30
1.4.1.6.Υπεριώδης ακτινοβολία	31
1.4.2. Ιονίζουσα ακτινοβολία	32
1.4.2.1. Ακτίνες X	32
1.4.2.2. Ακτίνες γ.....	32
1.4.2.3. Σωματίδια α – Ακτίνες α	33
1.4.2.4. Σωματίδια β – Ακτίνες β	33
1.4.2.5. Κοσμική ακτινοβολία.....	33
1.4.2.6. Ακτινοβολία από το φυσικό περιβάλλον.....	34
1.5. Κινητή τηλεφωνία	34
1.5.1. Συστήματα κινητής τηλεφωνίας GSM και UMTS	37
1.6. Βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT (Digital Enhanced (European) Cordless Phone).....	37
1.7. Ασύρματο δίκτυο.....	39
1.7.1. Ασύρματη σύνδεση WWAN	40
1.7.2. Ασύρματη σύνδεση WMAN	41
1.7.3. Ασύρματη σύνδεση WPAN	42
1.7.4. Ασύρματη σύνδεση WLAN – WiFi (Wireless Fidelity)	43
1.8. Επιπτώσεις ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.....	47
1.8.1. Επιπτώσεις ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	47
1.8.2. Επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	51
1.9. Ρυθμός Ειδικής Απορρόφησης (Specific Absorption Rate – SAR)	58

1.10. Όρια ασφαλούς έκθεσης.....	59
1.11. Πρότυπο βιολογικό σύστημα <i>Drosophila melanogaster</i>	62
1.11.1. Κύκλος ζωής.....	65
1.11.2. Θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα	68
1.11.3. Ωογένεση στη <i>Drosophila melanogaster</i>	69
1.11.3.1. Γερμάριο.....	71
1.11.3.2. Βιτελλάριο	73
1.11.3.3. Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.....	76
1.12. Ο μεταγραφικός παράγοντας p53	79
1.13. Στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου (Endoplasmic Reticulum Stress – ER Stress).....	81
1.14. Σκοπός εργασίας.....	85
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	89
2.1. Υλικά.....	91
2.1.1. Χημικά αντιδραστήρια	91
2.1.2. Όργανα και συσκευές.....	91
2.1.2.1. Φασματικός Αναλυτής Πεδίου NARDA SRM3000	92
2.1.2.2. Φασματικός Αναλυτής Rohde και Schwarz FSL/6	92
2.1.2.3. COM Environmental Microwave Monitor	93
2.1.2.4. Ακουστικός Ευρυζωνικός Ανιχνευτής Electrosmog Detector	94
2.1.3. Βιολογικό υλικό - Πειραματόζωα	95
2.1.3.1. Καλλιέργεια εντόμων	95
2.1.3.2. Τύποι θρεπτικών μέσων	95
2.1.3.3. Γενετικό σύστημα GAL4/UAS	97
2.1.3.4. Στελέχη <i>Drosophila melanogaster</i>	98
2.2. Μέθοδοι.....	102
2.2.1. Δοσιμετρία.....	102
2.2.2. Πρωτόκολλα ακτινοβολήσης	102
2.2.2.1. Προσδιορισμός αποπτωτικών ωοθυλακίων.....	102
2.2.2.1.1. Ασύρματο δίκτυο WiFi	103
2.2.2.1.2. Ασύρματος πομποδέκτης (Walkie - Talkie)	104
2.2.2.1.3. Γεννήτρια ραδιοσυχνότητας	105
2.2.2.1.4. Τριοξείδιο του ουρανίου.....	105
2.2.2.2. Προσδιορισμός αναπαραγωγικής ικανότητας	105
2.2.2.3. Ανίχνευση επαγωγής του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου.....	106
2.2.2.4. Προσδιορισμός βιωσιμότητας.....	107
2.2.3. Μικροσκοπία.....	109

2.2.3.1. Φωτονική Μικροσκοπία	109
2.2.3.2. Μικροσκοπία Φθορισμού	109
2.2.3.2.1. Αρχή λειτουργίας Μικροσκοπίου Φθορισμού	110
2.2.3.2.2. Εφαρμογές Μικροσκοπίας Φθορισμού	111
2.2.3.2.3. Ανίχνευση αποπτωτικών ωοθυλακίων – χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης (<i>Acridine Orange</i> – <i>AO</i>)	111
2.2.3.3. Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy – CLSM)	112
2.2.3.3.1. Προσδιορισμός ενεργοποίησης της UPR – Έλεγχος ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα <i>Xbp1</i>	113
2.2.4. Προσδιορισμός βιωσιμότητας	114
2.2.5. Προσδιορισμός αναπαραγωγικής ικανότητας (Μελέτη γονιμότητας)	114
2.2.6. Στατιστική ανάλυση	115
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	117
3.1. Επίδραση της ακτινοβολήσης ενήλικων εντόμων στην επαγωγή απόπτωσης κατά την ωογένεση	119
3.1.1. Επίδραση WiFi στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει του πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης	121
3.1.1.1. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει της διαμόρφωσης εκπομπής WiFi με (live streaming) ή χωρίς (no streaming) ροή δεδομένων - Πρωτόκολλο 12λεπτης ακτινοβολήσης	121
3.1.1.2. Σύγκριση της επίδρασης της 12λεπτης ακτινοβολήσης με WiFi, στην απόπτωση, συναρτήσει της επαναληψιμότητας της έκθεσης και της διαμόρφωσης εκπομπής	125
3.1.1.3. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει της διαμόρφωσης εκπομπής WiFi με (live streaming) ή χωρίς (no streaming) ροή δεδομένων - Πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβολήσης	127
3.1.1.4. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει της συνεχόμενης και διακοπτόμενης ακτινοβολήσης με ροή δεδομένων (live streaming - Πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβολήσης	131
3.1.1.5. Σύγκριση της επίδρασης στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της επαναληψιμότητας της έκθεσης και της διαμόρφωσης εκπομπής (πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβολήσης)	135
3.1.2. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει του πρωτοκόλλου έκθεσης σε ασύρματο πομποδέκτη, γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και τριοξειδίου του ουρανίου (πilotικά πειράματα)	137
3.1.2.1. Επίδραση στην απόπτωση του πρωτοκόλλου έκθεσης του ασύρματου πομποδέκτη και της γεννήτριας ραδιοσυχνοτήτων	138

3.1.2.2. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση του τριοξειδίου του ουρανίου	139
3.2. Επίδραση της ακτινοβολίας στην αναπαραγωγική ικανότητα και εκκολαψιμότητα των χρυσαλίδων της <i>Drosophila melanogaster</i>	140
3.2.1. Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα	141
3.2.2. Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην εκκολαψιμότητα	145
3.3. Μορφολογική ανίχνευση επαγωγής στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου	148
3.4. Επίδραση της ακτινοβολίας στην βιωσιμότητα του εντόμου <i>Drosophila melanogaster</i>	150
3.4.1. Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου DECT στη βιωσιμότητα φυσικού τύπου (WT) εντόμων συναρτήσει του μέσου καλλιέργειας.....	151
3.4.2. Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου DECT στη βιωσιμότητα των <i>Dmp53^{-/-}</i> εντόμων συναρτήσει του μέσου καλλιέργειας	152
3.4.3. Ο ρόλος του ενζύμου καταλάση στη βιωσιμότητα της <i>Drosophila melanogaster</i>. Έλεγχος της επίδρασης της παλμικής ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα συναρτήσει της ιστοειδικής υπερέκφρασης του ενζύμου.....	155
3.4.4. Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 στη βιωσιμότητα της <i>Drosophila melanogaster</i>. Έλεγχος της επίδρασης της παλμικής ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα συναρτήσει της ιστοειδικής υπερέκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα.....	161
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	167
4.1. Επίδραση της ακτινοβολίας ενήλικων εντόμων στην επαγωγή απόπτωσης κατά την ωογένεση	169
4.1.1. Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην απόπτωση κατά την ωογένεση..	170
4.1.2. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της συχνότητας. Έκθεση σε ασύρματο πομποδέκτη (walkie talkie), γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και τριοξείδιο του ουρανίου (πilotικά πειράματα)	171
4.2. Επίδραση της ακτινοβολίας ενήλικων εντόμων με ασύρματο δίκτυο WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα	172
4.3. Χρονοεξαρτώμενη επαγωγή του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου (ΕΔ Στρες – ER Stress) από την ΗΜΑ κινητού τηλεφώνου	174
4.4. Επίδραση της ακτινοβολίας ενήλικων εντόμων με βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στην βιωσιμότητα του εντόμου	175
4.4.1. Επίδραση της ακτινοβολίας συναρτήσει του μέσου καλλιέργειας.....	175
4.4.2. Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα p53 στη βιωσιμότητα του εντόμου	176
4.4.3. Ο ρόλος της ιστοειδικής υπερέκφρασης του ενζύμου καταλάση στη βιωσιμότητα του εντόμου	176

4.4.4. Ο ρόλος της ιστοειδικής υπερέκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 στη βιωσιμότητα του εντόμου.....	177
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	179
5.1. Ξένη βιβλιογραφία	181
5.2. Ελληνική βιβλιογραφία	192

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρήση της ασύρματης τεχνολογίας σε οικιακούς, επαγγελματικούς και δημόσιους χώρους γίνεται ολοένα και πιο αισθητή τα τελευταία χρόνια, ενώ οι ανάγκες της εποχής επιτάσσουν την ραγδαία εξέλιξη της. Παρόλα αυτά, οι δυνητικοί κίνδυνοι για την υγεία που πιθανά προκαλούνται από την ακτινοβολία των ασύρματων συσκευών έχουν αποτελέσει τα τελευταία χρόνια αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες καθώς και πολυάριθμες *in vivo* και *in vitro* έχουν διεξαχθεί, παρέχοντας μέχρι σήμερα αμφιλεγόμενα αποτελέσματα όσον αφορά στην επιβλαβή επίδραση της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ΗΜΑ) στους ζωντανούς οργανισμούς. Κατά τη διάρκεια της προσπάθειας αυτής, στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίπτωση της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας στον πρότυπο οργανισμό *Drosophila melanogaster* και συγκεκριμένα στην ωογένεση και αναπαραγωγική ικανότητα ύστερα από έκθεση σε WiFi router και στη βιωσιμότητα του εντόμου μετά από έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT. Επίσης, η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο να διερευνήσει την πιθανή επαγωγή του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου από την ΗΜΑ, ως πιθανού *in vivo* μηχανιστικού μοντέλου επίδρασης της ακτινοβολίας ραδιοσυχνοτήτων στα βιολογικά συστήματα.

Για τη μελέτη της επίδρασης στην ωογένεση της *Drosophila*, συλλέχθηκαν φυσικού τύπου (Wild type Oregon R – WT), νεοεκδυθέντα έντομα και εκτέθηκαν σε WiFi router, είτε την 4^η ημέρα της ζωής τους είτε για 4 ημέρες καθημερινά, για 30 ή 12 λεπτά συνεχόμενη έκθεση με ροή δεδομένων, για 30 λεπτά διακοπτόμενη έκθεση με ροή δεδομένων και για 30 ή 12 λεπτά συνεχόμενη έκθεση χωρίς τη ροή δεδομένων. Μετά από 4 ώρες και χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης παρατηρήθηκε η μελέτη των αποπτωτικών ωοθυλακίων, τα οποία σε όλα τα πρωτόκολλα βρέθηκε αύξηση του ποσοστού αυτών. Σημαντικό εύρημα είναι η μεγαλύτερη αύξηση του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων στο πρωτόκολλο με τα 12 λεπτά ακτινοβολήσης σε σύγκριση με το πρωτόκολλο των 30 λεπτών, κάτι που υποδεικνύει ότι οι μηχανισμοί αντιμετώπισης των επιπτώσεων της ΗΜΑ χρειάζονται κάποιο χρόνο για να δράσουν.

Για τη μελέτη της αναπαραγωγικής ικανότητας, νεοεκδυθέντα αρσενικά και θηλυκά έντομα εκτέθηκαν ξεχωριστά σε WiFi router για τις πρώτες 4 ημέρες της ενήλικης ζωής τους, 24 ώρες το 24ωρο και ακολούθησε διασταύρωση αυτών.

Σημαντικό εύρημα αποτέλεσε η μείωση στην αναπαραγωγική ικανότητα των ακτινοβολημένων αρσενικών σε σύγκριση με τους μάρτυρες και τα ακτινοβολημένα θηλυκά καθώς επίσης και η αύξηση στην αναπαραγωγική ικανότητα όπου και τα δυο φύλα ήταν ακτινοβολημένα.

Για τη μελέτη της βιωσιμότητας, συλλέχθηκαν έντομα της F1 γενιάς διαγονιδιακών στελεχών με στόχο την υπέρεκφραση της καταλάσης και του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 είτε σε όλους τους ιστούς είτε στον νευρικό ιστό μόνο, έντομα με απουσία του μεταγραφικού παράγοντα Dmp53^{-/-}, έντομα WT και έντομα διαγονιδιακού στελέχους με στόχο την απουσία του ενζύμου της καταλάσης προκειμένου να γίνει σύγκριση της χρησιμότητας ενός υποκινητή υπέρεκφρασης. Επίσης, για την καλλιέργεια των εντόμων χρησιμοποιήθηκαν δυο ειδών τροφές, η πλήρης θερμιδικά τροφή και η χαμηλή θερμιδικά τροφή όπου απουσίαζαν τα αντιοξειδωτικά από τον ανθό ορύζης και την τομάτα που υπάρχουν στην πλήρη θερμιδικά τροφή. Σημαντικό εύρημα αποτελεί η γενική ανθεκτικότητα των θηλυκών έναντι των αρσενικών εντόμων, γεγονός που πιθανόν υποδεικνύει ότι για λόγους αναπαραγωγικής ικανότητας η φύση έχει εξοπλίσει τα θηλυκά με αποτελεσματικότερους μηχανισμούς προστασίας κάτω από αντίξοες συνθήκες.

Για τη μελέτη της επαγωγής του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου, υπερεκφράστηκε γενετικά ο μεταγραφικός παράγοντας Xbp-1 (καθοριστικός διαμεσολαβητής του ER stress, με κύρια επαγόμενη εντόπιση στον πυρήνα), συζευγμένος με την Πράσινη Φθορίζουσα Πρωτεΐνη (Eukaryotic Green Fluorescent Protein) μέσω της γενετικής τεχνολογίας UAS / GAL4, σε όλα τα σωματικά κύτταρα και ιστούς του εντόμου. Η *in vitro* έκθεση σιελογόνων αδένων από προνύμφες 3^{ου} αναπτυξιακού σταδίου του παραπάνω στελέχους, σε ακτινοβολία κινητού τηλεφώνου για 60 λεπτά, οδήγησε σε ενεργοποίηση του ER stress. Επιπλέον, σημαντικό εύρημα αποτέλεσε το γεγονός ότι η συγκεκριμένη κυτταρική απόκριση βρέθηκε να είναι χρονο-εξαρτώμενη, καθώς ο Xbp-1 εντοπίστηκε στον πυρήνα όχι σε χρόνο μικρότερο της μίας ώρας συνεχούς ακτινοβολήσης.

ABSTRACT

The use of wireless technology in domestic, occupational and public areas is becoming more and more perceptible in recent years, while the needs of modern times call for rapid evolution. Nonetheless, the potential health hazards induced by the applications of wireless devices have been the past few years the subject of extended research. Several epidemiological along with *in vivo* and *in vitro* studies have been performed, providing so far controversial data over the electromagnetic radiation's harmful effects. During the effort to elucidate such data, this study was focused on the effects of non-ionizing radiation in the model organism *Drosophila melanogaster* and particularly the effect of the radiation in oogenesis and fecundity after exposure to a WiFi router as well as the effect on the lifespan of the organism after exposure to the base of the wireless DECT phone. Furthermore, this study aimed to investigate the possible Radiofrequencies radiation (RFR)-induced Endoplasmic Reticulum stress as a potential *in vivo* mechanistic model of RFR's impact on the biological systems.

For the study of the effect in oogenesis, newly emerged Wild Type flies were collected and exposed to a WiFi router, either on the 4th day of their adult life or for 4 days continuously, for 30 or 12 minutes continuous live streaming exposure, for 30 minutes discontinued for 6 minutes live streaming exposure and for 30 or 12 minutes continuous no streaming exposure. Four hours later and after the samples were stained with acridine orange, the induction of apoptotic follicles was studied and it was found to be elevated in all exposure protocols. Most importantly, the highest percentage of apoptotic follicles was found to be induced after the 12 minutes live streaming exposure compared to the 30 minutes exposure protocol, something that probably suggests the mechanisms for coping with the effects of electromagnetic radiation take some time to act. Furthermore, it was found that the everyday exposure for 4 days, rather than the one time exposure on the 4th day of adult life in the flies, also induced a bigger percentage of apoptotic follicles.

For the study of the effect in fecundity, newly emerged male and female flies were exposed separately to a Wi-Fi router continuously for the first 4 days of their adult life, after which were crossbred. An important finding was that the reduction in fecundity was greater at the samples where only the male fly was exposed in comparison with the control samples and the ones where only the female fly was

exposed, as well as an the increase in fecundity in the samples were both genders were exposed.

For the study of the effect on the duration of the lifespan of *Drosophila*, newly emerged flies from the F1 generation of several transgenic species which aimed to overexpress the Catalase enzyme and the transcription factor Xbp1 in all somatic tissues and more specifically in the nervous tissue, Wild type flies and flies with the lack of transcription factor p53, were collected and exposed throughout their life continuously with the base of wireless DECT. In addition to studying the possible effect of lack of antioxidants in the food, the flies were cultured and exposed with two different kinds of food; one with antioxidants and one without them. The most important finding was the durability in general of the female flies over the male flies, which may indicate that for reasons of reproductive nature female insects are equipped with effective protection mechanisms under adverse living conditions.

For the study of the induction of the ER Stress, transcription factor Xbp-1 (a key mediator of Endoplasmic Reticulum Stress, which is mainly localized in the nucleus upon ER Stress activation), fused with Eukaryotic Green Fluorescent Protein (EGFP), was genetically overexpressed, using the genetic technology UAS/GAL4. *In vitro* exposure of the isolated salivary glands of the third instar larva to a commercial mobile-phone radiation for 60 minutes led to a RFR-directed activation of ER stress. Moreover, this specific cellular response was found to be time-dependent and was noticeable no sooner than after one hour of exposure.

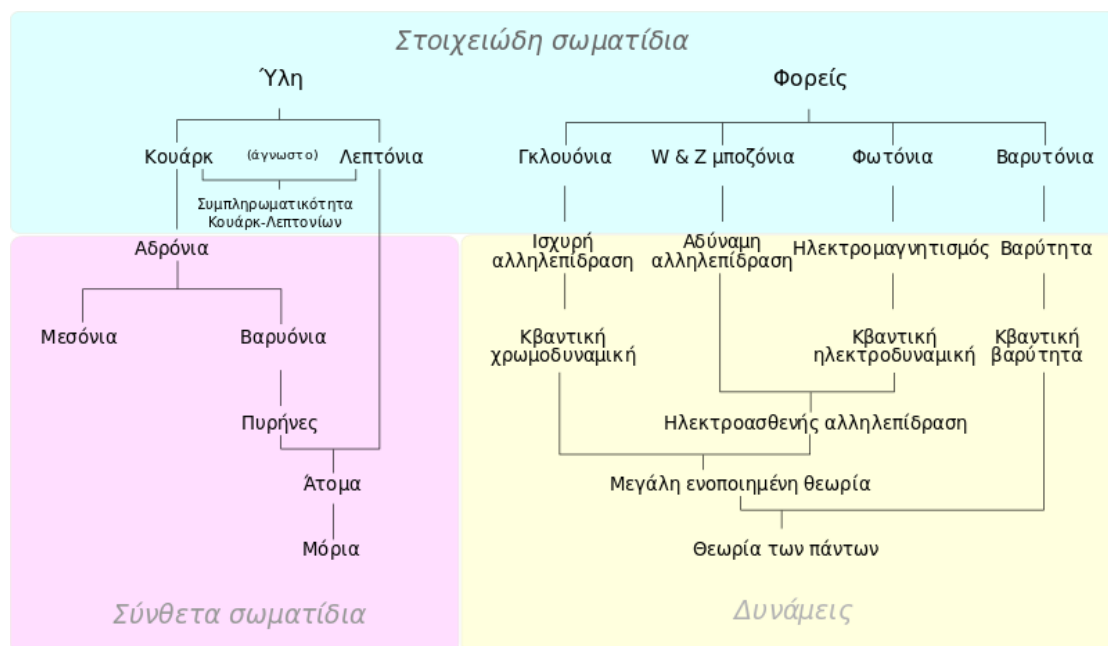
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΘΕΜΕΛΙΩΔΕΙΣ ΔΥΝΑΜΕΙΣ

Ο όρος «**θεμελιώδης αλληλεπίδραση**» ή «**Θεμελιώδεις Δυνάμεις**» αφορά τον μηχανισμό σύμφωνα με τον οποίο τα διάφορα σωματίδια αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Σήμερα γνωρίζουμε πως υπάρχουν τέσσερις θεμελιώδεις αλληλεπιδράσεις/δυνάμεις: η βαρυτική, η **ηλεκτρομαγνητική**, η ισχυρή και η ασθενής αλληλεπίδραση.

Οι σύγχρονες θεωρίες υποστηρίζουν ότι τα σωματίδια δεν αλληλεπιδρούν απ' ευθείας μεταξύ τους, αλλά η αλληλεπίδραση λαμβάνει μέρος μέσω των φορέων της εκάστοτε αλληλεπίδρασης, όπως είναι το φωτόνιο για την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (**εικόνα 1.1**).



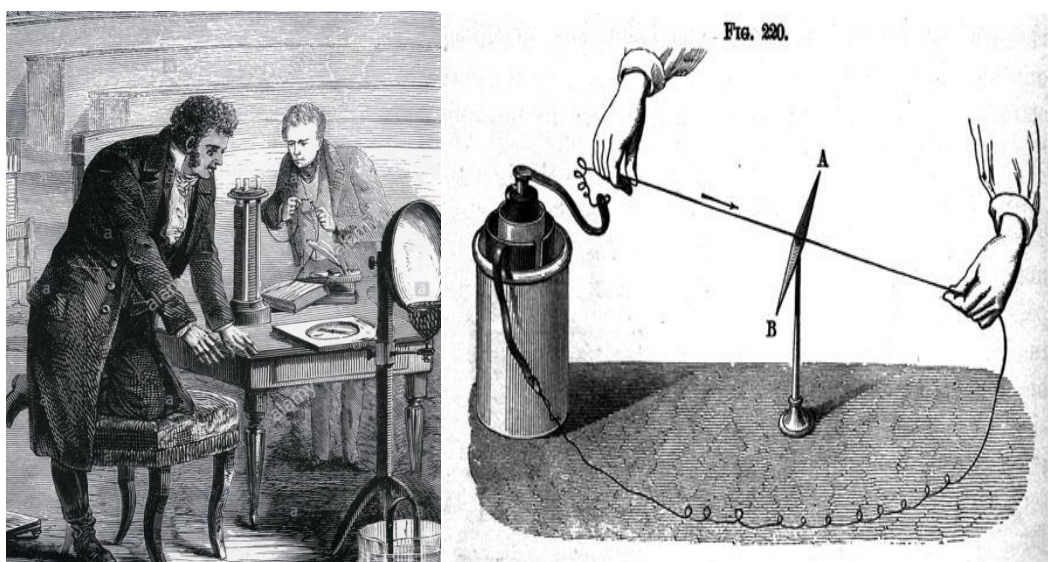
Εικόνα 1.1. Σύνοψη των σωματιδίων και των δυνάμεων της σωματιδιακής φυσικής. Πηγή: https://el.wikipedia.org/wiki/Σωματιδιακή_φυσική

1.2. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΣΜΟΣ: ΗΛΕΚΤΡΙΣΜΟΣ Ή ΜΑΓΝΗΤΙΣΜΟΣ

Ο ηλεκτρομαγνητισμός ή ηλεκτρομαγνητική δύναμη ή ηλεκτρομαγνητική αλληλεπίδραση είναι μία από τις τέσσερις θεμελιώδεις δυνάμεις της φυσικής που περιγράφονται από το καθιερωμένο πρότυπο, και μελετά τα φαινόμενα που απορρέουν από το ηλεκτρικό φορτίο των σωματιδίων και από την αλληλεπίδραση των ηλεκτρικών με τα μαγνητικά πεδία. Η θεμελιώδης αυτή δύναμη επιτρέπει την κατανόηση πολλών φυσικών φαινομένων όπως ο ηλεκτρισμός, ο μαγνητισμός, και το

φως, και αποτελεί το πρώτο δείγμα ενοποίησης δύο διαφορετικών δυνάμεων -του ηλεκτρισμού και του μαγνητισμού στη φυσική.

Αρχικά θεωρούνταν ότι ο ηλεκτρισμός και ο μαγνητισμός είναι δύο διαφορετικά φαινόμενα. Το 1820 ο Δανός φυσικός Hans Christian Oersted κάνοντας πειράματα με την μπαταρία που είχε εφευρεθεί λίγα χρόνια πριν, παρατήρησε ότι το ηλεκτρικό ρεύμα έχει μαγνητικά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, παρατήρησε ότι όταν πλησίαζε μία πυξίδα σε αγωγό ο οποίος διαρρέοταν από ηλεκτρικό ρεύμα, τότε η μαγνητική της βελόνα προσανατολιζόταν ασυμβάτως κάθετα στον αγωγό. Τότε έγινε κατανοητό ότι δεν επρόκειτο για δύο διαφορετικά φαινόμενα, αλλά για ένα: τον ηλεκτρομαγνητισμό. Ήταν ο πρώτος που συσχέτισε τα μαγνητικά με τα ηλεκτρικά φαινόμενα επιβεβαιώνοντας πειραματικά ότι ένας αγωγός αποκτά μαγνητικές ιδιότητες, όταν μέσα του ρέει ηλεκτρικό ρεύμα (εικόνα 1.2).



Εικόνα 1.2. Το πείραμα όπου παρατηρήθηκε πρώτη φορά το φαινόμενο του ηλεκτρομαγνητισμού. *A.* Ο Hans Christian Oersted παρατηρεί τον κάθετο προσανατολισμό της βελόνας κοντά σε σύρμα που το διαπερνούσε ηλεκτρικό ρεύμα (αγωγός). Πηγή: <https://www.princeton.edu/ssp/joseph-henry-project/galvanometer/explaining-the-phenomenon/oersteds-theory> *B.* Το πείραμα όπως πραγματοποιήθηκε. Πηγή: <https://physicsgg.me/2013/02/14>

1.2.1 Εξισώσεις του Maxwell

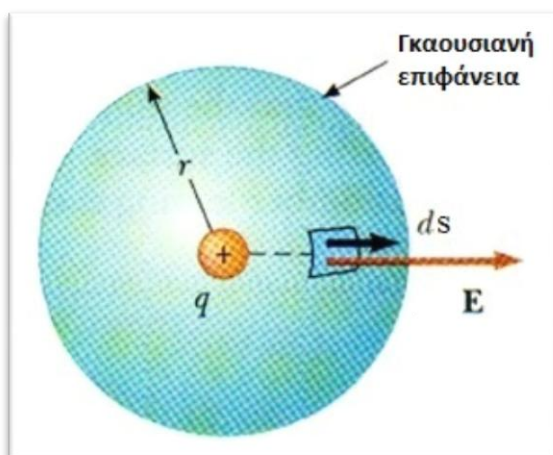
Το 1870 ο φυσικός James Clerk Maxwell δημιούργησε μία σειρά εξισώσεων οι οποίες περιγράφουν με απλό αλλά και επιτηδευμένο ταυτόχρονα τρόπο τη σχέση ανάμεσα στα ηλεκτρικά και τα μαγνητικά πεδία. Στις εξισώσεις του ο Maxwell συνόψισε τις τότε παρατηρήσεις των συναδέλφων φυσικών της εποχής του για τα

φαινόμενα του ηλεκτρισμού και του μαγνητισμού και κυρίως των Michael Faraday, Carl Friedrich Gauss, Charles-Augustin de Coulomb και Andre-Marie Ampere. Ο ίδιος πιστεύοντας ότι το σύμπαν είναι «συμμετρικό» υπέθεσε ότι ένα μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο μπορεί να επάγει μαγνητικό πεδίο με ανάλογο τρόπο με την επαγωγή ηλεκτρικού πεδίου από μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο που περιγράφεται στο Νόμο Επαγωγής του Faraday. Με βάση αυτήν του την πεποίθηση ο Maxwell κατάφερε και ενοποίησε τα δύο φαινόμενα του ηλεκτρισμού και του μαγνητισμού σε ένα, τον **ηλεκτρομαγνητισμό**, τον οποίο και διέπουν οι τέσσερις περίφημες εξισώσεις του που έκτοτε φέρουν το όνομά του. Οι εξισώσεις είναι οι εξής:

- ***Εξίσωση I ή Νόμος του Gauss για τον ηλεκτρισμό:***

Περιγράφει τη σχέση ανάμεσα σε ένα στατικό ηλεκτρικό πεδίο και τα ηλεκτρικά φορτία που το προκαλούν (επέκταση του νόμου του Coulomb για τον ηλεκτρισμό). Τα στατικά ηλεκτρικά πεδία κατευθύνονται από τα θετικά φορτία προς τα αρνητικά φορτία. Στο πεδίο της γραμμικής περιγραφής, οι δυναμικές γραμμές του ηλεκτρικού πεδίου ξεκινούν μόνο από θετικά ηλεκτρικά φορτία και τελειώνουν μόνο σε αρνητικά φορτία. Επομένως «μετρώντας» τον αριθμό των δυναμικών γραμμών που διέρχονται μέσω μίας κλειστής επιφάνειας («Γκαουσιανή επιφάνεια») παίρνουμε το συνολικό φορτίο Q (περιλαμβανομένου του δεσμευμένου φορτίου λόγω πόλωσης του υλικού) που περικλείεται από την επιφάνεια αυτή δια της διαπερατότητας του ελεύθερου χώρου ϵ_0 (της διηλεκτρικής σταθεράς του κενού). Πιο απλά, ο νόμος του Gauss περιγράφει το ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργείται από ηλεκτρικό φορτίο (**εικόνα 1.3**). Ο νόμος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = \text{div} \mathbf{E} = \rho / \epsilon_0$$



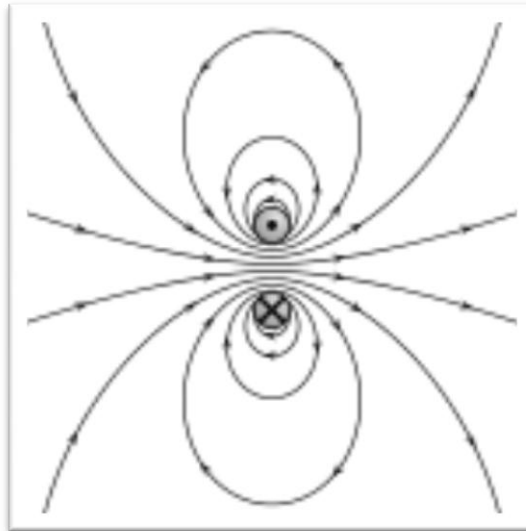
Εικόνα 1.3. Νόμος του Gauss για τον ηλεκτρισμό. Πηγή: <https://www.ux1.eiu.edu/~cfadd/1360/24Gauss/Gauss.html>

- **Εξίσωση II ή Νόμος του Gauss για τον μαγνητισμό:**

Δηλώνει ότι η ολική μαγνητική ροή που διέρχεται από μία κλειστή επιφάνεια είναι μηδενική, δηλαδή ο αριθμός των γραμμών μαγνητικού πεδίου που εισέρχονται σε μία κλειστή επιφάνεια ισούται με τον αριθμό των γραμμών μαγνητικού πεδίου που εξέρχονται από αυτήν. Κοινώς, ο νόμος αυτός περιγράφει τη δημιουργία μαγνητικού πεδίου από μαγνήτη και περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = \text{div} \mathbf{B} = 0$$

Από την άποψη αυτών των δυναμικών γραμμών του μαγνητικού πεδίου, η εξίσωση δηλώνει ότι οι δυναμικές γραμμές του μαγνητικού πεδίου δεν αρχίζουν ούτε τελειώνουν, αλλά κάνουν βρόχους ή επεκτείνονται στο άπειρο και γυρνάνε πάλι πίσω (εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.4. Νόμος του Gauss για τον μαγνητισμό. Πηγή: [https://en.wikipedia.org/wiki/Maxwell's equations](https://en.wikipedia.org/wiki/Maxwell's_equations)

- **Εξίσωση III ή Νόμος επαγωγής Maxwell - Faraday:**

Περιγράφει πως ένα χρονικά μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο δημιουργεί («επάγει») ένα ηλεκτρικό πεδίο. Αυτό δυναμικά επάγει ένα ηλεκτρικό πεδίο που έχει κλειστές τις δυναμικές γραμμές ακριβώς όπως το μαγνητικό πεδίο, αν δεν υπερκαλύπτεται από ένα στατικό (προκαλούμενο από φορτίο) ηλεκτρικό πεδίο. Ο νόμος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\nabla \times \mathbf{E} = \text{curl} \mathbf{E} = -\partial \mathbf{B} / \partial t$$

- **Εξίσωση IV ή Νόμος Ampère-Maxwell:**

Δηλώνει ότι τα μαγνητικά πεδία μπορούν να δημιουργηθούν με δύο τρόπους: με ηλεκτρικό ρεύμα (αρχικός «νόμος του Ampere») και με μεταβαλλόμενα ηλεκτρικά πεδία (αυτήν ήταν η προσθήκη του Maxwell). Η προσθήκη του Maxwell στον νόμο του Ampere είναι ιδιαίτερα σημαντική καθότι δείχνει ότι όχι μόνο ένα μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο προκαλεί ένα ηλεκτρικό πεδίο, αλλά και ένα μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί ένα μαγνητικό πεδίο. Ο νόμος περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\nabla \times \mathbf{B} = \text{curl} \mathbf{B} = \mu_0 (\mathbf{J} + \epsilon_0 \partial \mathbf{E} / \partial t)$$

Οι εξισώσεις του Maxwell δεν έγιναν αποδεκτές μέχρι που επιβεβαιώθηκε η ισχύ τους από τον φυσικό Heinrich Hertz το 1887, ο οποίος παρήγαγε και παρατήρησε ηλεκτρομαγνητικά κύματα στο εργαστήριο του. Συνοψίζοντας, καταλήγουμε ότι με τον κατάλληλο συνδυασμό των εξισώσεων του Maxwell μπορούμε να φτιάξουμε κύματα ηλεκτρομαγνητικής φύσης που κινούνται στο χώρο με την ταχύτητα του φωτός. Ο Maxwell ήταν ο πρώτος που κατανόησε ότι το φως είναι ένα ηλεκτρομαγνητικό κύμα το 1861 και έτσι κατάφερε να συνδέσει δύο ακόμα μεγάλες θεωρίες της φυσικής, αυτή του ηλεκτρομαγνητισμού και της οπτικής.

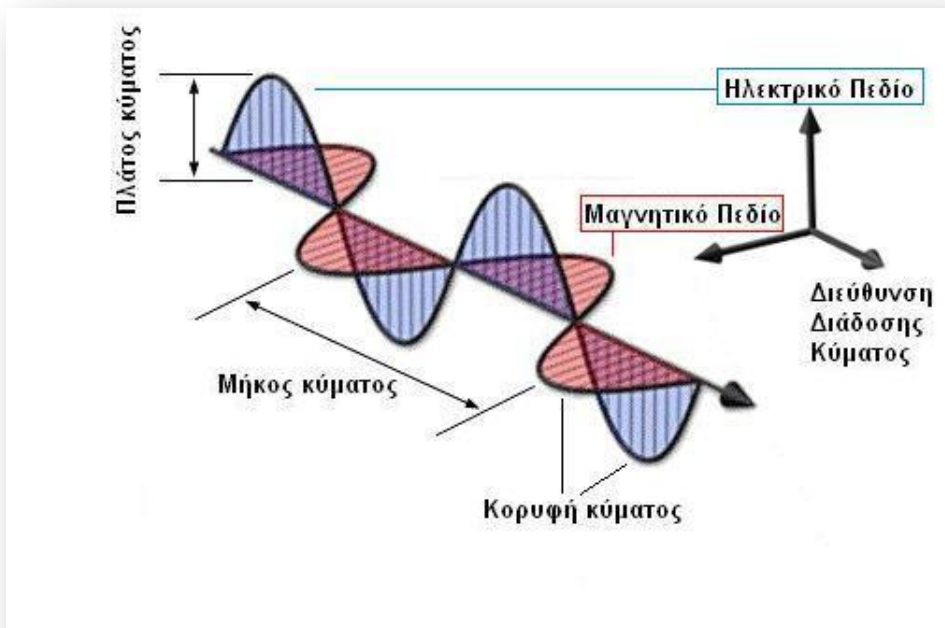
1.3. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ (ΗΜΑ)

Η **Ηλεκτρομαγνητική Ακτινοβολία (ΗΜΑ)** είναι η εκπομπή στον χώρο ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας υπό μορφή κυμάτων που ονομάζονται **ηλεκτρομαγνητικά κύματα**. Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα είναι συγχρονισμένα ταλαντούμενα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία τα οποία ταλαντώνονται σε κάθετα επίπεδα μεταξύ τους και κάθετα προς την διεύθυνση διάδοσης (**εικόνα 1.5**). Διαδίδονται στο κενό με ταχύτητα ίση με την ταχύτητα του φωτός (**c**, **c=299.792.458 m/s**) αλλά και μέσα στην ύλη με ταχύτητα λίγο μικρότερη απ' την ταχύτητα του φωτός.

Τα σημαντικά χαρακτηριστικά των διαφόρων τύπων κυμάτων είναι η απόσταση που καλύπτεται από ένα κύκλο του κύματος, που ονομάζεται **μήκος κύματος (λ)**, και ο αριθμός των κυμάτων που διέρχονται από ένα συγκεκριμένο σημείο ανά δευτερόλεπτο, που είναι η **συχνότητα του κύματος (**f**)**. Οι σημαντικότερες διαφορές των διαφορετικών τύπων κυμάτων σχετίζονται με τη συχνότητα. Η συχνότητα του ηλεκτρομαγνητικού κύματος με την οποία πάλλεται μέσα στο χώρο, είναι η ίδια με τη συχνότητα του παλλόμενου ηλεκτρικού φορτίου που το δημιούργησε.

Για οποιοδήποτε ηλεκτρομαγνητικό κύμα, το γινόμενο του μήκους κύματος και της συχνότητας ισούται με την ταχύτητα του φωτός:

$$c = \lambda f$$



Εικόνα 1.5. Κύμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Τροποποίηση από <http://cr4.globalspec.com/thread/109141/Longitudinal-Electromagnetic-Wave>

Το μήκος κύματος του φωτός συνδέεται με τη συχνότητα με την απλή εξίσωση:

$$f = c/\lambda$$

όπου c η ταχύτητα του φωτός, f η συχνότητα μετρημένη σε Hertz και λ το μήκος κύματος του φωτός μετρημένο σε μέτρα. Από την παραπάνω σχέση εύκολα φαίνεται ότι το μήκος κύματος και η συχνότητα είναι ποσά αντιστρόφως ανάλογα και αύξηση τους ενός προκαλεί μείωση του άλλου κι αντίστροφα. Βέβαια όταν το φως συναντήσει κάποιο υλικό στο δρόμο του, μειώνεται τόσο η ταχύτητά του όσο και το μήκος κύματός του, ενώ η συχνότητά του παραμένει σταθερή.

Η εξίσωση τώρα που συνδέει την ενέργεια ενός φωτονίου και τη συχνότητά του είναι:

$$E=hf = hc/\lambda$$

με E την ενέργεια του φωτονίου και h τη σταθερά του Planck. Αντίστοιχα, η ενέργεια του φωτονίου είναι ανάλογη με τη συχνότητα και αντιστρόφως ανάλογη του μήκους κύματός του.

Μέσα όμως στα υλικά, η κυματική ταχύτητα και το μήκος κύματος εξαρτώνται από τις ηλεκτρομαγνητικές ιδιότητες του υλικού, δηλαδή την **ηλεκτρική αγωγιμότητα (ϵ)** και τη **μαγνητική διαπερατότητα (μ)**. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα καθορίζει τις αλληλεπιδράσεις του υλικού με το ηλεκτρικό πεδίο και η μαγνητική διαπερατότητα τις αλληλεπιδράσεις του υλικού με το μαγνητικό πεδίο. Τα βιολογικά υλικά έχουν μία ηλεκτρική αγωγιμότητα η οποία διαφέρει κατά πολύ από εκείνη του ελεύθερου χώρου, μπορεί και μεταβάλλεται κατά πολλές τάξεις μεγέθους ανάλογα με τη συχνότητα στην περιοχή αυτή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και εξαρτάται από το είδος του βιολογικού ιστού. Η μαγνητική διαπερατότητα όμως των βιολογικών υλικών είναι ίση με αυτή του ελεύθερου χώρου.

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι γύρω από την πηγή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (π.χ. κεραία κινητού τηλεφώνου) υπάρχουν περιοχές οι οποίες χαρακτηρίζονται ως «κοντινό» και ως «μακρινό» πεδίο. Σε αυτές τις περιοχές, τα διαφορετικά μέρη του κύματος (ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο) είναι συγκριτικά περισσότερο ή λιγότερο σημαντικά. Το όριο μεταξύ αυτών των περιοχών δεν είναι ακριβώς καθορισμένο και εξαρτάται από το μήκος κύματος του κύματος που εκπέμπει η πηγή. Συγκεκριμένα, γύρω από το χώρο της πηγής οι δύο συνιστώσες της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας δεν είναι αλληλοεξαρτώμενα (ασύνδετα πεδία), αλλά, σε απόσταση περίπου ίση με το μήκος κύματος (λ) του κύματος οι δύο αυτές συνιστώσες έρχονται σε φάση με αποτέλεσμα οι θετικές ή οι αρνητικές κορυφές της έντασης του ηλεκτρικού και μαγνητικού πεδίου να συμπίπτουν στο χώρο και το χρόνο (συνδεδεμένα πεδία). Προσεγγιστικά, οι δύο περιοχές καθορίζονται με μαθηματικές σχέσεις, λαμβάνοντας υπόψη συγκεκριμένες προσεγγίσεις απλοποίησης. Το μακρινό πεδίο αναφέρεται συχνά και ως περιοχή ακτινοβολίας. Η περιοχή ακτινοβολίας είναι σημαντική διότι εκεί η ένταση του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου μειώνεται με την απόσταση ως $1/r$, οπότε η ηλεκτρομαγνητική ενέργεια ανά μονάδα επιφανείας σε απόσταση r από την πηγή είναι ανάλογη του $1/r^2$.

1.4. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΟ ΦΑΣΜΑ

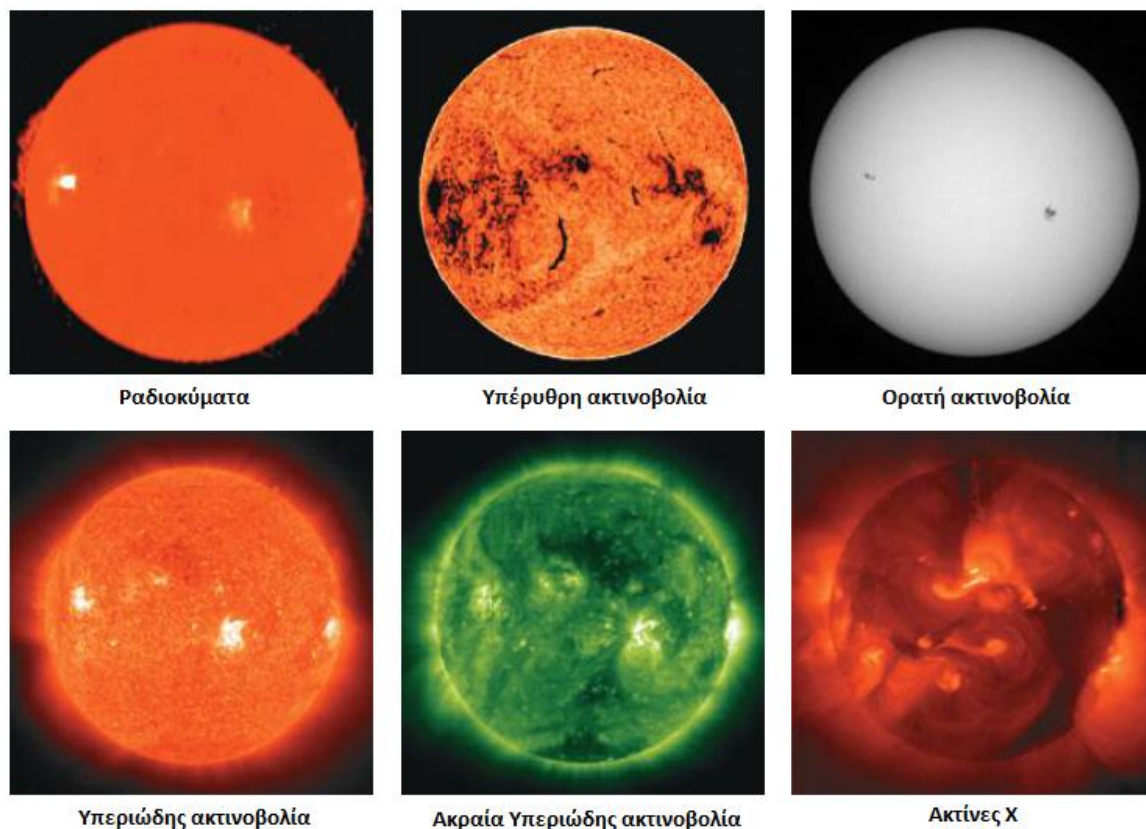
Το σύμπαν είναι διάχυτο από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Το φως που εκπέμπεται από τα άστρα είναι μέρος του συνολικού φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που συναντάται στο σύμπαν.

Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα καλείται το εύρος συχνοτήτων που καλύπτουν τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Ανάλογα με τη συχνότητα τους και αντίστοιχα την ενέργεια που μεταφέρουν τα κύματα, χωρίζεται σε περιοχές. Οι περιοχές αυτές αναφέρονται ονομαστικά και με τα ξεχωριστά χαρακτηριστικά τους (συχνότητα, μήκος κύματος και ενέργεια) στον **πίνακα 1.1**.

Πίνακας 1.1. Αναφέρονται οι περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος με το μήκος κύματος, τη συχνότητα και την ενέργεια που χαρακτηρίζουν την κάθε περιοχή. Ο Πίνακας δεν περιέχει κύματα και πεδία μέσης και χαμηλής συχνότητας

ΠΕΡΙΟΧΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣ	ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ (nm)	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (Hz)	ΕΝΕΡΓΕΙΑ (eV)
Εξαιρετικά χαμηλές συχνότητες	$< 6 \times 10^6$ nm	0 – 300	$< 10^{-9}$
Ραδιοκύματα	$> 10^8$ nm	$< 3 \times 10^9$	$< 10^{-6}$
Μικροκύματα	10^8 nm – 10^6 nm	3×10^9 – 3×10^{11}	10^{-6} – 10^{-3}
Υπέρυθρο	10^6 nm – 750 nm	3×10^{11} – 4×10^{14}	10^{-3} – 1,6
Ορατό φώς	750 nm – 450 nm	4×10^{14} – 7.5×10^{14}	1,6 – 3,2
Υπεριώδες	450 nm -10 nm	7.5×10^{14} - 3×10^{16}	3 – 2000
Ακτίνες X	10 nm – 0.01 nm	3×10^{16} – 3×10^{19}	1200 – $2,4 \cdot 10^5$
Ακτίνες γ	< 0.01 nm	$> 3 \times 10^{19}$	$> 10^5$

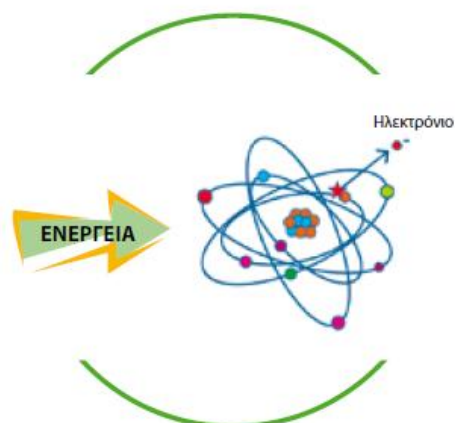
Αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι ο ήλιος εκπέμπει ακτινοβολία σε όλες τις περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και όχι μόνο στην περιοχή του ορατού φωτός που μπορούμε και παρατηρούμε, λόγω περιορισμού του ανθρώπινου οφθαλμού (*Raymond et al, Physics, 2006*). Για το λόγο αυτό ο ήλιος θα είχε διαφορετική απεικόνιση αν μπορούσαμε να τον παρατηρήσουμε σε διαφορετικές περιοχές του φάσματος (**εικόνα 1.6**)



Εικόνα 1.6. Απεικόνιση του ήλιου σε διαφορετικές περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Τροποποίηση από Raymond et al, Physics, 2006.

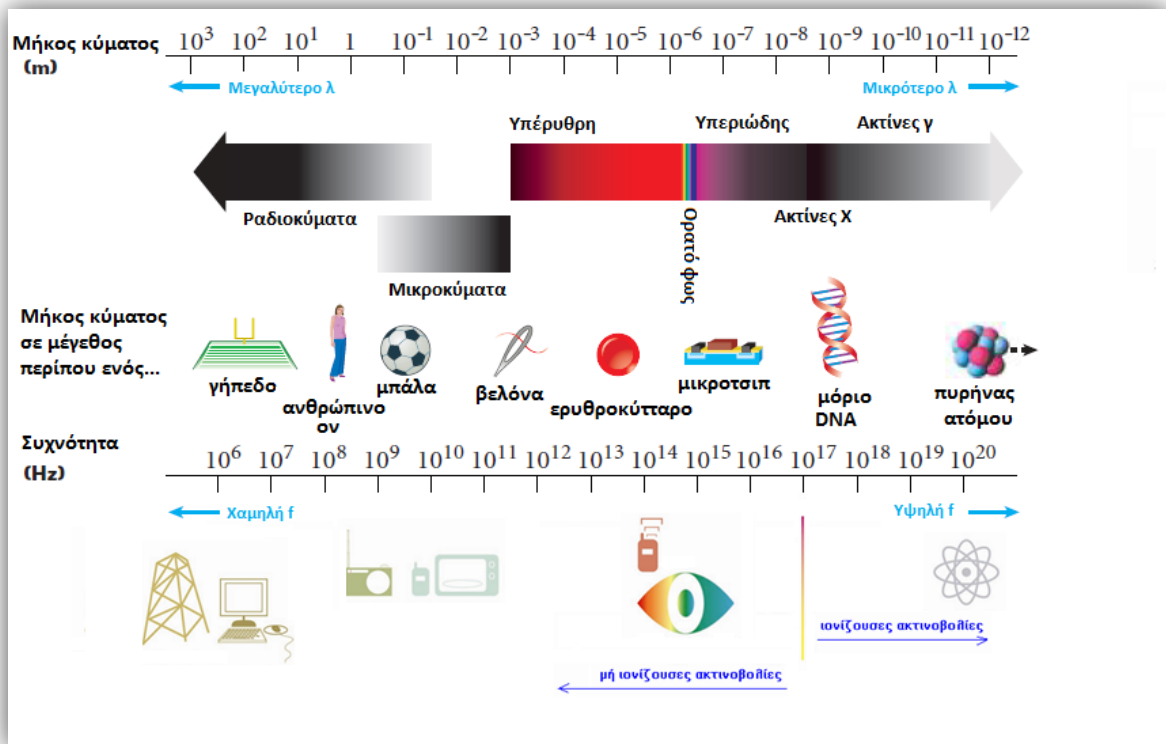
Η κάθε περιοχή του φάσματος χαρακτηρίζεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, από το μήκος κύματος, την ενέργεια και τη συχνότητα των κυμάτων και τη διέπουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και ιδιότητες. Η ενέργεια η πιο σημαντική ιδιότητα διαχωρίζει το φάσμα σε δύο περιοχές: Α) την περιοχή της ιονίζουσας ακτινοβολίας και Β) την περιοχή της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας. **Ιονισμός** καλείται το φαινόμενο κατά το οποίο ένα ηλεκτρόνιο δέχεται τόση ενέργεια όση απαιτείται για να ξεπεράσει το ενεργειακό δυναμικό φράγμα του μορίου ή του ατόμου στο οποίο είναι δεσμευμένο με αποτέλεσμα την απελευθέρωσή του και τη δημιουργία ενός θετικά

φορτισμένου ιόντος (**εικόνα 1.7**). Η δυνατότητα ιονισμού αφορά στην ενέργεια που μεταφέρει η ακτινοβολία.



Εικόνα 1.7. Σχηματική απεικόνιση του φαινομένου του ιονισμού. Πηγή: www.eaee.gr

Ανάλογα λοιπόν με την ενέργεια που μεταφέρει η ακτινοβολία χωρίζεται σε **ιονίζουσα** και **μη ιονίζουσα ακτινοβολία**. **Ιονίζουσα** χαρακτηρίζουμε την ακτινοβολία που προκαλεί ιονισμό και αντίστοιχα **μη ιονίζουσα** την ακτινοβολία που δεν προκαλεί το παραπάνω φαινόμενο. Στην **εικόνα 1.8** παρατηρούμε μία σχηματική απεικόνιση του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και των περιοχών στις οποίες διαχωρίζεται, καθώς και των σχετικών θέσεων της ιονίζουσας και μη ιονίζουσας ακτινοβολίας.



Εικόνα 1.8. Σχηματική απεικόνιση των περιοχών του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Τροποποίηση από Raymond et al., Physics, 2006.

1.4.1 Μη ιονίζουσα ακτινοβολία

Όπως προαναφέρθηκε, η μη ιονίζουσα ακτινοβολία είναι η ακτινοβολία που δεν προκαλεί ιονισμό. Όπως φαίνεται και από την εικόνα 1.8, στη μη ιονίζουσα ακτινοβολία ανήκουν οι περιοχές των ραδιοκυμάτων, των μικροκυμάτων, της υπέρυθρης του ορατού φωτός και της υπεριώδους ακτινοβολίας.

1.4.1.1 Περιοχή εξαιρετικά χαμηλών συχνοτήτων

Στην περιοχή των εξαιρετικά χαμηλών συχνοτήτων (Extremely Low Frequency – ELF) ανήκουν κύματα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με μήκος κύματος μέχρι 6×10^6 nm και συχνότητα 0 – 300 Hz. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ, World Health Organization – WHO) αναφέρει ότι σε αυτές τις συχνότητες πρακτικά, τα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία ενεργούν ανεξάρτητα το ένα από το άλλο και πρέπει να μετρώνται ξεχωριστά λόγω του πολύ μεγάλου μήκους κύματος.

1.4.1.2 Ραδιοκύματα

Τα ραδιοκύματα έχουν τα μεγαλύτερα μήκη κύματος στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα, από 10 cm μέχρι 10 km . Αντίστοιχα, έχουν και τις μεγαλύτερες συχνότητες και τη μικρότερη μεταφερομένη ενέργεια. Εκπέμπονται από τη Γη, τα κτήρια, τα αυτοκίνητα καθώς και από άλλα σώματα όπως οι αστέρες και διάφορα αέρια στο διάστημα.

Εφαρμογές: Χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον στη ραδιοφωνία και στη τηλεόραση καθώς τα κύματα με μεγάλο μήκος κύματος μπορούν να ταξιδέψουν σε μεγάλες αποστάσεις και να διαδοθούν στο κενό, στην ατμόσφαιρα ακόμα και σε μεγάλα βάθη της θάλασσας ξεπερνώντας διάφορα εμπόδια που μπορεί να συναντήσουν. Με αυτόν τον τρόπο μπορούν να μεταφέρουν πληροφορία σχεδόν οπουδήποτε. Ακόμη, πάνω στα ραδιοκύματα έχει βασιστεί η λειτουργία των ραντάρ τα οποία ανιχνεύουν την παρουσία και την κίνηση σωμάτων που εκπέμπουν αυτού του τύπου την ακτινοβολία.

1.4.1.3. Μικροκύματα

Τα μικροκύματα έχουν μήκος κύματος που εκτείνεται από 1 mm μέχρι 30 cm. Τα μικροκύματα θεωρείται ότι αποτελούν μέρος της περιοχής των ραδιοκυμάτων και για το λόγο αυτό αναφέρονται συνήθως μαζί ως περιοχή των «ραδιοσυχνοτήτων». Τα μικροκύματα παράγονται από ηλεκτρικά κυκλώματα και οι πιο γνωστές πηγές της συγκεκριμένης ακτινοβολίας είναι το κινητό τηλέφωνο, το ασύρματο τηλέφωνο, το ασύρματο δίκτυο και τα ραντάρ.

Εφαρμογές: Η πιο γνωστή εφαρμογή τους είναι οι φούρνοι μικροκυμάτων, οι οποίοι μπορούν να θερμάνουν ή και να ψήσουν φαγητά, καθώς η ακτινοβολία αυτή απορροφάται από τις τροφές και τις θερμαίνει. Οι φούρνοι μικροκυμάτων χρησιμοποιούν την ιδιότητα που έχουν τα μικροκύματα (τα οποία μεταφέρουν μεγαλύτερη ενέργεια από τα ραδιοκύματα) να προκαλούν δονήσεις στα μόρια του νερού που υπάρχουν στην τροφή παράγοντας έτσι θερμότητα ανάλογα βέβαια με την ένταση της ακτινοβολίας. Μία λιγότερο γνωστή εφαρμογή των μικροκυμάτων είναι η μεταφορά πληροφοριών καθότι μπορούν να διαπεράσουν την ομίχλη, τον καπνό και τα σύννεφα (αποτελούν μέρος, όπως ήδη αναφέραμε, της περιοχής των ραδιοκυμάτων).

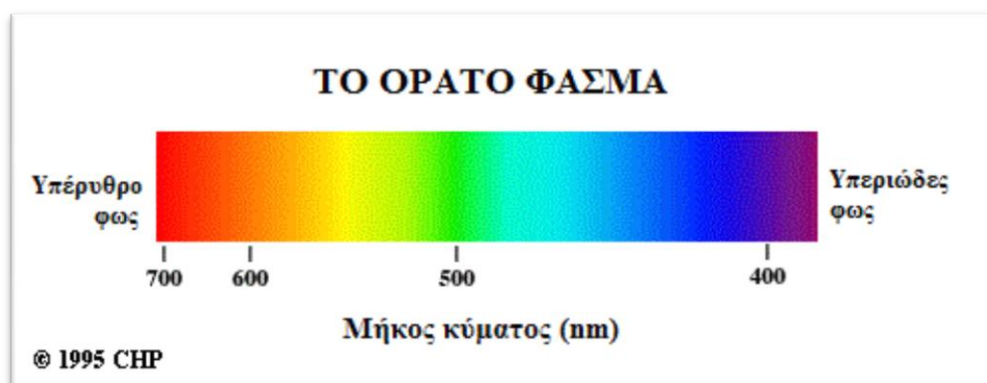
1.4.1.4. Υπέρυθρη ακτινοβολία

Εκτείνεται σε μήκος κύματος από 700 nm (μεγαλύτερο μήκος κύματος ορατής ακτινοβολίας) μέχρι 1mm . Συχνά το ταυτίζουμε με θερμότητα γιατί ζεσταίνει το δέρμα μας. Το ίδιο το ανθρώπινο σώμα εκπέμπει θερμότητα σε περιοχές της υπέρυθρης ακτινοβολίας όπως και όλα τα σώματα λίγο έως πολύ ανάλογα με τη θερμοκρασία τους. Τα υπέρυθρα κύματα απορροφώνται από τα περισσότερα υλικά και επανεμφανίζονται ως θερμότητα από αυτά, καθώς μεγαλώνουν τη θερμοκρασία του υλικού από το οποίο απορροφώνται αυξάνοντας τις ταλαντώσεις και τις κινήσεις των ατόμων του.

Εφαρμογές: Οι πιο κοινές χρήσεις της υπέρυθρης ακτινοβολίας έχουν να κάνουν με τη νυχτερινή όραση, με ανιχνευτές σε δορυφόρους και σε αεροπλάνα, με τη φυσιοθεραπεία καθώς και την αστρονομία.

1.4.1.5. Ορατή ακτινοβολία(ορατό φως)

Είναι η πιο γνωστή μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και ορίζεται ως το μέρος εκείνο του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος το οποίο ανιχνεύει ο ανθρώπινος οφθαλμός. Το ορατό φως παράγεται από την ανακατανομή των ηλεκτρονίων στα άτομα και στα μόρια. Οι διάφορες περιοχές μηκών κύματος του ορατού φωτός ονομάζονται χρώματα, από το ιώδες ($\lambda \sim 4 \times 10^{-7} \text{ m}$) έως το ερυθρό ($\lambda \sim 7 \times 10^{-7} \text{ m}$) (εικόνα 1.9). Η ευαισθησία του ανθρώπινου οφθαλμού δεν είναι σταθερή, αλλά εξαρτάται από το μήκος κύματος και είναι μέγιστη στα μήκη κύματος γύρω στα $5,6 \times 10^{-7} \text{ m}$ (κίτρινο – πράσινο). Αποτελεί τη μικρότερη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.



Εικόνα 1.9. Το φάσμα της ορατής ακτινοβολίας. Τροποποίηση από <http://www.physicsinfo.co.uk/?page=view&id=108>

1.4.1.6 Υπεριώδης ακτινοβολία

Καλύπτει τα μήκη κύματος από $3,8 \times 10^{-7} \text{ m}$ (380 nm) μέχρι τα $6 \times 10^{-8} \text{ m}$ (60 nm). συχνότητα λίγο παραπάνω από αυτή του ορατού φωτός. Ωστόσο, η έντασή τους είναι τέτοια που μπορεί να καταστρέψει ιστούς και κύτταρα. Αυξανόμενης της ενέργειας χωρίζεται σε τρεις επιμέρους κατηγορίες στην UVA, UVB και UVC. Ο ήλιος είναι μία ισχυρή πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας και μικρές δόσεις αυτής της ακτινοβολίας βοηθούν στην παραγωγή της βιταμίνης D και προκαλούν το μαύρισμα του ανθρώπινου δέρματος. Φυσικά, μεγαλύτερες δόσεις προκαλούν σοβαρά εγκαύματα και η υπερβολική έκθεση σε αυτήν έχει θεωρηθεί βασικό αίτιο ανάπτυξης καρκίνου του δέρματος. Το μεγαλύτερο μέρος αυτής της ακτινοβολίας όμως απορροφάται από το στρώμα του όζοντος στην ατμόσφαιρα της Γης, το οποίο τη μετατρέπει σε θερμότητα αυξάνοντας έτσι τη θερμοκρασία του πλανήτη.

Εφαρμογές: Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία χρησιμοποιείται ευρέως στον επιστημονικό χώρο σε διάφορες τεχνικές/μεθόδους, καθώς και από τους αστρονόμους για την παρατήρηση του ηλιακού συστήματος, του γαλαξία μας και άλλων περιοχών του σύμπαντος.

1.4.2. Ιονίζουσα ακτινοβολία

Η ιονίζουσα ακτινοβολία είναι η ακτινοβολία που προκαλεί ιονισμό, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες είναι διεισδυτικές. Η διεισδυτικότητά τους στην ύλη εξαρτάται από το είδος τους και την ενέργεια που μεταφέρουν. Η ποσότητα ενέργειας που μεταφέρεται από την ακτινοβολία στην ύλη ανά χιλιόγραμμο μάζας καλείται δόση ακτινοβολίας. Η πιθανότητα βλάβης της υγείας σχετίζεται άμεσα με τη δόση και το είδος της ακτινοβολίας, καθώς και το είδος του ιστού.

Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες μπορούν να έχουν φυσική προέλευση ή να είναι ανθρωπογενείς. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι ακτινοβολίες από το περιβάλλον (έδαφος, αέρα, νερό) και η κοσμική ακτινοβολία, ενώ στη δεύτερη ανήκουν πρωτίστως οι ιατρικές συσκευές (όπως οι συσκευές ακτίνων X, οι σπινθηρογράφοι, οι συσκευές ακτίνων γ, εφαρμογές ραδιοϊσοτόπων κλπ), πυρηνικοί αντιδραστήρες, αλλά και πολλά οικοδομικά υλικά.

Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις εκπέμπονται ιονίζουσες ακτινοβολίες, στην κατηγορία των οποίων ανήκουν οι υψηλής συχνότητας ακτίνες X και γ, αλλά και οι σωματιδιακές ακτινοβολίες πυρήνων Ηλίου (σωματίδια α) και ηλεκτρονίων

(σωματίδια β). Οι ακτινοβολίες α και β παράγονται κατά την εκδήλωση του φαινομένου της ραδιενέργειας. **Ραδιενέργεια** είναι η ιδιότητα των ασταθών πυρήνων να αποβάλλουν μάζα και ενέργεια, να διασπώνται δηλαδή προκειμένου να μετατραπούν σε πιο σταθερούς πυρήνες. **Μονάδα μέτρησης της ραδιενέργειας** είναι το **Bequerel (Bq)**, που αντιστοιχεί σε μία διάσπαση ασταθούς πυρήνα ανά δευτερόλεπτο. Κατά τη διάσπαση των ασταθών πυρήνων εκπέμπονται σωματίδια και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (αν και όχι πάντα).

1.4.2.1. Ακτίνες X

Οι ακτίνες X, γνωστές και ως ακτίνες Roentgen (από τον επιστήμονα Wilhelm Conrad Roentgen που τις ανακάλυψε), έχουν πολύ μικρά μήκη κύματος (10 nm έως 10^{-4} nm) και έτσι αντίστοιχα μεταφέρουν πολύ μεγάλη ενέργεια και για αυτό το λόγο αναφέρονται συνήθως ως προς την ενέργεια που μεταφέρουν παρά ως προς το μήκος κύματος. Οι ακτίνες X διαχωρίζονται σε 2 υποπεριοχές μήκους κύματος, συχνότητας και ενέργειας:

1. . «Μαλακές ακτίνες X»: 10 nm - 100 pm, 30 PHz - 3 HHz, 120 eV - 12 keV.
2. . «Σκληρές ακτίνες X»: 100 - 10 pm, 3 - 30 HHz, 12 - 120 keV.

Λόγω του ότι μεταφέρουν μεγάλη ενέργεια, έχουν μεγάλη διατρητική ικανότητα και διαπερνούν εύκολα αρκετά υλικά, μέχρι που μπορούν και να καταστρέψουν ιστούς δέρματος πολλών ζώων. Η πιο γνωστή πηγή ακτίνων X είναι η επιβράδυνση ταχέων ηλεκτρονίων καθώς αυτά προσκρούουν σε μεταλλικό στόχο.

Εφαρμογές: Χρησιμοποιούνται στην ιατρική για διαγνώσεις και καταπολέμηση καρκινικών όγκων, στη μελέτη κρυσταλλικών δομών καθώς και στην αστρονομία.

1.4.2.2. Ακτίνες γ

Οι ακτίνες γ , που έχουν τη μεγαλύτερη συχνότητα και τα μικρότερα μήκη κύματος, εκπέμπονται από ραδιενεργούς πυρήνες, σε αντιδράσεις πυρήνων και στοιχειωδών σωματιδίων ή ακόμη και μετά από διάσπαση στοιχειωδών σωματιδίων. Επίσης, το σύμπαν εκπέμπει μεγάλες ποσότητες ακτίνων γ οι οποίες όμως, δεν διαπερνούν ολοκληρωτικά την ατμόσφαιρα της Γης. Όπως και με τις ακτίνες X, οι ακτίνες γ χαρακτηρίζονται από την ενέργεια που μεταφέρουν παρά από το μήκος κύματος ή τη συχνότητα. Οι ακτίνες αυτές έχουν ακόμα μεγαλύτερη διατρητική ικανότητα σε σχέση με τις ακτίνες X και προκαλούν βλάβες στους ιστούς που τις απορροφούν. Μπορούν να διαπεράσουν μία επιφάνεια τσιμέντου με πάχος 3 μέτρα

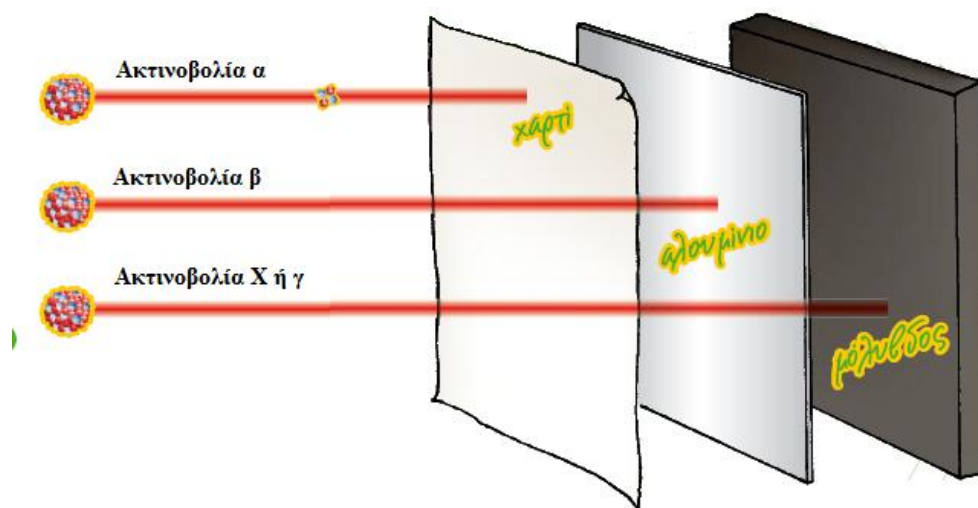
αλλά μπορούν να αποκοπούν από το μόλυβδο, όπως και οι ακτίνες X (εικόνα1.10). Τα μήκη κύματος αυτής της ακτινοβολίας εκτείνονται από 10^{-10} m μέχρι 10^{-14} m. **Εφαρμογές:** Χρησιμοποιούνται στην ιατρική για την καταστροφή καρκινικών κυττάρων.

1.4.2.3 Σωματίδια α – Ακτίνες α

Σωματιδιακή ακτινοβολία που αποτελείται από δύο πρωτόνια και δύο νετρόνια. Συγκεκριμένα, έχει μικρή διεισδυτικότητα και μπορεί να αποκοπεί από ένα φύλλο χαρτί (εικόνα1.10). Είναι δύσκολα ανιχνεύσιμη και αποτελεί σημαντικό κίνδυνο εσωτερικής έκθεσης.

1.4.2.4 Σωματίδια β – Ακτίνες β

Σωματιδιακή ακτινοβολία που αποτελείται από αρνητικά φορτισμένα ηλεκτρόνια. Είναι πιο διεισδυτική από την ακτινοβολία α, αλλά μπορεί να αποκοπεί από φύλλα πλαστικού ή λεπτά μεταλλικά φύλλα (εικόνα1.10). Αποτελεί κίνδυνο εξωτερικής έκθεσης ματιών και δέρματος και κίνδυνο εσωτερικής έκθεσης. Ο βαθμός ανίχνευσης εξαρτάται από την ενέργεια των β σωματιδίων.



Εικόνα 1.10. Απεικόνιση του περιορισμού της διεισδυτικότητας των ακτινοβολιών α, β, γ και X. Τροποποίηση από www.eaee.gr

1.4.2.5 Κοσμική ακτινοβολία

Πρόκειται για σωματιδιακή αλλά και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που προέρχεται από το εξωτερικό διάστημα, δηλαδή από τον ήλιο, καθώς και άλλες άγνωστες ακόμη αστρικές πηγές. Αύξηση της κοσμικής ακτινοβολίας έχουμε κατά τις

εξάρσεις της ηλιακής δραστηριότητας. Η κοσμική ακτινοβολία κατά τη διέλευσή της μέσα από τα στρώματα της γήινης ατμόσφαιρας απορροφάται μερικώς και η έντασή της μειώνεται σταδιακά με αποτέλεσμα να είναι εξασθενημένη στο επίπεδο της επιφάνειας της θάλασσας (μέχρι και εκατοντάδες φορές λιγότερο).

1.4.2.6 Ακτινοβολία από το φυσικό περιβάλλον

Στο φυσικό περιβάλλον στο οποίο ζούμε η ακτινοβολία προέρχεται από το έδαφος και την ατμόσφαιρα. Ειδικότερα, τα πετρώματα, το νερό και ο αέρας περιλαμβάνουν φυσικά ραδιενεργά στοιχεία, όπως είναι το κάλιο, το ράδιο, το ουράνιο και το ραδόνιο. Η ακτινοβολία του εδάφους σε δεδομένη θέση εξαρτάται άμεσα από τη γεωλογική σύσταση των πετρωμάτων της περιοχής.

1.5. ΚΙΝΗΤΗ ΤΗΛΕΦΩΝΙΑ

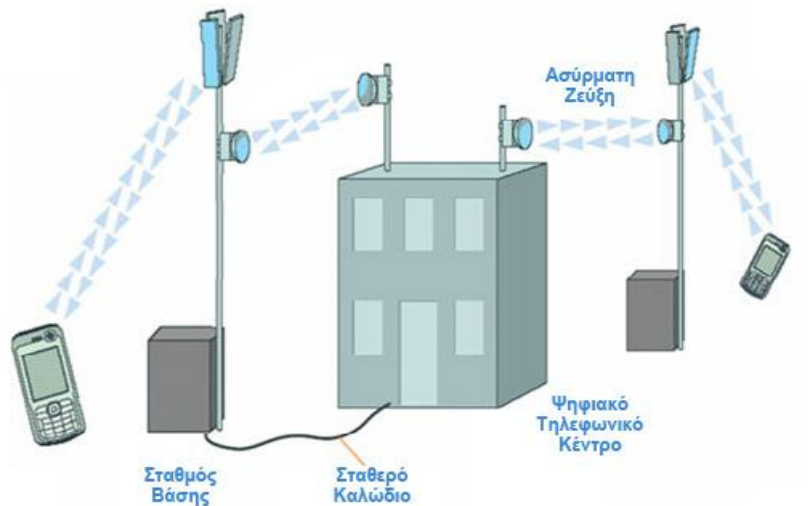
Η **κινητή τηλεφωνία** είναι η δυνατότητα επικοινωνίας (φωνή, κείμενο, δεδομένα) μέσω της ασύρματης μετάδοσης ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων, επιτρέποντας την επικοινωνία εν κινήσει, χωρίς περιορισμούς και καλώδια, ανεξάρτητα από τις γεωγραφικές ιδιαιτερότητες μίας περιοχής. **Κινητό τηλέφωνο** ή απλά **κινητό**, ονομάζεται κατά κύριο λόγο το τηλέφωνο, που δεν εξαρτάται από φυσική καλωδιακή σύνδεση με δίκτυο παροχής τηλεφωνίας και δεν εξαρτάται από κάποια τοπική ασύρματη συσκευή εκπομπής ραδιοφωνικού σήματος χαμηλής συχνότητας. Η επίσημη γέννηση του κινητού τηλεφώνου όπως το ξέρουμε σήμερα πραγματοποιήθηκε το 1973, όταν ο Διευθυντής της Motorola, Δρ. Μάρτιν Κούπερ, περπάτησε στη Νέα Υόρκη κρατώντας στο χέρι του το 1^ο κινητό τηλέφωνο, το οποίο ζύγιζε 900 γρ. και είχε μέγεθος περί τα 25 εκ. (**εικόνα 1.11Α**).



Εικόνα 1.11. *A. Ο Δρ. Μάρτιν Κούπερ με το 1^ο κινητό. Πηγή: http://content.time.com/time/specials/2007/article/0,28804,1677329_1677708_1677825,00.html. B. Η εξέλιξη της εμφάνισης των κινητών τηλεφώνων από το πιο παλιό (αριστερά) στην πιο εξελιγμένη μορφή του (δεξιά). Πηγή: <https://kinitogr.wordpress.com/2015/05/20/alex-ch/>*

Βέβαια, στην αρχή της χρήσης τους τα κινητά τηλέφωνα ήταν πολύ ογκώδη και βαριά, και για αυτό χρησιμοποιούνταν κυρίως στα αυτοκίνητα. Από τότε όμως, έχουν πάρει διαφορετικές όψεις και ενώ αρχικά χρησιμοποιούσαν αναλογικό δίκτυο επικοινωνιών 1^{ης} γενιάς (1G), κατέληξαν στη σημερινή τους, ψηφιοποιημένη, ελαφρότερη και μικρότερη σε μέγεθος μορφή (**εικόνα 1.11B**) και στο 2^{ης} γενιάς ψηφιοποιημένο δίκτυο κινητής επικοινωνίας GSM (Global System for Mobile Telecommunications).

Τα δίκτυα κινητής επικοινωνίας χωρίζονται σε γεωγραφικές περιοχές που ονομάζονται κυψέλες, η καθεμιά από τις οποίες εξυπηρετείται από ένα σταθμό βάσης με κατάλληλη κεραία που καλύπτει ορισμένη έκταση. Τα κινητά τηλέφωνα αποτελούν το σύνδεσμο του χρήστη με το δίκτυο. Το σύστημα είναι σχεδιασμένο έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η διατήρηση της σύνδεσης των κινητών τηλεφώνων με το δίκτυο, καθώς οι χρήστες μετακινούνται από τη μία κυψέλη στην άλλη. Τα κινητά τηλέφωνα επικοινωνούν με τους σταθμούς βάσης, ανταλλάσσοντας ραδιοσήματα. Οι σταθμοί βάσης στη συνέχεια συνδέονται με ένα τηλεφωνικό κέντρο και με αυτόν τον τρόπο γίνεται η διαχείριση της επικοινωνίας. Επομένως, κάθε φορά που δεχόμαστε ή κάνουμε κλήση μέσω του κινητού τηλεφώνου εκπέμπονται ηλεκτρομαγνητικά κύματα από το κινητό στην πλησιέστερη κεραία, η οποία μεταφέρει αυτά τα σήματα, ενσύρματα πλέον, στο τηλεφωνικό κέντρο και από εκεί σε άλλη κεραία που θα τα μεταφέρει σε άλλο κινητό ή σταθερό τηλέφωνο (**εικόνα 1.12**).



Εικόνα 1.12. Λειτουργία δικτύου κινητής τηλεφωνίας. Πηγή: http://sites.google.com/site/plirkaiekp/yliko/Diktya_Kinitis_Tilefwnias.ppt?attredirects=0

Όπως αναφέραμε, οι χρήστες κινούνται και οι κεραιές των σταθμών βάσης της κάθε κυψέλης έχουν συγκεκριμένη εμβέλεια. Έτσι, όταν ο χρήστης απομακρυνθεί από την εμβέλεια της μίας κυψέλης η σύνδεση μεταβιβάζεται στην επόμενη. Αυτό όμως δεν συμβαίνει μόνο όταν το κινητό του χρήστη βρίσκεται σε κλήση αλλά ακόμα και όταν είναι απλά ανοιχτό, κατάσταση στην οποία ανταποκρίνεται σε σήματα ελέγχου από κοντινούς σταθμούς βάσης. Μόλις το κινητό εντοπίσει τον κοντινότερο σταθμό βάσης, ξεκινάει μία σύνδεση με αυτόν και μετά παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση μέχρι ο χρήστης να πραγματοποιήσει ή να δεχθεί μία κλήση. Το κανάλι επικοινωνίας που θα χρησιμοποιήσει το κινητό όταν θα κάνει ή όταν θα δεχθεί μία κλήση καθορίζεται από τον σταθμό βάσης, ο οποίος μπορεί να χειρίζεται ταυτόχρονα μεγάλο αριθμό καναλιών. Παρόλα αυτά, τα συστήματα των διαφόρων κυψελών είναι ενδεδειγμένα ρυθμισμένα ώστε να αποφεύγονται παρεμβολές με άλλα ραδιοσυστήματα που χρησιμοποιούνται, για παράδειγμα, από τις υπηρεσίες άμεσης δράσης, τα ταξί και τους ραδιοφωνικούς και τηλεοπτικούς αναμεταδότες.

Τέλος, να αναφέρουμε ότι το επίπεδο ισχύος αυτών των σημάτων βελτιστοποιείται με προσοχή, ώστε το δίκτυο να λειτουργεί ικανοποιητικά. Γενικά, τα κινητά τηλέφωνα είναι κατασκευασμένα με αυτόματο έλεγχο ισχύς εκπομπής σήματος ώστε να μειώνεται όσο το δυνατόν περισσότερο η εκπεμπόμενη ενέργεια, κάτι όμως που δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθεί με σιγουριά, καθώς η δοσιμετρία της ισχύος αυτής είναι αδύνατη και έτσι ο άνθρωπος δεν μπορεί να εκτιμήσει την επικινδυνότητα κάθε κλήσης.

1.5.1. Συστήματα κινητής τηλεφωνίας GSM και UMTS

Στο σύστημα GSM (Global System for Mobile Telecommunications) η περιοχή συχνοτήτων της κινητής τηλεφωνίας υποδιαιρείται σε υποπεριοχές με εύρος 200kHz («κανάλια»). Κάθε σταθμός βάσης επικοινωνεί με τα κινητά τηλέφωνα που βρίσκονται στην περιοχή κάλυψης της κυψέλης συνήθως με 6-12 κανάλια. Τα κανάλια αυτά διαφοροποιούνται μεταξύ γειτονικών κυψελών ώστε να μην μπλέκονται μεταξύ τους. Ο αριθμός των καναλιών όμως είναι περιορισμένος και για αυτό το λόγο τα ίδια κανάλια ξαναχρησιμοποιούνται σε διαφορετικές κυψέλες, οι οποίες όμως βρίσκονται όσο πιο μακριά γίνεται μεταξύ τους, για να αποφεύγονται παρεμβολές. Κάθε κανάλι μπορεί να χρησιμοποιεί ταυτόχρονα έως 8 συνδρομητές το πολύ, οι οποίοι θα χρησιμοποιήσουν το κανάλι για λίγο χρόνο (περίπου 0,577 ms).

Το σύστημα UMTS (Universal Mobile Telecommunication System) αποτελεί την τεχνολογία 3^{ης} γενιάς κινητής τηλεφωνίας και επιτρέπει τη μετάδοση δεδομένων, συμπεριλαμβανομένης εικόνας και ήχου, με πολύ υψηλές ταχύτητες σε πραγματικό χρόνο.

Στην Ελλάδα υπάρχουν τρία δίκτυα κινητής τηλεφωνίας που χρησιμοποιούν το ψηφιακό σύστημα επικοινωνίας GSM: η COSMOTE, η WIND και η VODAFONE. Οι περισσότερες από αυτές χρησιμοποιούν και τεχνολογία 3^{ης} αλλά και 4^{ης} γενιάς (4G) για τη μεταφορά δεδομένων. Οι εταιρείες κινητής χρησιμοποιούν ζώνες συχνοτήτων 800 MHz, 900 MHz, 1800 MHz, 2100 MHz και 2600 MHz.

1.6. ΒΑΣΗ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΤΥΠΟΥ DECT (Digital Enhanced (European) Cordless Telephone)

Τα ασύρματα τηλέφωνα εμφανίστηκαν πρώτη φορά το 1977 όταν δόθηκε η πρώτη άδεια λειτουργίας στους Douglas G. Talley και L. Duane Gregory για το πρώτο ασύρματο το οποίο λειτουργούσε στη συχνότητα των 27 MHz με περιορισμένο όμως αριθμό καναλιών, κάτι που δεν επέτρεπε μεγάλη εμβέλεια, καλή ποιότητα ήχου και ασφάλεια στις κλήσεις. Για το λόγο αυτό και με την πάροδο των χρόνων, παραχωρήθηκαν περαιτέρω συχνότητες από τον FCC (Federal Communication Commission), αρχικά στις συχνότητες 47-49 MHz και το 1994 στη ζώνη 900 MHz που λειτουργούσαν τα πρώτα ψηφιακά ασύρματα τηλέφωνα. Στο αρχικό αναλογικό μοντέλο του ασύρματου τηλεφώνου που λειτουργούσε σε αυτή τη

συχνότητα μπορούσε να γίνει υποκλοπή των συνομιλιών κάτι που όμως εξαλείφθηκε με την εισαγωγή της τεχνολογίας του DSS (Digital Spread Spectrum) και τελικά της τεχνολογίας NDSS (Newer Digital Spread Spectrum). Η τελευταία «επέτρεπε» τη μεταφορά της ψηφιακής πληροφορίας σε τμήματα μέσα από διαφορετικές συχνότητες και έτσι δε μπορούσε να υποκλαπεί. Το 1998 παραχωρήθηκε επίσης η συχνότητα των 2,4 GHz ενώ το 2003 παραχωρήθηκε και η συχνότητα των 5,8 GHz λόγω «συνωστισμού» στη συχνότητα των 2,4 GHz από τη μεγάλη αύξηση της αγοράς ασύρματων τηλεφώνων.

Πλέον, τα ασύρματα τηλέφωνα χρησιμοποιούν την τεχνολογία DECT (Digital Enhanced Cordless Telephone). Η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιεί μία περιοχή συχνοτήτων που αποκαλείται Unlicensed Personal Communications Services που στην Ελλάδα περιλαμβάνει την περιοχή συχνοτήτων 1880-1900 MHz. Συγκεκριμένα, απασχολεί 10 κανάλια από τη συχνότητα των 1881.792 MHz μέχρι 1897.344 MHz, τα οποία διαιρούνται κάθε 2 MHz περίπου (1,728 MHz) (πίνακας 1.2).

Το ασύρματο τηλέφωνο αποτελεί συνδυασμό τηλεφώνου και ραδιοφωνικού πομπού/δέκτη. Η βάση είναι συνδεδεμένη με ένα ρευματοδότη μέσω καλωδίου σύνδεσης ενώ το ακουστικό συνδέεται με αυτή μέσω μίας ράδιο-σύνδεσης. Η ράδιο-σύνδεση αντικαθιστά το καλώδιο μεταξύ της βάσης και του ακουστικού. Η σύνδεση του ακουστικού με τη βάση γίνεται με παρόμοιο τρόπο με τη σύνδεση του κινητού τηλεφώνου με τον σταθμό βάσης αλλά ακολουθείται διαφορετική διαδικασία μετατροπής του ηλεκτρομαγνητικού κύματος σε κλήση.

Η βάση δέχεται την κλήση μέσω της τηλεφωνικής γραμμής, τη μετασχηματίζει σε ραδιοφωνικό σήμα και στη συνέχεια την εκπέμπει (πομπός). Το ακουστικό (δέκτης) δέχεται το ραδιοφωνικό σήμα από τη βάση, το μετασχηματίζει σε ηλεκτρικό και το μεταφέρει στο ηχείο που μετατρέπεται σε ήχο. Κατά τη διάρκεια της κλήσης το ακουστικό εκπέμπει τη φωνή (πομπός) ως δεύτερο ραδιοφωνικό σήμα προς τη βάση (δέκτης), η οποία το μετατρέπει, παρομοίως, σε ηλεκτρικό και το μεταφέρει μέσω του καλωδίου στον συνομιλητή ως ήχο. Αυτό το πρότυπο επικοινωνίας ονομάζεται duplex frequency και μας επιτρέπει να ακούμε και να μιλάμε ταυτόχρονα.

Όπως συμβαίνει και με την επικοινωνία του κινητού με το σταθμό βάσης έτσι και σε αυτό το σύστημα ασύρματης επικοινωνίας υπάρχει συνεχής εκπομπή ακτινοβολίας. Η βάση προσπαθεί να επικοινωνεί συνεχώς με το ακουστικό με ρυθμό επανάληψης εκπομπής τα 100 Hz. Ο τρόπος επικοινωνίας τους είναι μέσω πλαμών

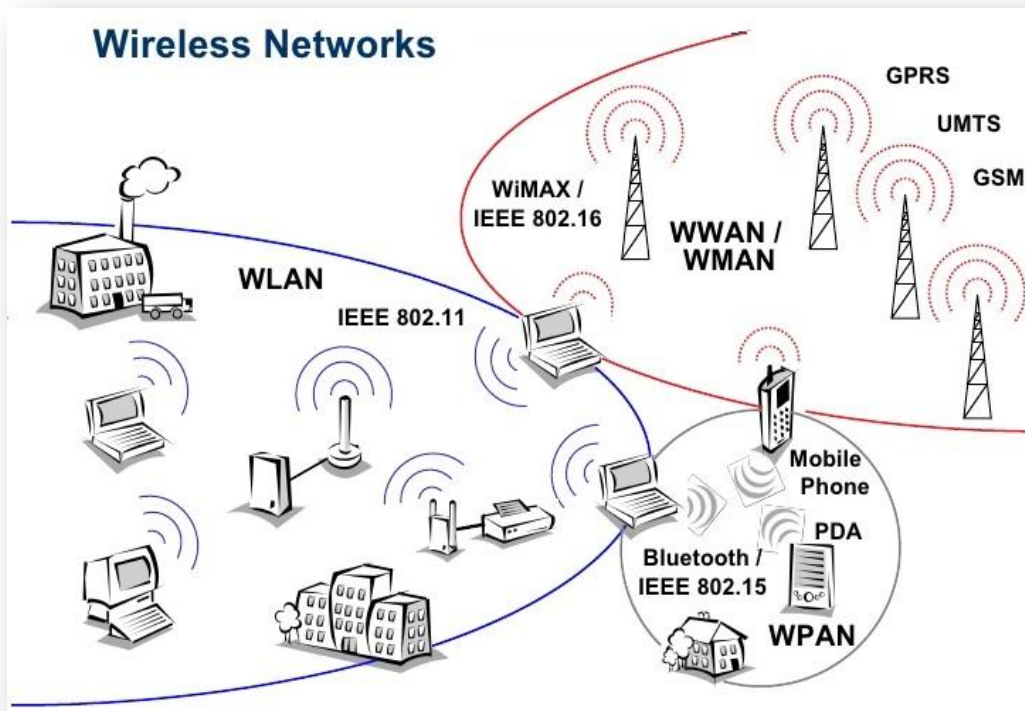
διάρκειας 0,08 msec όταν η βάση δεν είναι συζευγμένη με το ακουστικό και 0,38 msec όταν υπάρχει σύζευξη και πραγματοποιείται κλήση (*Margaritis et al, 2014*). Αντίστοιχα, η ισχύς εξόδου της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας είναι της τάξεως των 10 mW έως 250 mW (πίνακας 1.2).

Πίνακας 1.2 Χαρακτηριστικά τεχνολογίας DECT. Πηγή: *Wireless Communication and Networks, Stalling Williams, p.328, 2nd edition, 2005*

	DECT
Εύρος ζώνης συχνοτήτων	20 MHz
Συχνότητες	1880-1900 MHz
Εύρος καναλιών	1,728 MHz
Αριθμός καναλιών	10
Αριθμός διαύλων/κανάλι	12
Αριθμός διαύλων	120
Ρυθμός μεταδιδόμενων δεδομένων	1,152 Mbps
Μεγαλύτερη ισχύς εξόδου εκπομπής	250 mW
Μικρότερη ισχύς εξόδου εκπομπής	10 mW

1.7. ΑΣΥΡΜΑΤΟ ΔΙΚΤΥΟ

Ως ασύρματο δίκτυο χαρακτηρίζεται το τηλεπικοινωνιακό δίκτυο (τηλεφωνικό ή δίκτυο υπολογιστών) που χρησιμοποιεί ραδιοκύματα ως φορείς πληροφοριών και όχι κάποιον τύπο καλωδίου. Τα δεδομένα, δηλαδή, μεταφέρονται μέσω ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων με συχνότητα η οποία εξαρτάται κάθε φορά από τον ρυθμό μετάδοσης δεδομένων που απαιτείται να υποστηρίξει το δίκτυο. Παλαιότερα τα δίκτυα ήταν αναλογικά αλλά πλέον σήμερα όλα τα ασύρματα δίκτυα είναι ψηφιακά και κατά συνέπεια εντάσσονται ουσιαστικά στην κατηγορία των δικτύων υπολογιστών. Στα ασύρματα δίκτυα εντάσσονται τα δίκτυα κινητής τηλεφωνίας, οι δορυφορικές επικοινωνίες και τα ασύρματα δίκτυα γνωστά ως WLAN, WWAN, WMAN και WPAN (εικόνα 1.13). Παρόλο που η τηλεόραση και το ραδιόφωνο είναι τηλεπικοινωνιακά ασύρματα, δεν μπορούν να ενταχθούν σε αυτήν την κατηγορία δικτύων γιατί η μετάδοσή τους γίνεται προς πάσα κατεύθυνση χωρίς να υπάρχει ένα δομημένο «δίκτυο» συσκευών (τηλεπικοινωνιακοί κόμβοι).

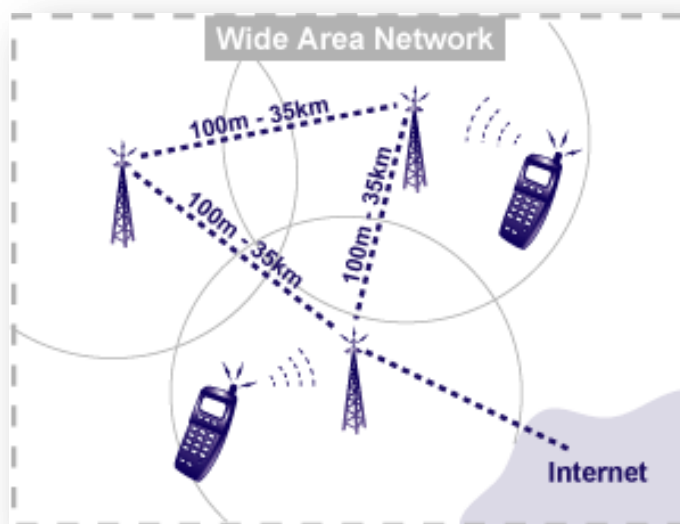


Εικόνα 1.13. Συνοψισμός και αναπαράσταση ασύρματων δικτύων WPAN, WLAN, WMAN, WWAN.
 Πηγή: <http://image.slidesharecdn.com/1-1networking-basics-110926053107-phpapp01/95/networking-basics-54-728.jpg?cb=1317016080> <http://image.slidesharecdn.com/1-1networking-basics-110926053107-phpapp01/95/networking-basics-54-728.jpg?cb=1317016080>

1.7.1. Ασύρματη σύνδεση WWAN

Η ασύρματη σύνδεση WWAN (Wireless Wide Area Network) αναφέρεται στα ασύρματα δίκτυα ευρείας περιοχής. Η σύνδεση αυτή σε αντίθεση με την ασύρματη σύνδεση WLAN έχει μεγαλύτερη εμβέλεια και χρησιμοποιεί διαφορετική τεχνολογία σύνδεσης σε σχέση με την τελευταία. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιεί τεχνολογίες σύνδεσης κινητής τηλεφωνίας όπως την τεχνολογία GSM, UMTS κ.λ.π. για τη μεταφορά δεδομένων, οι οποίες τεχνολογίες παρέχονται σε τοπικό επίπεδο (π.χ. σε μία χώρα), σε όλη την επικράτεια αλλά και σε παγκόσμιο επίπεδο, από έναν πάροχο υπηρεσιών ασύρματου δικτύου (εικόνα1.14). Έτσι, ένας χρήστης φορητού υπολογιστή μπορεί να συνδεθεί μέσω WWAN, πάντα εντός των ορίων του κυψελωτού συστήματος κινητής τηλεφωνίας του παρόχου που έχει επιλέξει, και να συνδεθεί στο Διαδίκτυο. Η ασύρματη σύνδεση WWAN χρησιμοποιεί μεθόδους κρυπτογράφησης και επιβεβαίωσης για να παρέχει στον χρήστη ασφαλή σύνδεση στο Διαδίκτυο. Παρόλα αυτά, στην αρχή της χρήσης της τεχνολογίας GSM (2G) η

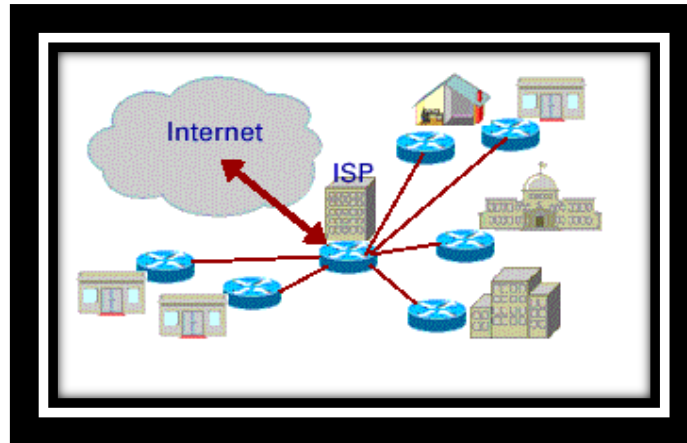
σύνδεση δεν ήταν ασφαλής, μέχρι την εμφάνιση της τεχνολογίας UMTS (3G) που δεν έχει γίνει ακόμα εφικτή η αποκρυπτογράφηση της. Παράδειγμα αυτού του είδους σύνδεσης είναι η ασύρματη σύνδεση WWAN αναφέρεται στα δίκτυα κινητής τηλεφωνίας 3G και 4G που χρησιμοποιούνται ευρέως από τους χρήστες κινητών τηλεφώνων για τη σύνδεση στο Διαδίκτυο εν απουσία ελεύθερου δικτύου Wi-Fi.



Εικόνα 1.14. Σχηματική απεικόνιση ευρείας περιοχής ασύρματου δικτύου WWAN. Πηγή: http://www.e-cartouche.ch/content_reg/cartouche/LBStech/en/image/networks-wwan.png

1.7.2. Ασύρματη σύνδεση WMAN

Η ασύρματη σύνδεση WMAN (Wireless Metropolitan Area Network) χρησιμοποιείται από ένα δίκτυο υπολογιστών που συνδέει τους χρήστες εντός μίας συγκεκριμένης γεωγραφικής περιοχής ή μίας περιοχής μεγαλύτερης σε μέγεθος από αυτή που καλύπτεται από μία σύνδεση WLAN αλλά μικρότερη από αυτή που καλύπτει μία σύνδεση WWAN. Ο όρος WMAN εφαρμόζεται στις διασυνδέσεις δικτύων μίας πόλης σε ένα ευρύ δίκτυο. Χρησιμοποιείται επίσης για τη διασύνδεση διαφόρων τοπικών συνδέσεων σε μία κεντρική γραμμή.

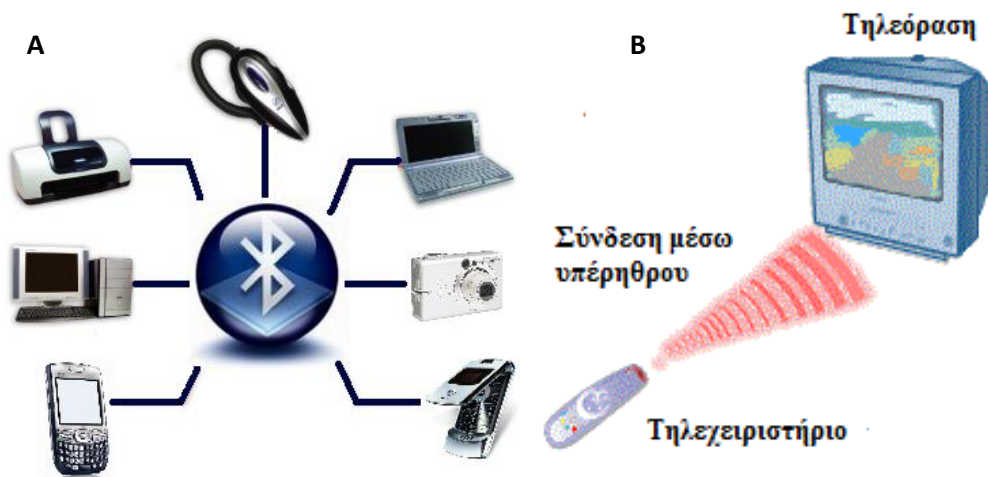


Εικόνα 1.15. Σχηματική απεικόνιση ασύρματου μητροπολιτικού δικτύου WMAN. Πηγή : <http://www.mastermagazine.info/termino/wp-content/uploads/man.gif>

1.7.3. Ασύρματη σύνδεση WPAN

Η ασύρματη σύνδεση WPAN (Wireless Personal Area Network) αφορά δίκτυα τα οποία χρησιμοποιούνται για μετάδοση δεδομένων μεταξύ υπολογιστών, κινητών και tablets. Το εύρος του εκτιμάται από λίγα εκατοστά μέχρι λίγα μέτρα. Σε αυτή την κατηγορία ασύρματης σύνδεσης, συγκαταλέγονται διάφορες τεχνολογίες εκ των οποίων οι πιο γνωστές είναι οι Bluetooth και IDA (Infrared Data Association).

Στην τεχνολογία Bluetooth χρησιμοποιούνται μικρής εμβέλειας ραδιοκύματα τα οποία καλύπτουν μέχρι 10 μέτρα περίπου (**εικόνα 1.16A**). Τη συγκεκριμένη τεχνολογία χρησιμοποιούν τα ασύρματα ποντίκια ή πληκτρολόγια των υπολογιστών, καθώς και τα ασύρματα ακουστικά ή οι ασύρματοι εκτυπωτές. Στην τεχνολογία IDA χρησιμοποιείται υπέρυθρο φως (του οποίου η συχνότητα βρίσκεται λίγο πιο κάτω από το ορατό φάσμα). Αυτή την τεχνολογία χρησιμοποιούν κάποια πληκτρολόγια, εκτυπωτές και κυρίως τα χειριστήρια της τηλεόρασης (**εικόνα 1.16B**).



Εικόνα 1.16. Εφαρμογές προσωπικού ασύρματου δικτύου WPAN. **A.** Bluetooth. Πηγή: <http://datateca.unad.edu.co/contenidos/100201/HT2013Exe/image022.png>. **B.** Τεχνολογία IDA. Τροποποίηση από: http://www.conniq.com/images/PHY_infrared.gif.

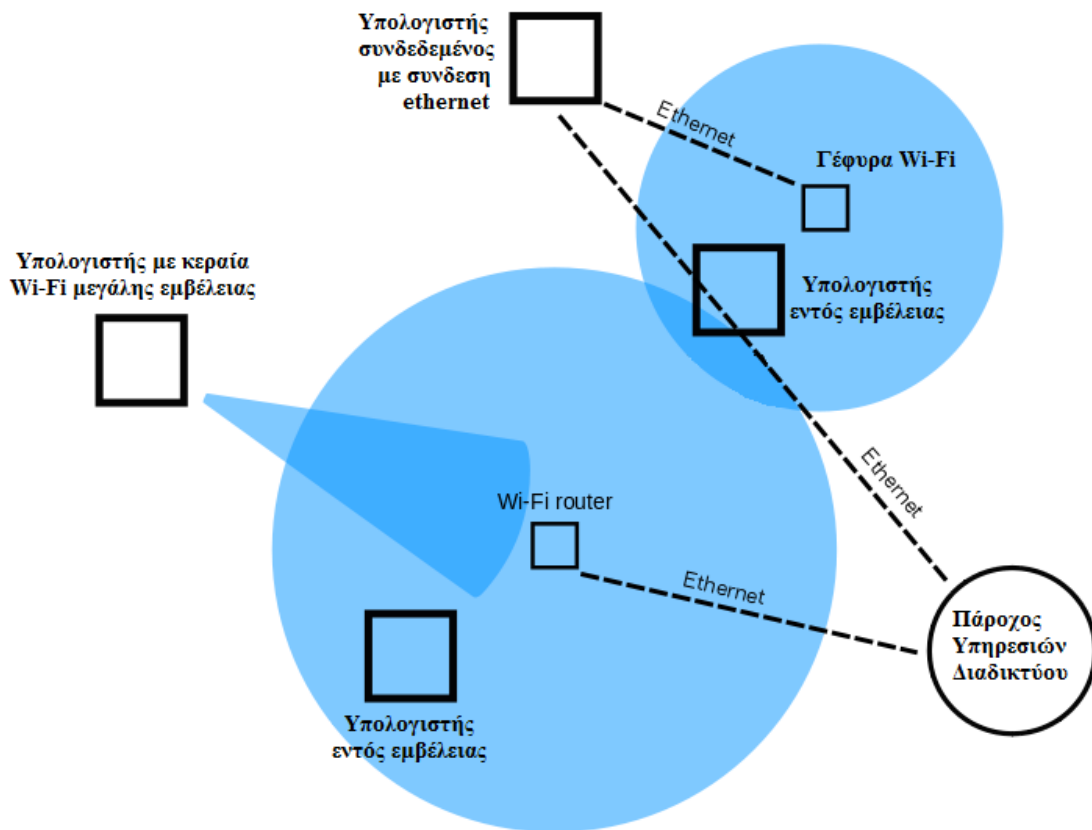
1.7.4. Ασύρματη σύνδεση WLAN – WiFi (Wireless Fidelity)

Είναι η πιο ευρέως γνωστή και **σήμερα χρησιμοποιούμενη** εφαρμογή των ασύρματων δικτύων. Αποτελεί ένα ασύρματο δίκτυο υπολογιστών στο οποίο μπορούν να συνδεθούν 2 ή και περισσότερες συσκευές, μέσω μίας ασύρματης μεθόδου διανομής συχνοτήτων. Οι συσκευές αυτές όμως θα πρέπει να βρίσκονται σε μία περιορισμένη, τοπική περιοχή όπως ένα σπίτι, ένα σχολείο ή ένα σύνολο γραφείων στον ίδιο όροφο. Αυτού του είδους η σύνδεση επιτρέπει στον χρήστη να κινείται μέσα σε μία τοπικά καλυμμένη περιοχή και να έχει σύνδεση στο δίκτυο (**εικόνα 1.17**).

Οι περισσότερες καινούριες συνδέσεις τύπου WLAN (Wireless Local Area Network) βασίζονται στο πρωτόκολλο IEEE 802.11 και για αυτό πωλούνται στην αγορά υπό το όνομα Wi-Fi, που είναι η τεχνολογία που χρησιμοποιείται για πρόσβαση στο Διαδίκτυο και τη δημιουργία ασύρματων συνδέσεων μεταξύ διαφόρων συσκευών. Ο όρος Wi-Fi ορίζεται ως η τεχνολογία σύνδεσης αυτών των ασύρματων δικτύων και χρησιμοποιείται ευρέως, για να περιγράψει κάθε ασύρματη σύνδεση που χρησιμοποιεί συσκευές, που πληρούν τα κριτήρια λειτουργίας του πρωτοκόλλου IEEE 802.11.

Το ασύρματο δίκτυο WiFi λειτουργεί στις συχνότητες 2,4 GHz, 3,6 GHz και 5 GHz, με το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο εύρος συχνοτήτων, να βρίσκεται κοντά στην περιοχή των 2,4 GHz. Τη συχνότητα αυτή, όμως, χρησιμοποιούν και το Bluetooth και

ο φούρνος μικροκυμάτων. Για το λόγο αυτό, η τεχνολογία WiFi χρησιμοποιεί διάφορες σηματοδοτικές μεθόδους, προκειμένου να ξεπεράσει τη συγκεκριμένη ταύτιση συχνοτήτων, όπως το εκτεταμένο φάσμα άμεσης ακολουθία (Direct-Sequence Spread Spectrum - DSS), με πλάτος καναλιών 22MHz στο οποίο βασίστηκε το πρωτόκολλο IEEE 802.11b. Η DSSS είναι μια τεχνική εξάπλωσης φάσματος (spread spectrum). Αυτό σημαίνει ότι το σήμα όταν εκπέμπεται, απλώνεται σε ένα αρκετά μεγαλύτερο εύρος συχνοτήτων, ενώ στη διαδικασία της λήψης του γίνεται το αντίστροφο. Η πολύτιμη ιδιότητα αυτής της τεχνικής είναι, ότι ο θόρυβος και οι τυχόν παρεμβολές απορρίπτονται σε μεγάλο βαθμό. Με τον τρόπο αυτό χρησιμοποιούμε για τη μετάδοση περισσότερο φάσμα συχνοτήτων, από την άλλη κερδίζουμε σε ποιότητα μετάδοσης. Παρόλα αυτά, από τα 13 κανάλια που έχει επιτραπεί στην Ευρώπη, να γίνεται αυτή η μετάδοση σήματος, μόνο τρία δεν αλληλεπικαλύπτονται, με αποτέλεσμα να υπάρχει συνωστισμός στις συγκεκριμένες συχνότητες από τις συσκευές. Για το λόγο αυτό, τα τρία αυτά κανάλια οργανώνονται σε γειτονικές κυψέλες, για να μην υπάρχουν τυχόν παρεμβολές σήματος μεταξύ τους. Πλέον, σύμφωνα με το πρωτόκολλο IEEE 802.11g και αργότερα το IEEE 802.11n, χρησιμοποιείται η τεχνολογία διαίρεσης συχνότητας με ορθογώνιους παλμούς (Orthogonal Frequency-Division-Multiplexing – OFDM) με πλάτος καναλιών 20 MHz. Στη χώρα μας χρησιμοποιείται το πρότυπο IEEE 802.11g. Με την τεχνολογία αυτή, τα ψηφιακά δεδομένα κωδικοποιούνται σε πολλαπλές συχνότητες-φορείς. Χρησιμοποιείται μεγάλος αριθμός υπο-καναλιών που μεταφέρουν τα δεδομένα σε πολλαπλά παράλληλα κανάλια ή σε πολλαπλές ροές δεδομένων. Κάθε υπο-κανάλι μορφοποιείται με συμβατικό τρόπο, με μικρό ρυθμό αλλαγών όμως, διατηρώντας έτσι τη ροή δεδομένων στα επίπεδα των μορφοποιήσεων σε συνδέσεις που αφορούν ένα κανάλι. Το πρωταρχικό πλεονέκτημα της συγκεκριμένης τεχνολογίας είναι η ικανότητα της να ανταπεξέρχεται στις συνθήκες που αφορούν πολλαπλά κανάλια και ειδικά την εξασθένιση του σήματος λόγω αυτών.



Εικόνα 1.17. Σχηματική απεικόνιση τοπικού ασύρματου δικτύου WLAN. Τροποποίηση από: https://en.wikipedia.org/wiki/Wireless_LAN

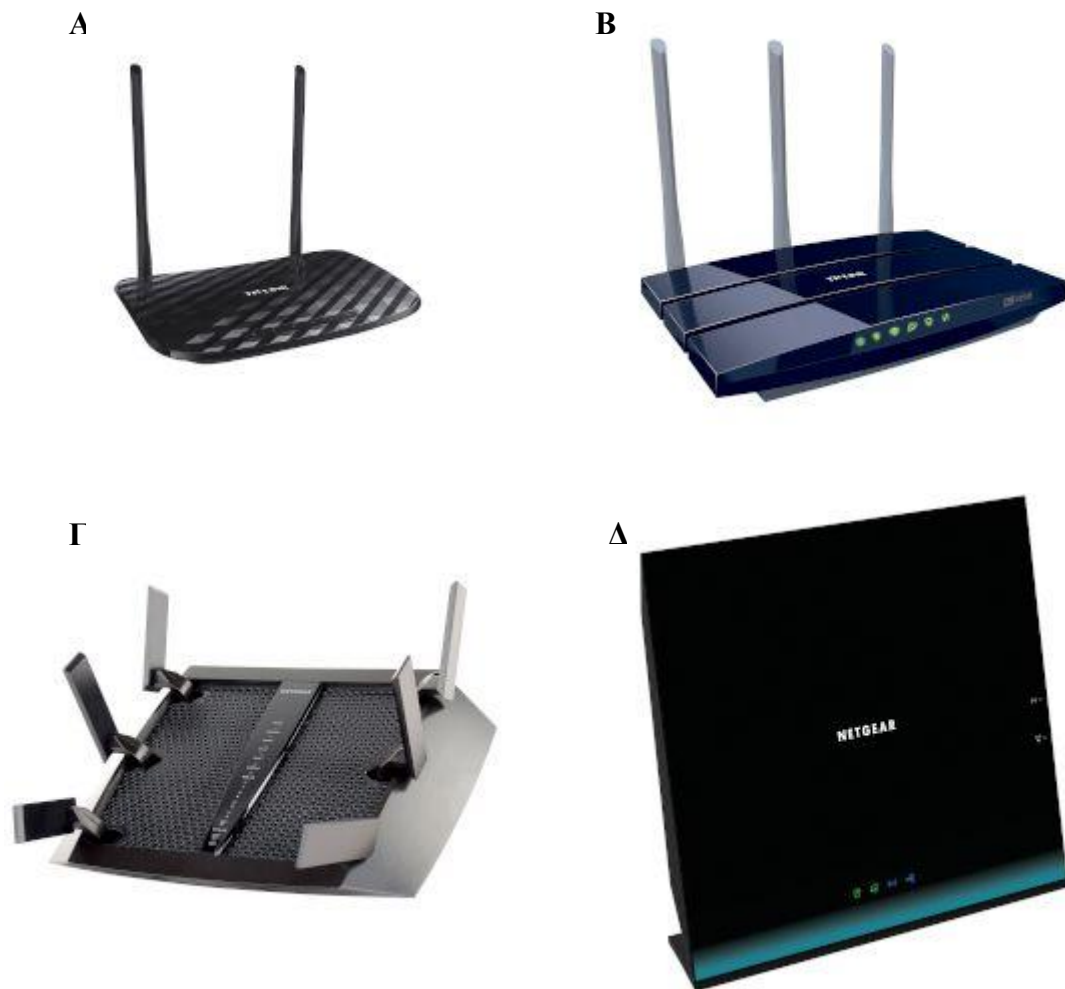
Τα ασύρματα τοπικά δίκτυα εργάζονται σε κάποια από τις ζώνες ISM (Instrumentation, Scientific, and Medical). Αυτές είναι ζώνες συχνοτήτων που η χρήση τους δεν απαιτεί αδειοδότηση (unlicensed). Η χρήση τους προορίζεται, όπως αναφέρει και η ονομασία τους, για χρήση σε βιομηχανικό περιβάλλον, για επιστημονικούς – εκπαιδευτικούς – ιατρικούς σκοπούς. Σε κάθε περίπτωση δεν προορίζεται για εμπορική εκμετάλλευση και για αυτό άλλωστε οι συχνότητες αυτές δεν αδειοδοτούνται. Οι περισσότερες από αυτές τις ζώνες είναι διεθνείς, δηλαδή, ισχύουν σε όλον τον κόσμο. Όμως, υπάρχουν διαφοροποιήσεις τόσο στο φάσμα που διατίθεται όσο και στους ρυθμιστικούς κανόνες, όπως περιγράφονται από την κάθε εθνική ρυθμιστική αρχή. Ο βασικός περιορισμός είναι ότι το εύρος αυτό δε θα χρησιμοποιείται για εμπορική χρήση και ότι η ισοδύναμη εκπεμπόμενη ισχύς, EIRP (Effective Isotropically Radiated Power) δε θα ξεπερνά τα 100mw (20dBm). Έτσι, στην Ελλάδα έχει δοθεί για ελεύθερη χρήση το εύρος συχνοτήτων από 2402MHz ως 2482MHz. Στην **εικόνα 1.18** αναφέρονται κανάλια συχνοτήτων εκπομπής του WiFi

καθώς και η μέση και η μέγιστη τιμή έντασης του Ηλεκτρικού πεδίου E (Margaritis et al, 2014).

Battery:	Ext. Power	GPS:	37°58'02.2" N	Ant:	3AX 0.4-6G	SrvTbl:	Ger.GSM1800
15.04.10	14:12:45	23°47'09.5" E	Cable:	---	Std:	ICNIRP GP	
Peak Table							
Index	Frequency	Service	Avg	Max			
1	2 435.951 MHz		92.62 mV/m	1.311 V/m			
2	2 473.069 MHz		89.78 mV/m	1.139 V/m			
3	2 443.023 MHz		78.38 mV/m	1.286 V/m			
4	2 429.004 MHz		75.99 mV/m	1.276 V/m			
5	2 452.978 MHz		72.33 mV/m	1.292 V/m			
6	2 406.084 MHz		70.24 mV/m	1.021 V/m			
7	2 451.151 MHz		69.31 mV/m	1.322 V/m			
8	2 408.013 MHz		69.20 mV/m	1.279 V/m			
9	2 454.149 MHz		68.46 mV/m	1.251 V/m			
10	2 431.149 MHz		67.99 mV/m	1.303 V/m			
11	2 413.128 MHz		67.63 mV/m	1.157 V/m			
Isotropic							
Spectrum • Peak Table							
Fmin:	2.224 GHz	Fmax:	2.644 GHz	Sweep Time:	324 ms	Progress:	<input type="text" value=""/>
MR:	1.4 V/m	RBW:	500 kHz	No. of Runs:	911	AVG:	6 min <input type="text" value=""/>
		VBW:	Off				

Εικόνα 1.18. Κανάλια συχνότητων εκπομπής WiFi, με μέση και μέγιστη τιμή έντασης. Ανατύπωση από Margaritis et al, 2014.

Για τη σύνδεση στο ασύρματο δίκτυο WiFi χρησιμοποιούνται πομποί (routers). Οι πομποί αυτοί μπορεί να έχουν από 1 έως και 6 κεραίες. Επίσης, μπορεί να εκπέμπουν ταυτόχρονα σε δύο συχνότητες 2,4 GHz και 5 GHz (εικόνα1.19Α-Δ).



Εικόνα 1.19. Α-Γ. Wireless routers με 2, 3 και 6 κεραιές αντίστοιχα. Δ. Wireless router που εκπέμπει στις δύο συχνότητες 2,4 GHz και 5 GHz. Πηγή: <http://www.plaisio.gr/anavathmisi-diktia/diktyaka/wifi-router.htm>

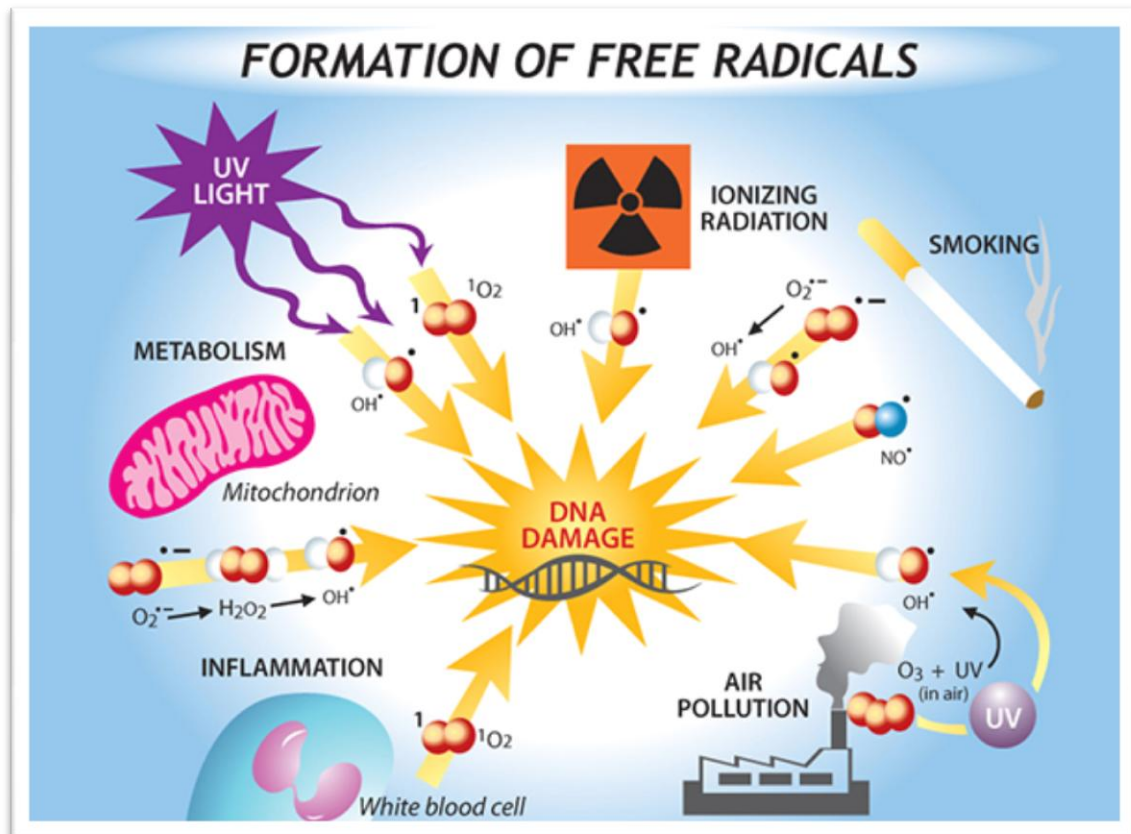
1.8. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

1.8.1. Επιπτώσεις ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

Ο μηχανισμός που οδηγεί σε οποιοδήποτε είδος βιολογικού αποτελέσματος εκκινεί με την απορρόφηση ενέργειας κατά την αλληλεπίδραση ιονίζουσας ακτινοβολίας. Ανεξάρτητα του είδους της ιονίζουσας ακτινοβολίας, η αλληλεπίδρασή της με την ύλη οδηγεί σε απορρόφηση ενέργειας μέσω ιονισμών και διεγέρσεων ατόμων και μορίων. Από ποσοτικής απόψεως, η ενέργεια που απορροφάται και εκδηλώνεται τελικά με τη μορφή θερμότητας είναι σχετικά μικρή, και απολύτως ακίνδυνη βιολογικά. Από ποιοτικής απόψεως όμως, το ποσοστό της ενέργειας που θα απορροφηθεί μέσω ιονισμών μπορεί να προκαλέσει μία ποικιλία χημικών μεταβολών.

Τα βιολογικά αποτελέσματα της ιονίζουσας ακτινοβολίας γενικά, χωρίζονται σε **στοχαστικά** και **μη-στοχαστικά**. Τα **μη-στοχαστικά** (τριχόπτωση, καταρράκτης οφθαλμών, στείρωση, ακόμη και θάνατος) είναι τα άμεσα αποτελέσματα της ακτινοβολίας, τα οποία παρουσιάζονται όταν η δόση υπερβεί κάποιο κατώφλι και γίνονται σφοδρότερα με την αύξηση της δόσης. Τα **στοχαστικά** αποτελέσματα της ακτινοβολίας (καρκινογένεση, γενετική επιβάρυνση) είναι αψότερα, δεν παρουσιάζουν κατώφλι και η πιθανότητα εμφάνισης της βλάβης αυξάνει με την αύξηση της δόσης . Από αυτό το γεγονός, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι καμία δόση οσοδήποτε μικρή δε θεωρείται ασφαλής, κάτι που ισχύει και στην περίπτωση της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας.

Η δράση της ιονίζουσας ακτινοβολίας επίσης μπορεί να χαρακτηριστεί ως άμεση, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τη διάσπαση των δεσμών των μακρομορίων και έμμεση, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τη ραδιόλυση του νερού και τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών. Ο όρος ελεύθερη ρίζα αναφέρεται σε ένα ελεύθερο άτομο, μόριο ή συγκρότημα ατόμων, το οποίο φέρει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και συνεπώς χαρακτηρίζεται από αυξημένη δραστηριότητα, ανεξαρτήτως εάν είναι ηλεκτρικά ουδέτερο ή φορτισμένο. Κατά τη ραδιόλυση του νερού παράγονται ελεύθερες ρίζες υδρογόνου και υδροξυλίου, κατιόντα υδρογόνου και ενυδατωμένα ηλεκτρόνια που μπορούν ακολούθως μέσω της διάχυσής τους να συμμετάσχουν σε δεκάδες αντιδράσεις μεταξύ τους ή με άλλα μόρια του συστήματος. Γενικά, οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να χαρακτηριστούν ως δυνητικά βλαβερές καθότι φυσιολογικά συμμετέχουν στη σηματοδότηση του κυττάρου (*Segal, 2005; Gems and Partridge, 2008*) και αντιμετωπίζονται από το σώμα με διάφορους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Ωστόσο, σε περίπτωση που η παραγωγή τους ξεπεράσει κάποιο κατώφλι, γίνονται επικίνδυνες για τον οργανισμό (**εικόνα 1.20**)(*Lennon et al, 1991*).



Εικόνα 1.20 Σχηματική αναπαράσταση διαφόρων παραγόντων αύξησης της συγκέντρωσης των ελεύθερων ριζών από το περιβάλλον αλλά και από το ίδιο το ανθρώπινο σώμα. Πηγή: <http://www.activ-balance.com/health?tab=2&part=b>

Σύμφωνα με τους μηχανισμούς της άμεσης και έμμεσης δράσης, η έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει στο DNA διάφορα είδη βλαβών όπως: αποσύνθεση, θραύση (συνήθως στο φωσφο-διστερικό δεσμό) του ενός ή και των δύο κλώνων (Single Strand Break-SSB και Double Strand Break-DSB), βλάβη βάσεων, ενδο-κλωνική, δια-κλωνική ή και δια-μοριακή σύνδεση (με άλλα μόρια DNA ή πρωτεϊνών). Σημειώνεται ότι πάνω από 100.000 βλάβες του DNA σημειώνονται καθημερινά στα κύτταρα των θηλαστικών αυθόρμητα ή λόγω της επίδρασης εξωγενών και ενδογενών παραγόντων. Ευτυχώς, το κύτταρο διαθέτει αποτελεσματικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης της βλάβης (Negritto, 2010). Οι βλάβες βάσεων και οι SSB επιδιορθώνονται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους. Οι DSB (ή οι σύνθετες συστοιχίες βλάβης του DNA που να περιλαμβάνουν μία ή περισσότερες DSB) επιδιορθώνονται δυσκολότερα. Έτσι, πρόδρομο των διαφόρων βιολογικών αποτελεσμάτων αποτελεί το, εξαιρετικά μικρό, ποσοστό μη επιδιορθωμένων ή ανεπιτυχώς επιδιορθωμένων βλαβών του DNA και ειδικότερα των

DSB. Σε περίπτωση ανεπιτυχούς επιδιόρθωσης μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγή στην αλληλουχία των βάσεων του γενετικού υλικού και συνεπώς μετάλλαξη (λόγω αντικατάστασης, ελλείμματος ή ένθεσης βάσεων). Το αποτέλεσμα των μεταλλάξεων, ως γνωστόν, ποικίλει και μπορεί να οδηγήσει στην έκφραση μίας τροποποιημένης πρωτεΐνης και την αύξηση ή μείωση των επιπέδων μίας φυσιολογικής πρωτεΐνης. Τα στοχαστικά αποτελέσματα της ακτινοβολίας που αναφέρθηκαν πιο πάνω οφείλονται σε μεταλλάξεις. Η συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων αυξάνει με τη δόση ακτινοβολίας αν και σε μεγάλες δόσεις κυριαρχεί ο κυτταρικός θάνατος οπότε ο αριθμός των μεταλλαγμένων κυττάρων μειώνεται. Σημειώνεται, ότι ο ανθρώπινος μεταβολισμός οδηγεί σε 240.000 μεταλλάξεις σε κάθε ανθρώπινο κύτταρο καθημερινά και η απορρόφηση δόσης ιοντίζουσας ακτινοβολίας προσθέτει σε αυτές μόλις 2000 μεταλλάξεις ανά Gy. Οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες περιλαμβάνουν μία ποικιλία ανταλλαγών των θραυσμάτων του DNA μεταξύ διαφορετικών χρωμοσωμάτων, μεταξύ των χρωματίδων του ίδιου χρωμοσώματος ή ακόμα και μεταξύ περιοχών της ίδιας χρωματίδας. Διακρίνονται σε χρωμοσωματικές ανωμαλίες (δακτύλιοι και δικεντρικά χρωμοσώματα) και χρωματιδικές ανωμαλίες (π.χ. χρωματιδικές θραύσεις) ανάλογα με το εάν η βλάβη συνέβη κατά τη G1 φάση ή τη G2 φάση, αντίστοιχα (βλάβη κατά την S φάση ή τη μίτωση μπορεί να οδηγήσει και στα δύο είδη). Η εμφάνιση άτυπων χρωμοσωμάτων σε κύτταρα που πολλαπλασιάζονται μπορεί να οδηγήσει στον κυτταρικό θάνατο. Είναι δυνατόν το κύτταρο που έχει υποστεί βλάβη από την ακτινοβολία να επιβιώσει, ωστόσο μπορεί να δώσει πολλές γενεές μεταλλαγμένων κυττάρων. Πιθανόν, η υπερβολική έκθεση ενός οργανισμού σε τέτοια ακτινοβολία να προκαλέσει μεταβολές στα γενετικά κύτταρα, οπότε, ο ίδιος μεν ο οργανισμός να παραμείνει ενδεχομένως υγιής, συμπτώματα όμως ασθενειών, όπως ο καρκίνος (π.χ. θυρεοειδούς, πνευμόνων, μαστού, λευχαιμία) ή ο καταρράκτης των οφθαλμών να εκδηλωθούν από τους απογόνους του.

Μελέτες για την επίδραση της ιονίζουσας ακτινοβολίας στη *Drosophila* έχουν δείξει ότι μετά από ακτινοβόληση σε λάρβες με 1.2 Gy και 2.1 Gy υπήρξε μείωση στη βιωσιμότητα των αρσενικών εντόμων της τάξης του 11.5% και 12.7% αντίστοιχα. Η επίδραση στη βιωσιμότητα ήταν ισχυρότερη καθώς η δόση αυξανόταν, ενώ δεν παρατηρήθηκαν τα ίδια αποτελέσματα όταν ακτινοβολήθηκαν ενήλικα έντομα ηλικίας μεγαλύτερης των 14 ημερών. Τα θηλυκά έντομα δεν παρουσίασαν μείωση του ποσοστού της μέσης ωοτοκίας σε σχέση με τα έντομα μάρτυρες, μετά

από έκθεση σε 1.2 Gy και 2.1 Gy, ενώ υπήρξε μείωση της μέσης φωτοκίας μετά από έκθεση σε 4.2, 7.5 και 17.1 Gy (Vaiserman et al., 2004). Σε αντίστοιχα πειράματα έκθεσης προνυμφών της *Drosophila* σε ιονίζουσα ακτινοβολία 0.5 Gy, παρατηρήθηκε διόγκωση των σιελογόνων αδένων τους 2 ώρες μετά από την έκθεση. Αφού εφαρμόστηκε η τεχνική TUNEL, διαπιστώθηκε ότι οι σιελογόνοι αδένες περιείχαν όξινα ενζυμικά προϊόντα χαρακτηριστικά του αυτοφαγικού θανάτου. Μετά το πέρας 10 ωρών οι σιελογόνοι αδένες βρέθηκαν εντελώς κατεστραμμένοι (Kanao and Miyachi, 2006).

1.8.2 Επιπτώσεις μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

Η μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αφορά, όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε ακτινοβολία η οποία δεν μεταφέρει ενέργεια αρκετή για να προκληθεί ιονισμός της ύλης. Παρόλα αυτά, φέρει αρκετή ενέργεια για να τη διεγείρει σε κάποιο βαθμό και για αυτό έχει γίνει πλέον γνωστό ότι μπορεί να έχει επιπτώσεις στη φυσιολογία, βιοχημεία και συμπεριφορά ενός οργανισμού, ιστού ή κυττάρου. Οι επιπτώσεις αυτές, όμως, εξαρτώνται από τη συχνότητα της ακτινοβολίας στην οποία εκτέθηκε ο οργανισμός, τον ιστό ή το κύτταρο αντίστοιχα κι αυτό συμβαίνει γιατί η συχνότητα της ακτινοβολίας – που συνδέεται άμεσα με την ενέργεια που μεταφέρει το κύμα μέσω της σχέσης $E = h \times f$ (E = ενέργεια, f = συχνότητα) – επηρεάζει την ικανότητα διάτρησης του σώματος από αυτήν και τα χαρακτηριστικά της απορρόφησης στην περιοχή της ακτινοβολήσης (Kwan-Hoong Ng, 2003).

Το φάσμα της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας μπορεί να χωριστεί αδρώς σε 4 περιοχές:

- Στατικά ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία με συχνότητα $f = 0$ Hz, τα οποία όμως τεχνικά δεν μπορούν να θεωρηθούν ως ακτινοβολία
- Πολύ χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία (extremely low frequency, ELF fields) με συχνότητα $f = (>) 0$ Hz – 300 Hz
- Ραδιοκύματα και μικροκύματα (που έχουμε αναφέρει ότι αναφέρονται ως ραδιοκύματα και τα δύο) με συχνότητα $f = 300$ Hz – 300 GHz
- Οπτική ακτινοβολία που περιλαμβάνει την υπέρυθρη ακτινοβολία (A, B, C – $f = 3 \times 10^{11}$ - 4×10^{14} Hz), το οπτικό φάσμα ($f = 4 \times 10^{14}$ - 7.5×10^{14} Hz), και την υπεριώδη ακτινοβολία (A, B, C – $f = 7.5 \times 10^{14}$ - 3×10^{16} Hz)

Γενικά, ο κόσμος ανησυχεί πλέον για τους κινδύνους της ακτινοβολίας των ELF(π.χ. από τις γραμμές του ηλεκτρικού ρεύματος), των ραδιοκυμάτων και των μικροκυμάτων, που είναι και οι συχνότητες στις οποίες εκπέμπουν οι περισσότερες οικιακές συσκευές ασύρματης τεχνολογίας όπως οι routers για το WiFi, το κινητό τηλέφωνο, η ασύρματη συσκευή τηλεφώνου τύπου DECT, οι φούρνοι μικροκυμάτων, το baby monitor και άλλες πολλές, συσκευές οι οποίες τα τελευταία χρόνια έχουν παρουσιάσει τεράστιο ρυθμό ανάπτυξης και τεράστια αύξηση της χρήσης τους. Στον **Πίνακα 1.3** παρατίθενται οι πιθανές επιπτώσεις από το φάσμα της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας, με πιο έντονες και σημαντικές, την εμφάνιση καρκίνου του δέρματος και του καταρράκτη από την υπεριώδη ακτινοβολία καθώς και την εμφάνιση εγκαυμάτων από την υπέρυθρη.

Πίνακας 1.3. Επιπτώσεις μη ιονίζουσας ακτινοβολίας ανά περιοχή φάσματος (Ανατύπωση από Kwan-Hoong Ng, 2003)

	ΠΗΓΗ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ
Υπεριώδης ακτινοβολία A	Ήλιος, black light	Φωτοχημικός καταρράκτης Ερύθημα στο δέρμα περιλαμβανομένου χρωματισμού του από τη μελατονίνη
Υπεριώδης ακτινοβολία B		Καρκίνος δέρματος Ερύθημα στο δέρμα περιλαμβανομένου χρωματισμού του από τη μελατονίνη
Υπεριώδης ακτινοβολία C		Ερύθημα στο δέρμα Φωτοκερατίτιδα (φλεγμονή κερατοειδούς) Μη Θερμικές Επιδράσεις ROS (Reactive Oxygen Species) Καρκίνος δέρματος
Ορατό φως	Ήλιος, φωτιά, λάμπες LED, Laser, λαμπτήρες	Φωτοχημικός και θερμικός τραυματισμός αμφιβληστροειδούς Φωτογήρανση Μη Θερμικές Επιδράσεις
Υπέρυθρη ακτινοβολία A	Ήλιος, θερμική ακτινοβολία, Laser απλά και πολυ- υπέρηθρα,	Θερμικός τραυματισμός αμφιβληστροειδούς Θερμικά επαγόμενος καταρράκτης Έγκαυμα δέρματος

Υπέρυθρη ακτινοβολία B	χειριστήρια τηλεόρασης, πυρακτώμενοι λαμπτήρες	Έγκαυμα κερατοειδούς Καταρράκτης Έγκαυμα δέρματος
Υπέρυθρη ακτινοβολία C		Έγκαυμα κερατοειδούς Καταρράκτης Θέρμανση της επιφάνειας του σώματος που ακτινοβολείται
Μικροκύματα	Κινητά τηλέφωνα, Φούρνοι μικροκυμάτων, Ασύρματα τηλέφωνα, WiFi κ.λπ.	Θέρμανση σωματικού ιστού Μη Θερμικές Επιδράσεις ROS
Ραδιοκύματα	Κινητά τηλέφωνα, Τηλεόραση, Ραδιόφωνο (FM, AM), Ασύρματα τηλέφωνα κ.λπ.	Θέρμανση σωματικού ιστού Αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος Μη Θερμικές Επιδράσεις ROS
Χαμηλής Συχνότητας Ραδιοκύματα	Γραμμές ηλεκτρικού ρεύματος	Συγκέντρωση φορτίου στην επιφάνεια του σώματος Διαταραχή των νευρικών και μυϊκών σημάτων εντός του σώματος
Στατικά ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία	Μαγνητικός τομογράφος, Δυνατοί μαγνήτες	Ναυτία, ίλιγγος λόγω μαγνητικού πεδίου Παρουσία ηλεκτρικού φορτίου στο δέρμα Μη Θερμικές Επιδράσεις ROS

Όπως παρατηρούμε και από τον πίνακα, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει **θερμικές επιπτώσεις** αλλά και μη θερμικές επιπτώσεις που αναφέρονται παρακάτω, όπως η παραγωγή ελευθέρων ριζών (Reactive Oxygen Species - ROS), στον άνθρωπο. Η μη ιονίζουσα ακτινοβολία διεισδύει μέχρι μικρού βάθους στο σώμα, απορροφάται κυρίως από το νερό και προκαλεί κίνηση των μορίων αυτών (περιστροφή ή παλμική κίνηση στη συχνότητα της ακτινοβολίας), τα οποία με τις τριβές και τις κρούσεις εν συνεχεία προκαλούν αύξηση της θερμοκρασίας των ιστών.

Όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της έκθεσης τόσο μεγαλύτερα είναι και τα ποσά θερμότητας που θα παραχθούν από τον ιστό. Οι θερμικές επιπτώσεις συμβαίνουν για συχνότητες πάνω από περίπου 100 KHz και οι βλάβες προκαλούνται αν ο θερμορυθμιστικός μηχανισμός του σώματος δεν καταφέρει να επαναφέρει την κανονική θερμοκρασία. **Για να είναι παρατηρήσιμη η αύξηση της θερμοκρασίας, πρέπει η πυκνότητα ισχύος να είναι πολύ μεγάλη ($1\text{mW}/\text{cm}^2$)** ή η μέση τιμή ενέργειας που απορροφάται από όλο το σώμα (SAR) να είναι πάνω από 5 W/kg. Για έκθεση σε ακτινοβολία με ρυθμό απορρόφησης SAR μέχρι 4 W/kg, ο οργανισμός είναι σε θέση να την αντιμετωπίσει, παρόλο που περιοχές όπως οι όρχεις και τα μάτια με μειωμένη αιματική κυκλοφορία, είναι πιο ευπαθείς. Για το λόγο αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η περιοχή του σώματος που εκτίθεται, συμπεριλαμβανομένου και του ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία δεν απορροφάται ομοιόμορφα στο σώμα.

Εκτός, όμως, από τα γνωστά θερμικά αποτελέσματα, υπάρχει σήμερα αυξημένο ενδιαφέρον για τη μελέτη ύπαρξης και άλλων **μη θερμικών μηχανισμών** αλληλεπίδρασης των ραδιο- κυμάτων με τους βιολογικούς ιστούς. Ίσως επηρεάζουν τη ροή του ασβεστίου διά μέσου των τοιχωμάτων των κυττάρων, όπως έχει βρεθεί συγκεκριμένα στον εγκέφαλο αρουραίων και στους νευρώνες από έμβρυα όρνιθας (*Adey et al, 1982; Blackman et al, 1979; 1980a; 1980b; 1991*). Επίσης, επηρεάζουν τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα όπως και η ιονίζουσα ακτινοβολία με αποτέλεσμα να επιδρούν αρνητικά στο DNA και σε άλλα βιολογικά μακρομόρια (*Manta et al, 2013*) Οι μη-θερμικές επιπτώσεις θεωρούνται και οι πιο σημαντικές από βιολογικής / ιατρικής σκοπιάς και δεν καλύπτονται από τα **όρια ασφαλείας** που έχουν θεσπισθεί (*ICNIRP, 1998*). Είναι φανερό ότι υπάρχει αβεβαιότητα και ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών που σχετίζονται με μη θερμικά φαινόμενα και τη συσχέτισή τους με επιβλαβείς βιολογικές επιδράσεις και ενδεχόμενες επιπτώσεις στην υγεία καθώς είναι αυτονόητο ότι οι επιπτώσεις, όποιες και αν είναι αυτές, εξαρτώνται τόσο από το εάν είναι ισχυρή ή ασθενής η ακτινοβολία, από τον χρόνο επί τον οποίο εκτίθεται ένας οργανισμός σε αυτή και από το πόσο απέχει αυτός από την πηγή της ακτινοβολίας.

Στα πλαίσια αυτού του διχασμού και της αναγκαιότητας για νέα δεδομένα στο θέμα της υγείας, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες προς καλύτερη διερεύνηση των μηχανισμών επίδρασης αλλά και των επιπτώσεων της ακτινοβολίας σε διάφορα μοντέλα-οργανισμούς, όπως η *Drosophila melanogaster* αλλά και μύες (*Fragopoulou*

et al 2010a) ή επιμύες για τη μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας στην εμβρυογένεση (*Fragopoulou et al 2010b*), συμπεριφορά αλλά και στη μνήμη και μάθηση (*Ntzouni et al, 2012*), με διαφορετικές συνθήκες ακτινοβολήσεως ως προς τη διάρκεια, την ένταση και την επαναληψιμότητα της έκθεσης.

Συγκεκριμένα, σε μελέτες με επίμυες έχουν βρεθεί διαταραχές στη μνήμη εργασίας (*Lai et al, 1994*), διαταραχές στη χωρική μνήμη αναφοράς (*Wang and Lai, 2000*) και σε μελέτη από την ερευνητική μας ομάδα έχουν βρεθεί διαταραχές στη χωρική μνήμη και στη μάθηση και αλλοιώσεις κρανιακών και θωρακικών οστών σε νεογέννητους μύες 1 ημέρας (*Fragopoulou et al 2010a; 2010b*). Σε πιο πρόσφατες μελέτες του εργαστηρίου μας, έχουν βρεθεί διαταραχές στη μνήμη αναγνώρισης (*Fragopoulou et al, 2012*) και διαταραχές στη χωρική και μη χωρική μνήμη, αναστρέψιμες όμως μετά από διακοπή της έκθεσης (*Ntzouni et al, 2012*).

Μεταξύ των μελετών που αφορούν στη γονιμότητα είναι και η μελέτη των *Gannes et al (2012)* σε μύες, στην οποία παρατηρήθηκε μείωση της γονιμότητας και της εμβρυϊκής ανάπτυξης μετά από έκθεση σε ασύρματο δίκτυο WiFi για 3 εβδομάδες τα αρσενικά και 2 εβδομάδες τα θηλυκά συνεχόμενα 24 ώρες το 24ωρο πριν το ζευγάρι κατά το οποίο τα ζευγάρια εκτίθεντο σε 1 ώρα ακτινοβολήση/ημέρα για 6 μέρες τη βδομάδα και συνολικά για 3 εβδομάδες. Επίσης, πειράματα επίδρασης της ακτινοβολίας στο ανθρώπινο σπέρμα και έχουν δείξει μεταξύ άλλων αλλαγή των ποιοτικών παραμέτρων των σπερματοζωαρίων. Αναφορικά, από τις πρώτες μελέτες σε σπέρμα αποτέλεσε αυτή των *Agarwal et al (2008)*, στην οποία μετά από έκθεση σε κινητό τηλέφωνο παρατηρήθηκε μείωση της κινητικότητας του σπέρματος και αύξηση των επιπέδων των ROS. Πρόσφατα, οι *Avendano et al (2012)* μελέτησαν την επίδραση της χρήσης του ασύρματου δικτύου WiFi από φορητό υπολογιστή (laptop) στο σπέρμα και παρατήρησαν μείωση της κινητικότητας αυτού και αύξηση της διάσπασης του DNA μετά από ακτινοβολήση 4 ωρών.

Σε κυτταρικό επίπεδο, μετά από έκθεση διαφόρων κυτταρικών σειρών σε μη ιονίζουσα ακτινοβολία έχουν βρεθεί μονές και διπλές θραύσεις DNA (*Invacstis et al, 2002; Diem et al, 2005; Lixia et al, 2006*), χρωμοσωμικές ανευπλοειδίες (*Mashevich et al, 2003*), υπερέκφραση μορίων που συμμετέχουν στην απόπτωση (*Zhao et a, 2007*), μεταβολή στη δομή των μικροσωληνίσκων (*Pavici et al, 2008*). Παρόμοια ευρήματα με αυτά των κυτταρικών σειρών έχουν βρεθεί και σε μελέτες με επίμυες. Πιο συγκεκριμένα, έχουν καταγραφεί μονές και διπλές θραύσεις στο DNA (*Lai and*

Singh, 1996; 1997), μείωση των κοκκιωδών (Odaci et al, 2008) και των πυραμιδικών κυττάρων του υποκάμπου με ταυτόχρονη αύξηση των κυττάρων που αποπίπταν στην περιοχή γενικά (Bas et al, 2009). Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί αλλαγή στη γονιδιακή έκφραση στον υποκάμφο επίμυων που ακτινοβολήθηκαν για 20 λεπτά με γεννήτρια ραδιοσυχνότητας στα 2450MHz και συγκεκριμένα υπερέκφραση 23 και μειορύθμιση 18 γονιδίων (Yang et al, 2012) ενώ τέλος, μελέτη της δικής μας ερευνητικής ομάδας σε μύες έχει αναδείξει αλλαγή στην έκφραση (είτε υπερέκφραση είτε μειορύθμιση) 143 πρωτεϊνών του εγκεφάλου (Fragoroulou et al, 2012).

Η *Drosophila melanogaster* έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο για τη μελέτη της επίδρασης στην ακτινοβολία και έχει βρεθεί να επηρεάζεται σε διαφορετικά επίπεδα, από το κυτταρικό (μεταβολές σε επίπεδα πρωτεϊνών (Weisbrot et al, 2003), αύξηση της απόπτωσης (Margaritis et al, 2014), μείωση της ωτοκίας (Panagopoulos et al, 2004)) μέχρι μορφολογικό (μεταβολές σε χρόνους αναπτυξιακών σταδίων – Atli and Unlu, 2006). Στον **πίνακα 1.4** αναφέρονται αναλυτικά οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με αυτό το μοντέλο, η πηγή της ακτινοβολίας και το αποτέλεσμα της επίδρασης αυτής.

Πίνακας 1.4. Μελέτες επίδρασης μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην *Drosophila melanogaster*

Μελέτη	Πηγή – Συχνότητα εκπομπής	SAR	Διάρκεια	Βιολογική Επίδραση
Weisbrot et al, 2003	Κινητό τηλέφωνο 900/1900 MHz	1.4 W/kg	60 λεπτά x 2 φορές x 10 ημέρες	Αύξηση αριθμού απογόνων, Αύξηση επιπέδων HSP70 και φωσφορυλίωσης του ELK
Panagopoulos et al, 2004	Κινητό τηλέφωνο GSM 900 MHz	0.436 mW/cm ²	6 λεπτά/ ημέρα x 5 ημέρες	Μείωση μέσης ωτοκίας
Atli and Unlu, 2006	Γεννήτρια 10 GHz	9.8 mW/Kg	3, 4 ή 5 ώρες	Μεταβολές στο χρόνο αναπτυξιακών σταδίων
Panagopoulos et al, 2007	Κινητό τηλέφωνο 900/1800 MHz	0.89 W/kg	6 λεπτά/ ημέρα x 5 ημέρες	Επαγωγή απόπτωσης Μείωση μέσης ωτοκίας
Lee et al, 2008	Γεννήτρια 835 MHz	1.6 & 4 W/kg	12 ή 30 ώρες	Αύξηση επιπέδων ROS Ενεργοποίηση

				μονοπατίου JNK-ERK Μείωση βιωσιμότητας
<i>Chavdoula et al, 2010</i>	Κινητό τηλέφωνο GSM 900/1800 MHz	0.64 W/kg	6 λεπτά/ημέρα x 6 ημέρες (συνεχόμενα ή διακοπτόμενα)	Επαγωγή απόπτωσης Μείωση μέσης φωτοκίας Αλλοιώσεις κυτταροσκελετού
<i>Manta et al, 2013</i>	Ασύρματο τηλέφωνο 1880 MHz	0.009 W/kg	6, 24 και 96 ώρες	Αύξηση επιπέδων ROS
<i>Margaritis et al, 2014</i>	WiFi 2440 MHz		60 λεπτά/ ημέρα x 7 ημέρες	Επαγωγή απόπτωσης Μείωση μέσης φωτοκίας Μείωση αναπαραγωγικής ικανότητας
	Ασύρματο τηλέφωνο 1880 MHz		30 λεπτά/ημέρα x 5 ημέρες	
	Συνδυαστική έκθεση Ασύρματου τηλεφώνου 1880 MHz με Κινητό τηλέφωνο GSM 1800MHz		30 λεπτά ασύρματο + 30 λεπτά κινητό (σε συνέχεια από το ασύρματο)/ημέρα x 4 ημέρες	
	Bluetooth		30 λεπτά/ημέρα x 6 ημέρες	
	Baby monitor, RF/FM γεννήτρια, Φούρνος μικροκυμάτων (ξεχωριστά)		30 λεπτά/ημέρα x 4 ημέρες	
<i>Sagioglou et al, 2016</i>	Γεννήτρια υπό CW και FM εκπομπή – 100, 395, 682, 900 MHz		6 λεπτά ή 60 λεπτά εφάπαξ 6 λεπτά ή 60 λεπτά/ημέρα x 6 ημέρες	Επαγωγή απόπτωσης
<i>Manta et al, 2017</i>	Κινητό τηλέφωνο GSM 1800 MHz		30 λεπτά	Επαγωγή απόπτωσης Αύξηση επιπέδων ROS Ενεργοποίηση 153 γονιδίων – υπερέκφραση 35 γονιδίων και μειορύθμιση 15 γονιδίων

1.9. ΡΥΘΜΟΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ (SPECIFIC ABSORPTION RATE - SAR)

Όπως στην περίπτωση της ιονίζουσας ακτινοβολίας υπάρχει τρόπος εκτίμησης της απορρόφησης με γνώμονα τα ζευγη ιόντων (LET) που εξαρτάται κυρίως από την πυκνότητα της μάζας του ιστού, έτσι και στην μη ιονίζουσα ακτινοβολία υπάρχουν τρόποι εκτίμησης της απορρόφησης. Αυτή όμως διαφέρει στις διάφορες συχνότητες. Π.χ. η απορρόφησηση της ορατής ακτινοβολίας και εν μέρει της υπεριώδους εξαρτάται από τις οπτικές ιδιότητες των υλικών, ενώ η απορρόφηση των ραδιοσυχνοτήτων και περίξ αυτών εξαρτάται από την αγωγιμότητα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ο Ρυθμός Ειδικής Απορρόφησης (Specific Absorption Rate), που αποτελεί το σημαντικότερο μέγεθος για την ποσοτικοποίηση των βιολογικών αποτελεσμάτων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ραδιοκυμάτων και μικροκυμάτων. Ο SAR προσδιορίζεται από τη σχέση:

$$\text{SAR} = \sigma \times E^2 / \rho$$

όπου, σ : η ειδική ηλεκτρική αγωγιμότητα του βιολογικού ιστού (Si/m) σε συγκεκριμένη συχνότητα, ρ : η πυκνότητα του βιολογικού ιστού (kg/m^3) και E : η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου μέσα στον ιστό (V/m) (κάτι το οποίο δεν μπορεί να μετρηθεί). Υπολογίζεται σαν το ποσό της ενέργειας της ΗΜΑ που απορροφά ορισμένη μάζα ιστού στη μονάδα του χρόνου, δηλαδή είναι το ποσό της ισχύος που απορροφά η μονάδα μάζας ενός ιστού, και γι' αυτό μετρείται σε μονάδες ισχύος ανά κιλό (W/kg).

Για τον υπολογισμό του SAR η μόνη μέθοδος που εξασφαλίζει επαρκή ακρίβεια και επαναληψιμότητα είναι η τεχνική του Electrical-Field Probe, η οποία είναι μία πλήρως αυτοματοποιημένη διαδικασία. Με τη μέθοδο αυτή, ομογενές ανθρώπινο ομοίωμα κεφαλιού (phantom) με βάση συγκεκριμένες προδιαγραφές εκτίθεται σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από το κινητό τηλέφωνο και η κατανομή της έντασης του εσωτερικά αναπτυσσόμενου ηλεκτρικού πεδίου καταγράφεται με ένα μικροσκοπικό αισθητήρα (probe). Από αυτά τα δεδομένα η κατανομή του SAR προσδιορίζεται και εξάγεται η μέγιστη τοπικά αναπτυσσόμενη τιμή του. Το ομοίωμα κεφαλής είναι ένα ανθρωπομορφικό μοντέλο (Specific Anthropomorphic Mannequin – SAM) γεμάτο με υγρό, το οποίο περιβάλλεται από κέλυφος, που είναι κατασκευασμένο από υλικό χαμηλών απωλειών και χαμηλής διαπερατότητας στο

εσωτερικό του οποίου περιέχεται υγρό με συγκεκριμένες διηλεκτρικές ιδιότητες για κάθε συχνότητα.

Σήμερα, διατίθενται πλήρως αυτοματοποιημένα συστήματα μέτρησης SAR. Οι δοκιμές πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας επιστημονικά αποδεδειγμένες μεθοδολογίες και υπερεκτιμούν ελαφρώς το μέγιστο τοπικό SAR στο πραγματικό ανθρώπινο σώμα. Οι γενικές απαιτήσεις των μετρήσεων περιλαμβάνουν θερμοκρασία περιβάλλοντος μεταξύ 15°C και 30°C και απαιτούν μηδενική αλληλεπίδραση του ασύρματου τερματικού με τα δίκτυα, και αποφυγή επίδρασης στις μετρήσεις από εξωτερικές ΗΜ πηγές και ανακλάσεις του χώρου.

1.10. ΟΡΙΑ ΑΣΦΑΛΟΥΣ ΕΚΘΕΣΗΣ

Σε όλο τον κόσμο, διεθνείς οργανισμοί και χώρες έχουν προχωρήσει στη θέσπιση ορίων αποδεκτής έκθεσης του γενικού πληθυσμού και των εργαζομένων σε μη ιοντίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Οι περισσότερες χώρες στην Ευρώπη και αλλού χρησιμοποιούν τις οδηγίες έκθεσης που έχουν εκδοθεί από τη Διεθνή Επιτροπή για την Προστασία από τη Μη-Ιοντίζουσα Ακτινοβολία (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection-ICNIRP). Ο μη κυβερνητικός αυτός οργανισμός, που αναγνωρίζεται επισήμως από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization-WHO), αποτιμά τα επιστημονικά αποτελέσματα στους τομείς της επιδημιολογίας, της ιατρικής, της βιολογίας, της φυσικής και της μηχανικής σε όλο τον κόσμο. Η ICNIRP ανακοινώνει οδηγίες που προτείνουν όρια για την έκθεση, τα οποία αναθεωρούνται και ενημερώνονται περιοδικά, όταν κρίνεται απαραίτητο. Οι πλέον πρόσφατες οδηγίες της ICNIRP δημοσιεύτηκαν το 1998 και έχουν υιοθετηθεί από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Τυποποίησης CENELEC (Commission Europeen de Normalisation Electrotechnique) και το Ευρωπαϊκό Συμβούλιο κατά τη σύνταξη του ισχύοντος προτύπου για την έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία.

Οι οδηγίες της ICNIRP για την έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία καλύπτουν το εύρος συχνοτήτων της μη ιοντίζουσας ακτινοβολίας από 0 μέχρι 300 GHz. Βασίζονται σε διεξοδικές επισκοπήσεις όλης της δημοσιευμένης επιστημονικής βιβλιογραφίας. Τα όρια αποδεκτής έκθεσης έχουν καθοριστεί με βάση αποτελέσματα σχετικά με τη βραχυπρόθεσμη έντονη έκθεση και όχι τη μακροπρόθεσμη έκθεση, διότι η διαθέσιμη επιστημονική πληροφορία για τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα

της έκθεσης σε χαμηλής έντασης ηλεκτρομαγνητικά πεδία θεωρείται ανεπαρκής για τη θέσπιση ποσοτικών ορίων. Σε συχνότητες υψηλότερες του 1MHz, η θέσπιση ορίων αποδεκτής έκθεσης αποσκοπεί αποκλειστικά στην αποφυγή των θερμικών αποτελεσμάτων των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων.

Το βασικό μέγεθος για την ποσοτικοποίηση των θερμικών επιδράσεων είναι ο **Ρυθμός Ειδικής Απορρόφησης (SAR)**. Η θέσπιση ορίων αποδεκτής έκθεσης από τη CENELEC και άλλες επιτροπές τυποποίησης για ολόσωμη έκθεση σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει βασιστεί στην πρόληψη διαταραχών της συμπεριφοράς που παρατηρούνται σε ζώα κατά την έκθεσή τους σε χαμηλά επίπεδα ακτινοβολίας. Ο όρος «διαταραχές συμπεριφοράς» αναφέρεται στην τάση των ζώων να σταματούν την εκτέλεση μίας πολύπλοκης γνωσιακής λειτουργίας όταν εκτίθενται σε συγκεκριμένα επίπεδα ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας. Πρόκειται για θερμική επίδραση που παρατηρείται για Ρυθμό Ειδικής Απορρόφησης ίσο με 4 W/kg σωματικού βάρους, υπολογισμένο ως μέση τιμή σε ολόκληρο το σώμα. Για να συμπεριλάβει επιστημονικές αβεβαιότητες, αυτό το επίπεδο κατωφλίου μειώθηκε περαιτέρω για να προκύψουν οι τιμές των ορίων για την ανθρώπινη έκθεση (βασικοί περιορισμοί). Υιοθετώντας ένα συντελεστή ασφαλείας ίσο με 10, καθορίστηκε η μέγιστη επιτρεπτή τιμή του Ρυθμού Ειδικής Απορρόφησης για τον άνθρωπο (επαγγελματική έκθεση) σε 0.4 W/kg και θέτοντας έναν επιπλέον συντελεστή ασφαλείας ίσο με 5 για το γενικό πληθυσμό καθορίστηκε αντίστοιχη μέγιστη τιμή του Ρυθμού Ειδικής Απορρόφησης ίση με 0.08W/kg, υπολογισμένη ως μέση τιμή για ολόκληρο το σώμα και για χρονικό διάστημα μέτρησης 6 λεπτών.

Στην Ελλάδα, οι δύο Νόμοι που έχουν σχέση με την προστασία του κοινού από μη ιοντίζουσα 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 υπερβαίνουν το 70% των ορίων της 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.

Πιο συγκεκριμένα, τα όρια που έχουν θεσπιστεί στην Ελλάδα είναι μικρότερα σε σχέση με αυτά που ισχύουν στην Ευρωπαϊκή Ένωση και διαμορφώνονται ως εξής (όσο αναφορά τερματικές συσκευές κινητής τηλεφωνίας):

- 0,08 W / kg για ολόκληρο το σώμα
- 2 W / kg για τμήμα του σώματος – τοπική έκθεση (για παράδειγμα το κεφάλι)

Συγκεκριμένα, η κοινοτική οδηγία 99/5/EK για ΡΤΤΕ (ραδιοεξοπλισμός και τηλεπικοινωνιακός τερματικός εξοπλισμός) που έχει μεταφερθεί στην Ελληνική νομοθεσία με το ΠΔ 44/2002 θέτει έμφαση στην υγεία και ασφάλεια του χρήστη απαιτώντας συμμόρφωση με τις ουσιώδεις απαιτήσεις του άρθρου 3.1α. Κάθε συσκευή που κυκλοφορεί στην Ευρωπαϊκή Ένωση πρέπει να συμμορφώνεται με την ανωτέρω οδηγία και φέρει τη σήμανση CE.

Τα όρια με τον χρόνο, με βάση νέες μελέτες και αποτελέσματα που προκύπτουν καθώς και με τη βοήθεια της Bioinitiative που ερευνά τα αποτελέσματα αυτά αλλάζουν. Μερικές από αυτές τις κινήσεις προς αλλαγή των ορίων έκθεσης αναφέρονται στον **πίνακα 1.5**.

***Πίνακας 1.5.** Αναφορικά γεγονότα προσπάθειας αλλαγής των ορίων έκθεσης με το χρόνο και μετά από μελέτες της Bioinitiative*

Οργανισμός ή πηγή	Επιδράσεις και Έκθεση που λήφθηκαν υπόψη	Έτος	Πυκνότητα ισχύος $\mu\text{W}/\text{m}^2$	Ισχύς V/m
ICNIRP/Σύσταση 1999/519 ΕΚ για 2-300GHz (υπάρχει διακύμανση ανάλογα με την συχνότητα)	Θερμικές /μικροπρόθεσμες-βραχεία έκθεση	1999 /2009	10^6	61
STOA European Parliament	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2001	100	
Βασιζόμενο στην εκτίμηση της μελετών από την Bioinitiative το 2007	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2007	1000	
Απόφαση του Salzburg (Salzburg resolution)	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2000	1000	

Salzburg GSM/3G εκτός κατοικιών	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2002	10	0.06
Salzburg GSM/3G εντός κατοικιών	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2002	1	0.02
Ευρωπαϊκό Συμβούλιο	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2011		0.2-6
Εκτίμηση μελετών μέχρι το 2012 από την Bionitiative για αξιολόγηση βιολογικών επιπτώσεων στο κοινό από χαμηλής ισχύος ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία.	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση Η ΠΛΕΟΝ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ 700 ΣΕΛΙΔΩΝ ΑΠΟ 30 ΔΙΕΘΝΟΥΣ ΦΗΜΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΕΣ	2012	3-6	
Αυστριακό Συμβούλιο Διατήρησης Κτιρίων (Austrian Sustainable Building Council)	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2012	10	
Αυστριακός Ιατρικός Σύλλογος (Austrian Medical Association)	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2012	1	
Οδηγίες Βιολογικού Συμβουλίου	Βιολογικές /μακροπρόθεσμες-μακρά έκθεση	2015	0.1	
Φυσικό περιβάλλον (background)			0.000001	
Αίτημα 160 επιστημόνων προς Γενικό Γραμματέα ΟΗΕ και WHODG	Για θέσπιση ορίων με κριτήριο τις βιολογικές επιδράσεις και αποκλεισμό από την ομάδα θέσπισης, ατόμων με συγκρουόμενα συμφέροντα ή οποιαδήποτε διασύνδεση με τη σχετική Βιομηχανία			
Austrian Medical Association*pg 9 Consensus paper of the Austrian Medical Association's EMF Working Group (AG-EMF), Vienna 2012	Ανεξάρτητα από τις προτάσεις της ICNIRP για τις οξείες επιδράσεις, τα ακόλουθα σημεία αναφοράς αφορούν και τη συνήθη έκθεση σε HMA για πάνω από 4 ώρες Υψηλής συχνότητας HMA (πυκνότητα ισχύος) • $\geq 1000 \mu\text{W}/\text{m}^2$, 10-1000 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ πολύ πάνω από το φυσιολογικό • 1-10 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ λίγο πιο πάνω από το φυσιολογικό $\leq 1 \mu\text{W}/\text{m}^2$ εντός φυσιολογικών ορίων			

1.11. ΠΡΟΤΥΠΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

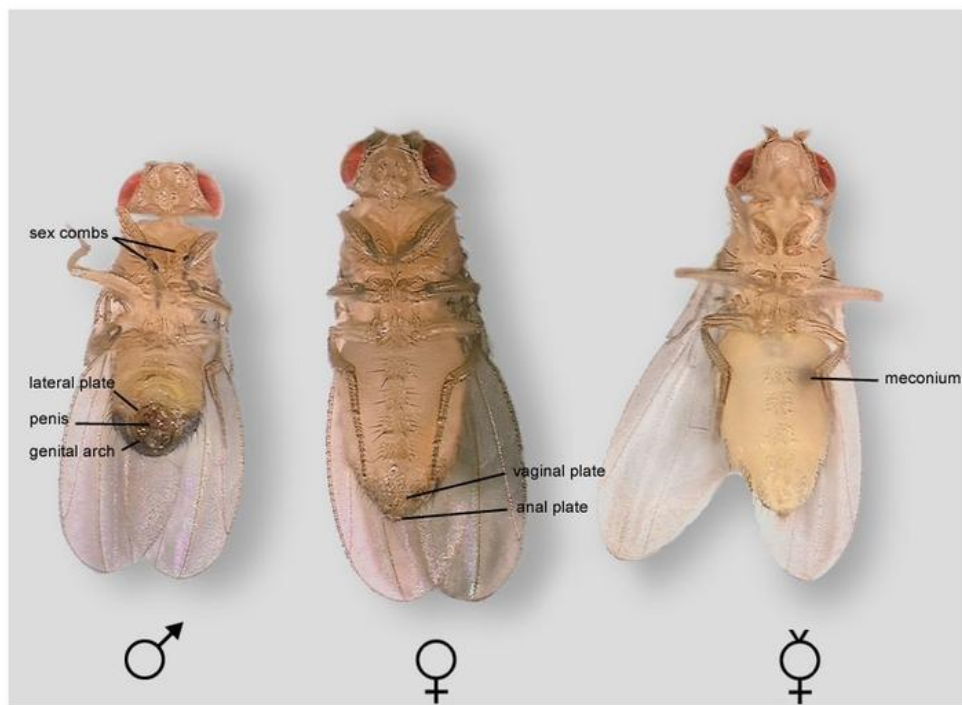
Το πρότυπο βιολογικό σύστημα *Drosophila melanogaster* ταξινομικά ανήκει :

Βασίλειο	<i>Animalia</i>
Φύλο	<i>Arthropoda</i>
Κλάση	<i>Insecta</i>
Υποκλάση	<i>Pterygota</i>
Τάξη	<i>Diptera</i>
Υποτάξη	<i>Brachycera</i>
Οικογένεια	<i>Drosophilidae</i>
Υποοικογένεια	<i>Drosophilinae</i>
Γένος	<i>Drosophila</i>
Είδος	<i>Drosophila melanogaster</i>

Προτάθηκε ως πρότυπο βιολογικό σύστημα στις αρχές του 18^{ου} αιώνα και χρησιμοποιήθηκε εκτενώς από τον Thomas Hunt Morgan για τη μελέτη της κληρονομικότητας. Έκτοτε, αποτελεί ένα από τα πιο βασικά μοντέλα μελέτης της Αναπτυξιακής Βιολογίας και της Γενετικής, λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων που κατέχει σαν οργανισμός. Μερικά από τα πλεονεκτήματα αυτά είναι:

- Η συντήρηση και η καλλιέργεια του οργανισμού απαιτεί ελάχιστο εξοπλισμό, καλύπτει λίγο χώρο ακόμα και όταν καλλιεργείται σε μεγάλο αριθμό και γενικά έχει μικρό κόστος.
- Είναι μικρή και εύκολο να μεγαλώσει στο εργαστήριο και η μορφολογία της είναι εύκολο να χαρακτηριστεί μετά από αναισθησία.
- Έχει μικρό κύκλο ζωής (περί τις 10 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου) που μπορεί να διαχωριστεί σε τέσσερα βασικά αναπτυξιακά στάδια.
- Έχει μεγάλο αριθμό απογόνων (τα θηλυκά μπορούν να εναποθέσουν μέχρι και 100 αυγά τη μέρα).
- Χαρακτηρίζονται από φυλετικό διμορφισμό. Συνεπώς, μπορούμε να τα διαχωρίσουμε εύκολα μεταξύ τους και ιδίως τα παρθένα θηλυκά έντομα τα οποία χρησιμοποιούνται σε πειράματα γενετικών διασταυρώσεων (**εικόνα 1.21**).
- Τα αρσενικά δεν παρουσιάζουν μειωτικό ανασυνδυασμό, γεγονός που διευκολύνει ακόμα περισσότερο τα πειράματα γενετικών διασταυρώσεων.

- Το 70% των γονιδίων που ευθύνονται για γενετικές ασθένειες στον άνθρωπο έχουν αντίστοιχα ορθόλογα γονίδια στο γονιδίωμα της *Drosophila melanogaster*, το οποίο έχει χαρτογραφηθεί πλήρως από το 2000.
- Έχει 4 ζεύγη χρωμοσωμάτων (πλήρως χαρτογραφημένα όπως ήδη αναφέρθηκε): το ζεύγος των φυλετικών (XX για τα θηλυκά και XY για τα αρσενικά) και τα ζεύγη 2, 3 και 4. Από αυτά μελετώνται τα χρωμοσώματα 2,3 και X, καθώς τα Y και 4 αποτελούνται από ετεροχρωματίνη.
- Μέσω της χρήσης «ισοζυγισμένων χρωμοσωμάτων» (*balancer chromosomes*), οποιαδήποτε αλλαγή προκαλέσουμε στο γονιδίωμα τους (με τεχνικές γενετικής τροποποίησης που υπάρχουν από το 1987) διατηρείται καθότι δεν επιτρέπεται ο ανασυνδυασμός μεταξύ ομόλογων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση (σημαντικό χαρακτηριστικό για γενετικές μελέτες).

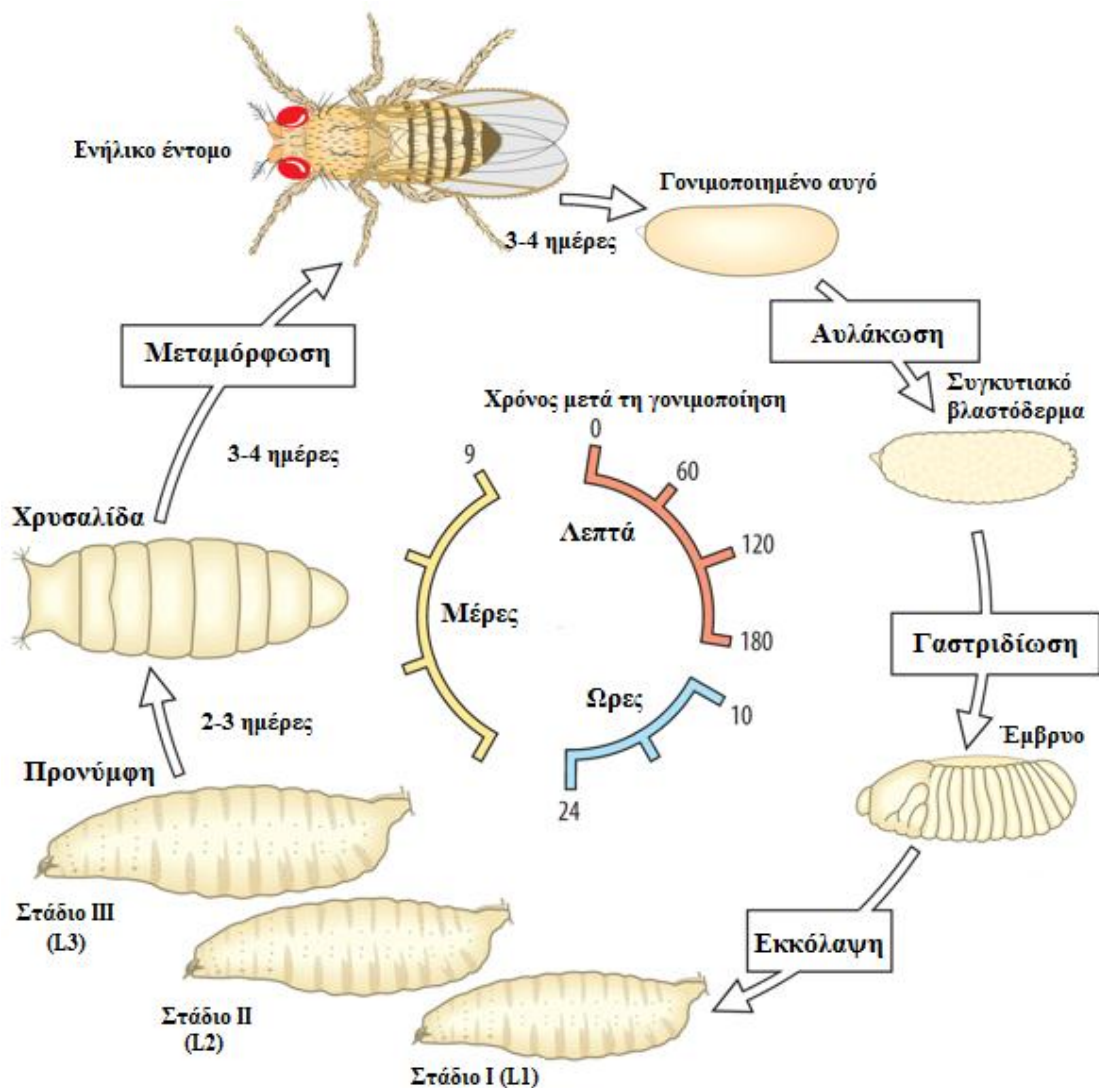


Εικόνα 1.21. Φυλετικός διαχωρισμός στη *Drosophila melanogaster*. Από αριστερά προς τα δεξιά: ενήλικο αρσενικό, ενήλικο θηλυκό, παρθένο θηλυκό (με το χαρακτηριστικό σύμβολο με τις δύο γραμμές σαν κεραίες στο κλασικό θηλυκό σύμβολο). Το ενήλικο αρσενικό είναι μικρότερο από το θηλυκό σε μέγεθος, έχει δύο χαρακτηριστικά «χτένια» (*sex combs*) στα δύο μπροστινά του πόδια που βοηθούν την αναπαραγωγή. Επίσης, η κοιλιά του είναι υπόλευκη και πιο στρογγυλή με μαύρο τελείωμα στην περιοχή των εξωτερικών γενετικών οργάνων (*genital arch*, *penis*, *lateral plate*). Στο ενήλικο θηλυκό η κοιλιά είναι πιο μυτερή, πιο λευκή και στην περιοχή των εξωτερικών γενετικών οργάνων βρίσκεται ο ωοθήτης, ο κόλπος και ο πρωκτός (*vaginal plate*, *anal plate*). Τέλος, το παρθένο θηλυκό ξεχωρίζει από το ενήλικο,

ώριμο θηλυκό από μία μικρή στρογγυλή, μαύρη περιοχή ψηλά στην κοιλιά του που ονομάζεται μηκόνιο (*meconium*). Πηγή: <http://keytoflyaway.weebly.com/key-to-fly-away/archives/05-2014>

1.11.1. Κύκλος ζωής

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο κύκλος ζωής της *Drosophila melanogaster* είναι μικρός και μπορεί να διαχωριστεί σε τέσσερα βασικά αναπτυξιακά στάδια: 1) το στάδιο του εμβρύου, 2) το στάδιο της προνύμφης, 3) το στάδιο της χρυσαλίδας και 4) το στάδιο του ενήλικου εντόμου (*McLaughlin et al, 2015*) (εικόνα 1.22).



Εικόνα 1.22: Σχηματική απεικόνιση των σταδίων του κύκλου ζωής της *Drosophila melanogaster*. Τα στάδια αναφέρονται χρονικά σε λεπτά, ώρες και μέρες. Τροποποίηση από <http://myfruitfly.weebly.com/about.html>

Το πρώτο στάδιο είναι η εναπόθεση του γονιμοποιημένου αυγού. Η γονιμοποίηση του αυγού λαμβάνει χώρα στη μήτρα και το σπέρμα εισέρχεται στο

αυγό μέσω της μικροπύλης. Το θηλυκό εναποθέτει τα αυγά σε κατάλληλο υπόστρωμα και ξεκινά το στάδιο του εμβρύου ή εμβρυογένεση που διαρκεί περίπου 24 ώρες. Αρχικά, έχουμε τη φάση της «αυλάκωσης» που είναι μία φάση γρήγορων πυρηνικών διαιρέσεων στο κέντρο του αυγού, χωρίς όμως κυτταρική διαίρεση. Ολόκληρο το έμβρυο συγκροτεί ένα συγκύτιο στο οποίο όλοι οι πυρήνες μοιράζονται ένα κοινό κυτταρόπλασμα. Μετά από 8 διαιρέσεις, εμφανίζονται τα πολικά κύτταρα στο οπίσθιο άκρο του εμβρύου και το σχηματισμό των πρώτων κυτταρικών μεμβρανών. Μετά τις 9 διαιρέσεις, οι περισσότεροι πυρήνες (περί τους 256 τον αριθμό) μεταναστεύουν στην περιφέρεια του εμβρύου το οποίο χαρακτηρίζεται πλέον ως «συγκυτιακό βλαστόδερμα». Στις 13 διαιρέσεις, μετά τις τρεις ώρες από τη στιγμή της γονιμοποίησης, έχουμε το κυτταρικό βλαστόδερμα. Σε αυτή τη φάση της εμβρυογένεσης, έχουμε 5000 επιφανειακά κύτταρα, 1000 λεκιθικούς πυρήνες και 16-32 πολικά κύτταρα στο έμβρυο. Επίσης, ο ρυθμός της κυτταρικής διαίρεσης μειώνεται και τα πολικά κύτταρα διαιρούνται ακόμη μία φορά, πριν το έμβρυο περάσει στη φάση της γαστριδίωσης και στο σχηματισμό των 3 βλαστικών γραμμών: το ενδόδερμα, το μεσόδερμα και το εξώδερμα. Η γαστριδίωση ξεκινά με το σχηματισμό της κοιλιακής αύλακας η οποία εμφανίζεται ως μία μεσοδερμική εγκόλπωση κατά μήκος της κοιλιακής μέσης γραμμής και μετά από λίγο συντήκεται στα άκρα με εγκολπώσεις του εμπρόσθιου και οπίσθιου μέσου εντέρου. Με την πάροδο της γαστριδίωσης, στη φάση της εκτεταμένης βλαστικής ζώνης, καθίσταται εμφανής η φάση του μεταμερισμού που χαρακτηρίζεται αρχικά με την παρουσία παραμεταμερών. Τα οριστικά μεταμερή αρχίζουν να εμφανίζονται στις 7,5 ώρες, περίπου, από την γονιμοποίηση, όπου η βλαστική ζώνη υποχωρεί και οι επιδερμικές αύλακες αναδιατάσσονται. Τα οριστικά μεταμερή σχηματίζονται το καθένα από τα οπίσθια δύο τρίτα ενός παραμεταμερούς και το εμπρόσθιο τρίτο του επόμενου (Slack, 2009). Η *Drosophila* είναι ολομεταβόλο έντομο. Αυτό σημαίνει ότι υφίσταται πλήρη μεταμόρφωση και από το αυγό προκύπτει μία προνύμφη η οποία θα περάσει από τρία νέα αναπτυξιακά στάδια από τα οποία θα μεταμορφωθεί σε νύμφη και ένα στάδιο ηρεμίας από το οποίο θα προκύψει το ενήλικο έντομο (McLaughlin et al, 2015 ; Slack JMW, 2009). Η προνύμφη της *Drosophila* έχει μεγάλες διαφορές στη δομή σε σχέση με το ενήλικο έντομο. Αρχικά, δεν έχει πόδια, το κεφάλι της είναι αναδιπλωμένο στο εσωτερικό και φέρει τρία κοιλιακά και οκτώ θωρακικά μεταμερή. Η εκκολαπτόμενη προνύμφη αναπτύσσεται για περίπου 4 ημέρες και διακρίνεται σε τρία προνυμφικά αναπτυξιακά στάδια (*instar larva*: L1, L2, L3) βάσει του μεγέθους και της κίνησης

της, ενώ υπόκεινται σε εξ ολοκλήρου μεταμόρφωση από το ένα στάδιο στο άλλο. Μετά την εκκόλαψη της προνύμφης, στο 1^ο στάδιο (L1) η προνύμφη τρέφεται από την επιφάνεια της τροφής. Μετά από 24 ώρες, μεταμορφώνεται σε 2^ο σταδίου προνύμφη (L2), όπου ξεκινά να τρέφεται στο εσωτερικό της τροφής. Μετά το πέρας 48 ωρών από την εκκόλαψη, μεταμορφώνεται σε 3^ο σταδίου προνύμφη, όπου εξακολουθεί να τρέφεται με το εσωτερικό της τροφής για ακόμα 48 ώρες, αλλά είναι πλέον μεγαλύτερη σε μέγεθος (Slack J.M.W., 2009). Τέλος, η προνύμφη εξέρχεται από την τροφή και δημιουργεί ένα στερεό στρώμα (κουκούλι) και μεταμορφώνεται σε νύμφη (ή χρυσαλίδα) μέσα σε 30 ώρες (Campos-Ortega and Hartenstein, 1985).

Η μεταμόρφωση σε τέλειο έντομο διαρκεί περίπου 3-4 ημέρες. Κατά τη μεταμόρφωση το σώμα της προνύμφης διαλύεται και οι δίσκοι ενήλικου (*imaginal discs*) αυξάνονται σε μέγεθος, διαφοροποιούνται και σχηματίζουν το ενήλικο έντομο. Στο σχηματισμό του ενήλικου εντόμου συμμετέχουν και οι κοιλιακοί ιστοβλάστες. Και οι δύο αυτές κατηγορίες κυττάρων, οι δίσκοι ενήλικου και οι κοιλιακοί ιστοβλάστες βρίσκονται παρόντες στο στάδιο της προνύμφης. Οι δίσκοι ενήλικου είναι μικρότεροι σε μέγεθος ενώ οι κοιλιακοί ιστοβλάστες βρίσκονται με τη μορφή αδιαφοροποίητων καταβολών (Slack J.M.W., 2009).

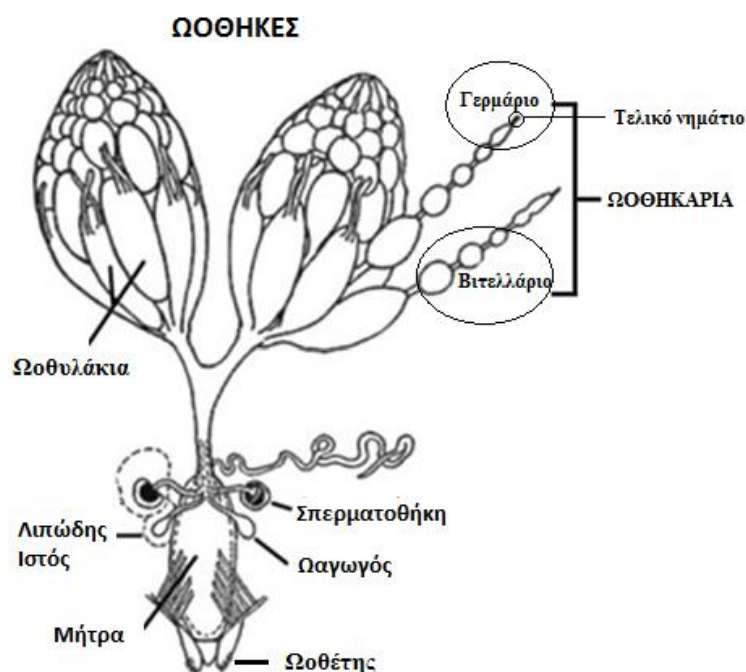
Θα πρέπει να αναφερθεί ότι όλη η αναπτυξιακή περίοδος του εντόμου διαφέρει με τη θερμοκρασία. Υπό ιδανικές συνθήκες (25°C), η ανάπτυξη του εντόμου από αυγό σε ενήλικο έντομο διαρκεί περί τις 8,5 ημέρες. Η μικρότερη αναπτυξιακή περίοδος που έχει σημειωθεί είναι 7 ημέρες σε θερμοκρασία 28°C. Γενικά, έχει βρεθεί πως πάνω από 28°C και κάτω από 25°C, η αναπτυξιακή περίοδος του εντόμου αυξάνεται και μπορεί να φτάσει π.χ. τις 50 ημέρες σε θερμοκρασία 12°C (Ashburner M et al, 1978; 2005). επίσης, σε περιόδους στρες (π.χ. σε υπερπληθυσμό στην καλλιέργεια) και η διαδικασία ανάπτυξης αυξάνεται, αλλά και το μέγεθος των εντόμων που προκύπτουν είναι μικρότερο (Chiang HC et al, 1950; Bakker K, 1961).

Μετά την έκδυσή τους, τα ενήλικα έντομα, αρσενικά και θηλυκά, γίνονται αναπαραγωγικά ώριμα μετά από διάστημα κάποιων ωρών. Συγκεκριμένα, τα αρσενικά έντομα ωριμάζουν σεξουαλικά μέσα σε διάστημα λίγων ωρών, ενώ τα θηλυκά μέσα σε 8-12 ώρες (Pitnick S, 1996). Μετά το επιτυχές ζευγάρωμα, τα θηλυκά αποθηκεύουν το σπέρμα στις σπερματοθήκες και τα σπερματικά δοχεία. Με τη διαδικασία της ωογένεσης, τα θηλυκά δημιουργούν ώριμα αυγά προς γονιμοποίηση. Αφού ωριμάσουν πλήρως, γονιμοποιούνται από το αποθηκευμένο

σπέρμα και εναποτίθενται στην τροφή με αποτέλεσμα την έναρξη ενός νέου κύκλου ζωής.

1.11.2. Θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα

Το εσωτερικό αναπαραγωγικό σύστημα του ενήλικου θηλυκού εντόμου της *Drosophila* αποτελείται από ένα ζεύγος ωοθηκών, ένα ζεύγος ωαγωγών που ενώνονται σε έναν κοινό, τη μήτρα, τρία όργανα αποθήκευσης σπέρματος (σπερματοθήκες) και ένα ζευγάρι βοηθητικών αδένων (King, 1968). Κάθε ωοθήκη αποτελείται από 15-18 παράλληλα ωοθηκάρια, τα οποία συγκρατούνται μαζί από ένα περιτοναϊκό μυϊκό περίβλημα αποτελούμενο από αναστομωμένες μυϊκές ίνες (King, 1968). Το ωοθηκάριο αποτελεί μία σειρά ωοθυλακίων διαφορετικού σταδίου ανάπτυξης, ανάλογα με το οποίο τοποθετούνται σε διαφορετική θέση (εικόνα 1.23) (McLaughlin et al., 2015). Τα ωοθυλάκια σχηματίζονται στην εμπρόσθια περιοχή της ωοθήκης και όσο αναπτύσσονται προχωρούν προς το οπίσθιο μέρος της που συνδέεται με τον ωαγωγό. Τα βασικά αναπτυξιακά στάδια είναι 14, που όμως μπορούν να διαχωριστούν εκτενέστερα σε 20 υποκατηγορίες (Margaritis, 1985; 1986). Στο στάδιο 14, το αυγό είναι ώριμο και έτοιμο προς γονιμοποίηση.



Εικόνα 1.23: Σχηματική απεικόνιση των εσωτερικών γεννητικών οργάνων στην *Drosophila melanogaster*. Στην εικόνα φαίνονται οι ωοθήκες με τα ωοθηκάρια και τα ωοθυλάκια, η σπερματοθήκη, ο ωαγωγός, η μήτρα όπου λαμβάνει χώρα η ωογένεση και ο ωοθέτης από όπου εναποτίθεται το γονιμοποιημένο αυγό στην τροφή. Οι ωοθήκες αποτελούν το μεγαλύτερο όργανο στην *Drosophila* και το

ωοκύτταρο το μεγαλύτερο κύτταρο αντίστοιχα. Τα ωοθηκάρια χωρίζονται σε τρεις περιοχές: το τελικό νημάτιο, το γερμάριο και το βιτελλάριο. Τροποποίηση από Rubin et al, 2015.

1.11.3. Ωογένεση στη *Drosophila melanogaster*

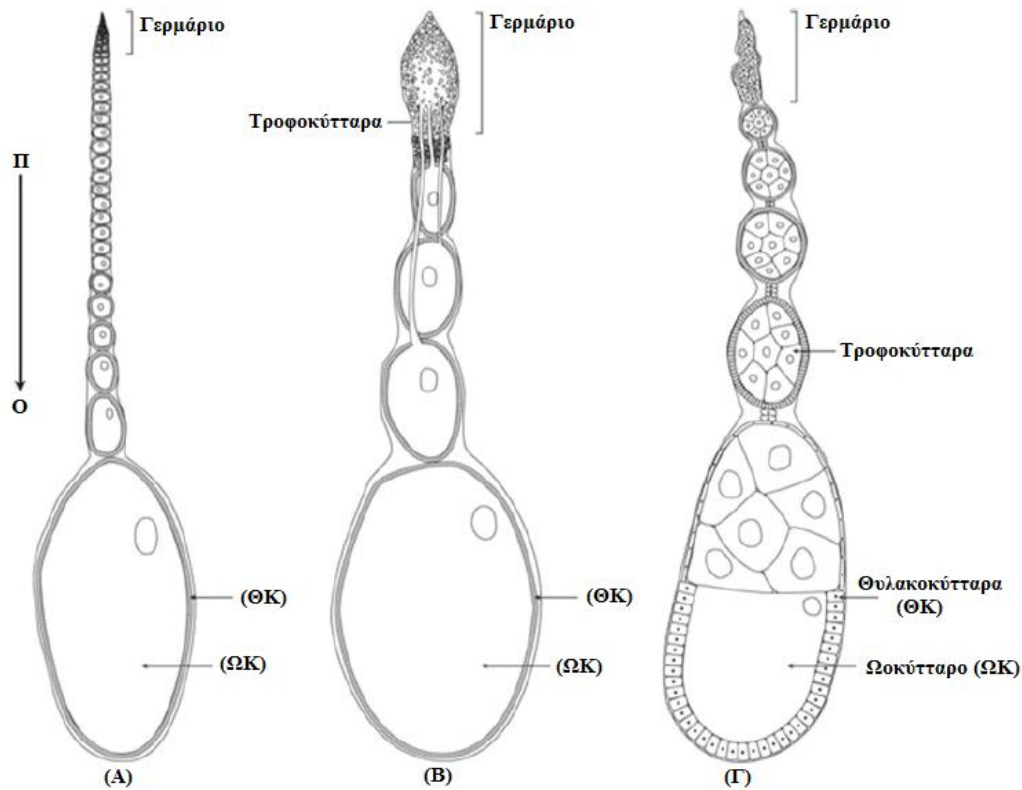
Η *Drosophila melanogaster* ανήκει στην τάξη Έντομα (*Insecta*) του ζωικού βασιλείου και είναι ολομετάβολο έντομο, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Μέλη αυτής της τάξης παρουσιάζουν και έχουν γενικά αναπτύξει διαφορετικές μορφολογίες ωοθηκών οι οποίες χρησιμοποιούν διαφορετικό πρότυπο οργάνωσης της ανάπτυξης του ωοθυλακίου, ανάλογα με τη διάρκεια της εμβρυόγενεσης. Τα βασικά πρότυπα είναι δύο: 1) το πανοϊστικό που χαρακτηρίζεται από απουσία βοηθητικών τροφοκυττάρων και από το γεγονός ότι το ωοκύτταρο παράγει το ίδιο ότι χρειάζεται (**εικόνα 1.24Α**) και 2) το μεροϊστικό στο οποίο το ωοκύτταρο συνδέεται με τροφοκύτταρα τα οποία παράγουν μεγάλο μέρος των απαραίτητων, για την ανάπτυξη και ωρίμανση αυτού, mRNA, πρωτεϊνών και άλλων κυτταρικών συστατικών.

Το μεροϊστικό πρότυπο με βάση τη θέση των τροφοκυττάρων μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω στο μεροϊστικό τελοτροφικό και στο μεροϊστικό πολυτροφικό. Στο μεροϊστικό τελοτροφικό το ωοκύτταρο συνδέεται με τα τροφοκύτταρα, που είναι τοποθετημένα στο πρόσθιο άκρο του ωοθηκαρίου για όλη την ωογένεση, μέσω ενός θρεπτικού «καναλιού» κατά μήκος του ωοθηκαρίου (**εικόνα 1.24Β**). Αντίθετα, στο μεροϊστικό πολυτροφικό, το ωοκύτταρο συνδέεται απευθείας με τα τροφοκύτταρα, που βρίσκονται παρακείμενα από αυτό, μέσω κυτταροπλασματικών συνδέσεων (δακτυλοειδή κανάλια) (**εικόνα 1.24Γ**).

Η *Drosophila* ακολουθεί το μεροϊστικό πολυτροφικό πρότυπο ανάπτυξης, στο οποίο το ωοκύτταρο, μαζί με τα θυλακοκύτταρα και τα τροφοκύτταρα που το περιβάλλουν, σχηματίζουν μία κύστη η οποία κινείται ως μία μονάδα κατά μήκος του ωοθηκαρίου, όσο αυτό ωριμάζει (*McLaughlin et al, 2015*).

Το ωοθυλάκιο της *Drosophila*, εκτός από το ωοκύτταρο και τα τροφοκύτταρα, έχει ακόμα έναν τύπο κυττάρων στη δομική του μονάδα, τα θυλακοκύτταρα. Σε αντίθεση με το ωοκύτταρο και τα τροφοκύτταρα που προέρχονται από τη γαμετική σειρά και συγκεκριμένα από τη διαίρεση του ίδιου αρχικού κυττάρου, τα θυλακοκύτταρα προέρχονται από σωματικά κύτταρα. Συγκεκριμένα, προέρχονται από δύο σωματικά βλαστοκύτταρα και χωρίζονται σε τρεις τύπους: 1) τα πολικά, που βρίσκονται στον πρόσθιο και οπίσθιο πόλο του ωοθυλακίου, 2) τα επιθηλιακά, που περιβάλλουν το ωοθυλάκιο και συμμετέχουν στη σύνθεση του χορίου και 3) τα

συνοριακά κύτταρα, περίπου 6-8 κύτταρα, τα οποία θα δημιουργήσουν μεταγενέστερα τη μικροπύλη (McLaughlin et al, 2015, Mathieu et al, 2007).



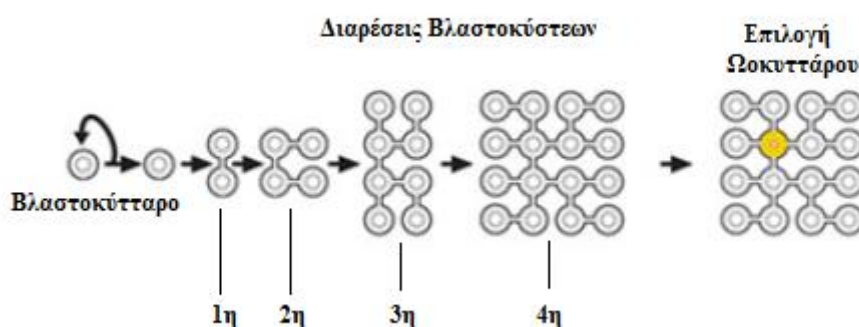
Εικόνα 1.24. Σχηματική απεικόνιση των διαφόρων προτύπων οργάνωσης της ανάπτυξης των ωοθυλακίων στην τάξη Έντομα. **A.** Πανοϊστικό πρότυπο **B.** Μεροϊστικό τελοτροφικό πρότυπο **Γ.** Μεροϊστικό Τελοτροφικό. Σε κάθε πρότυπο σημειώνεται η θέση του ωοκυττάρου (ΩΚ), των θυλακοκυττάρων (ΘΚ) και των τροφοκυττάρων καθώς και του γερμαρίου. Η *Drosophila* χρησιμοποιεί το μεροϊστικό τελοτροφικό πρότυπο. Τροποποίηση από McLaughlin et al, 2015.

Το ωοθηκάριο, όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί μία αλυσίδα ωοθυλακίων σε διαφορετικό στάδιο ανάπτυξης. Γενικά, το ωοθηκάριο, ως μονάδα, μπορεί να χωριστεί σε τρεις περιοχές: 1) το τελικό νηματίο, 2) το γερμάριο και 3) το βιτελλάριο. Το τελικό νηματίο είναι μία δομή στο ακραίο πρόσθιο τμήμα του ωοθηκαρίου που μοιάζει με κλωστή και αποτελείται από μία στοιβάδα δισκοειδών κυττάρων. Η δομή αυτή συνδέει το γερμάριο στο περιτοναϊκό μυϊκό περίβλημα που περιβάλλει το ωοθηκάριο (Rubin et al, 2015). Το γερμάριο βρίσκεται στην περιοχή μεταξύ του τελικού νηματίου και του βιτελλαρίου, αποτελεί το 1^ο στάδιο της ωογένεσης και χωρίζεται σε τρεις περιοχές 1, 2a, 2b και 3. Το βιτελλάριο αποτελεί την επόμενη

φάση στην ωογένεση και περιέχει ωοθυλάκια διαφορετικών σταδίων, από το στάδιο 2 μέχρι το 14.

1.11.3.1 Γερμάριο

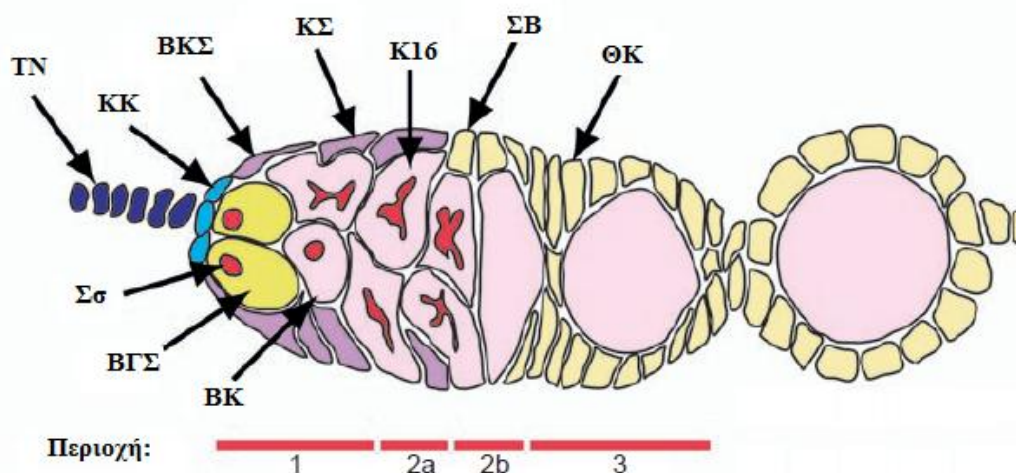
Η ωογένεση αρχίζει στο γερμάριο όταν ένα βλαστοκύτταρο γαμετικής σειράς διαιρείται ασύμμετρα και δημιουργεί μία βλαστοκύστη και ένα θυγατρικό βλαστοκύτταρο. Η βλαστοκύστη στη συνέχεια υπόκειται 4 ασύμμετρες διαιρέσεις ώστε τελικά δημιουργείται μία βλαστοκύστη 16 κυττάρων τα οποία επικοινωνούν όλα μεταξύ τους με γέφυρες ακτίνης, τα δακτυλιοειδή κανάλια (McLaughlin *et al*, 2015). Το πρότυπο διαίρεσης που ακολουθούν τα κύτταρα αυτά εξασφαλίζεται από τη δημιουργία του συναπτοσώματος (fusome ή spectrosome) στα βλαστοκύτταρα, το οποίο αποτελείται από το κεντροσώμα και απομεινάρια κυτταροσκελετού (McLaughlin *et al*, 2015). Από τα 16 κύτταρα της βλαστοκύστης, το ένα θα διαφοροποιηθεί σε ωκύτταρο και τα υπόλοιπα 15 θα διαφοροποιηθούν σε τροφοκύτταρα. Όπως αναφέρθηκε, και τα 16 κύτταρα στη βλαστοκύστη επικοινωνούν μεταξύ τους με τα δακτυλιοειδή κανάλια. Συγκεκριμένα, η κύστη αποτελείται από δύο κύτταρα με τέσσερις διαύλους, δύο με τρεις, τέσσερα με οκτώ και οκτώ κύτταρα με ένα διάυλο. Από το ένα από τα δύο κύτταρα με τέσσερις διαύλους, τα οποία χαρακτηρίζονται και ως προ-ωκύτταρα, θα προκύψει το ωκύτταρο (εικόνα 1.25) (McLaughlin *et al*, 2015).



Εικόνα 1.25 Σχηματική αναπαράσταση των διαιρέσεων του βλαστοκύτταρου της γαμετικής σειράς μέχρι το στάδιο επιλογής του ωοκυττάρου (κίτρινο). Τροποποίηση από McLaughlin *et al* 2015.

Το γερμάριο διαιρείται σε τέσσερις κυτταρολογικά διακριτές περιοχές: περιοχή 1, 2a, 2b και 3. Στην περιοχή 1 βρίσκονται τα βλαστοκύτταρα της γαμετικής σειράς και οι διαιρούμενες βλαστοκύστες. Στην περιοχή 2a βρίσκονται οι

βλαστοκύστες των 16 κυττάρων, μέχρι όμως η κύστη να φτάσει στην περιοχή 2b, ένα από τα δύο προ-ωοκύτταρα στην βλαστοκύστη των 16 κυττάρων θα έχει διαφοροποιηθεί σε ωοκύτταρο και τα υπόλοιπα σε τροφοκύτταρα. Η διαφοροποίηση του προ-ωοκυττάρου σε ωοκύτταρο βασίζεται στην συσσώρευση πρωτεϊνών και mRNAs ειδικών για το ωοκύτταρο, τα οποία όμως βρίσκονται αρχικά στην ίδια συγκέντρωση και στα δύο προ-ωοκύτταρα. Η συγκέντρωσή τους όμως διαφοροποιείται και αρχίζουν να συσσωρεύονται στο «επιλεγμένο» προ-ωοκύτταρο μέχρι η κύστη να βγει από την περιοχή 2a και να μπει στην περιοχή 2b. Πριν την έξοδο από την περιοχή 2β του γερμαρίου το ωοκύτταρο έχει αναπτύξει ένα κέντρο οργάνωσης μικροσωληνίσκων (Microtubules-Organizing Center – MTOC), το οποίο δημιουργεί ένα δίκτυο σύνδεσης με τα υπόλοιπα 15 τροφοκύτταρα (González-Reyes *et al.*, 1997). Στην περιοχή 3 του γερμαρίου, ολόκληρο το σύμπλεγμα ωοκυττάρου – τροφοκυττάρων περιβάλλεται από τα θυλακοκύτταρα των ωοθηκών σχηματίζοντας μία δομή που καλείται ωοθυλάκιο (Slack, 2009), ενώ το ωοκύτταρο έχει μεταφερθεί στον οπίσθιο πόλο αυτού με αποτέλεσμα τη δημιουργία του σταδίου 1 της ωογένεσης (εικόνα 1.26).



Εικόνα 1.26 Σχηματική αναπαράσταση των περιοχών του γερμαρίου και των κυττάρων που βρίσκονται σε κάθε περιοχή. Στο πρόσθιο άκρο του γερμαρίου, στην περιοχή 1, έχουμε το τελικό νημάτιο (TN) και τα καυκικά κύτταρα (KK) τα οποία συνδέουν το ωοθυλάκιο με το μυϊκό κάλυμμα γύρω του και περιβάλλουν το διαιρούμενο βλαστοκύτταρο της γαμετικής σειράς (BGΣ), αντίστοιχα. Το BGΣ ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα κύτταρα λόγω της παρουσίας του σπεκτροσώματος (Σσ). Επιπλέον, έχουμε τη διαιρούμενη βλαστοκύστη (BK) και τα κύτταρα-συνοδούς (KΣ) αλλά και τα βλαστοκύτταρα από όπου προέρχονται (BKΣ). Τα KΣ «ξεχωρίζουν» το BGΣ με τη BK. Στην περιοχή 2a, έχουμε την βλαστοκύστη των 6

κυττάρων (K16) ενώ στην περιοχή 2b έχουμε την εμφάνιση των βλαστοκυττάρων της σωματικής σειράς (ΣΒ) που στην περιοχή 3 θα διαφοροποιηθούν σε θυλακοκύτταρα (ΘΚ). Τροποποίηση από Kirilly et al, 2007

Όταν το ωοθυλάκιο βγει από την περιοχή του γερμαρίου και μπει στο στάδιο 2, εισέρχεται στο βιτελλάριο και αποκτά πολικότητα, η οποία εξαρτάται από τα σημεία μετάφρασης συγκεκριμένων mRNAs κατά την εμβρυογένεση.

1.11.3.2 Βιτελλάριο

Όπως ήδη αναφέρθηκε, το βιτελλάριο αποτελείται από τα ωοθυλάκια σταδίου 2 έως 14 (McLaughlin et al, 2015). Τα ωοθυλάκια αυτά διαχωρίζονται σε προβιτελλογενετικά, βιτελλογενετικά και χοριογενετικά. Ο διαχωρισμός τους γίνεται με βάση το μέγεθος του ωοθυλακίου, τη θέση τους στο ωοθηκάριο, το μέγεθος του ωοκυττάρου σε σχέση με αυτό των τροφοκυττάρων, τη μορφολογία των πυρήνων των τροφοκυττάρων, την ύπαρξη και τον τύπο διαφόρων οργανιδίων στο εσωτερικό του ωοκυττάρου και τέλος, την ύπαρξη των διαφορετικών ζωνών του χορίου (King, 1970).

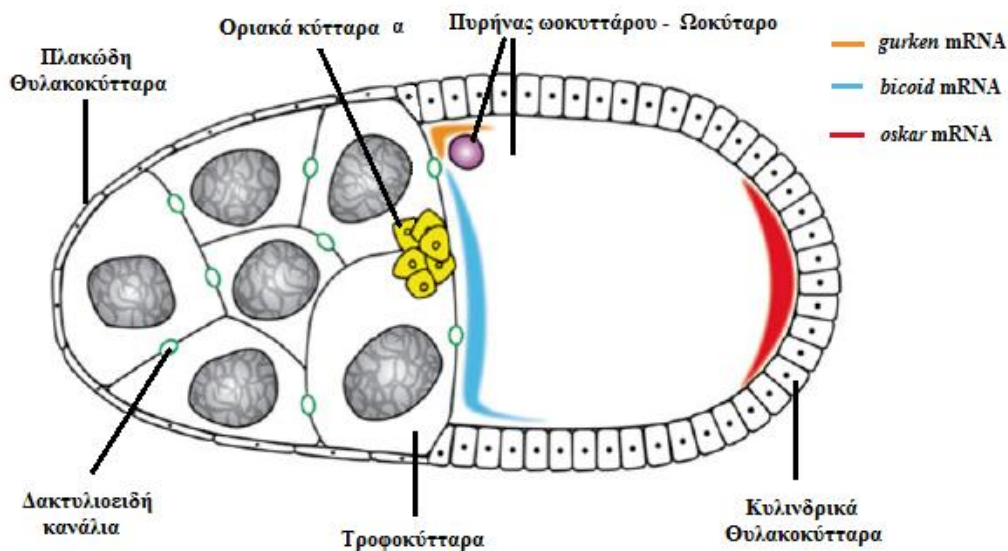
Ως προβιτελλογενετικά αποκαλούνται τα σταδίου 2-6 ωοθυλάκια τα οποία είναι και τα μικρότερα σε μέγεθος. Στα στάδια αυτά ο ρυθμός ανάπτυξης των τροφοκυττάρων είναι ίδιος με αυτόν του ωοκυττάρου. Χαρακτηριστικό αυτών των σταδίων, είναι η απουσία λεκίθου από το ωοκύτταρο (Trogakos and Margaritis, 2002).

Τα βιτελλογενετικά στάδια αποτελούν τα σταδίου 8-10 ωοθυλάκια. Βιτελλογένεση ονομάζεται η διαδικασία αποθήκευσης θρεπτικών συστατικών (λεκιθοπρωτεϊνών) στο ωοκύτταρο, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν από το έμβρυο κατά την διάρκεια της εμβρυογένεσης. Στα στάδια αυτά το ωοκύτταρο παρουσιάζει άνιση ανάπτυξη σε σχέση με τα τροφοκύτταρα λόγω του ότι προσλαμβάνει λεκιθοπρωτεΐνες που συντίθενται στο λιπαρό σώμα και τα θυλακοκύτταρα. Οι λεκιθοπρωτεΐνες εμφανίζονται πρώτη φορά στο στάδιο 8 στα α- λεκιθοσφαιρίδια (Papassideri et al 2007). Στο στάδιο 9, το ωοκύτταρο αρχίζει να μεγαλώνει κατά πολύ συγκριτικά με τα τροφοκύτταρα και αρχίζουν να σχηματίζονται τα βιτελλινικά σωματίδια στην περιφέρεια του ωοκυττάρου. Στο στάδιο 10, το ωοκύτταρο καταλαμβάνει ολόκληρο τον οπίσθιο πόλο του ωοθυλακίου (εικόνα 1.27), τα βιτελλινικά σωματίδια συντήκονται μεταξύ τους και σχηματίζουν τη βιτελλινική

μεμβράνη, μία συνεχή στιβάδα πάχους 1,6 μm. Η βιτελλινική μεμβράνη είναι πλέον μία ελαστική, άμορφη και σπογγώδης μεμβράνη που αποτελεί το πρώτο στρώμα του κελύφους το οποίο περιβάλλει εξωτερικά το αυγό (*Margaritis, 1985*).

Εκτός από τις λεκιθοπρωτεΐνες και τις πρωτεΐνες της βιτελλινικής μεμβράνης κατά τα βιτελλογενετικά στάδια έχουμε και την έκκριση μορφογενετικών παραγόντων που εμπλέκονται στον καθορισμό του άξονα συμμετρίας του εμβρύου. Συγκεκριμένα, η οπίσθια – εμπρόσθια πολικότητα (κεφάλι – κοιλιά) καθορίζεται από την εναπόθεση των *oskar* και *nanos* mRNAs στο οπίσθιο τμήμα του ωοκυττάρου και του *bicoid* mRNA στο εμπρόσθιο (εικόνα 1.28). Ο ραχιαίος – κοιλιακός άξονας καθορίζεται *de novo* κατά τη μέση ωογένεση από το *gurken* mRNA, το οποίο βρίσκεται κοντά στον πυρήνα του ωοκυττάρου (εικόνα 1.28) (*Kugler and Larsko, 2009; Atkey et al., 2006*). Κατά συνέπεια, οι δύο σημαντικές πολικότητες του εντόμου (ραχιαίος – κοιλιακός άξονας και οπίσθιο – εμπρόσθιο τμήμα) καθορίζονται πριν τη γονιμοποίηση του αυγού, κατά τη διάρκεια της ωογένεσης (*González-Reyes et al., 1997*).

Καθώς το μέγεθος του ωαρίου αυξάνεται, τα θυλακοκύτταρα που εντοπίζονται πάνω από τα τροφοκύτταρα έχουν πλακώδη μορφή, ενώ αυτά που βρίσκονται πάνω από το ωκύτταρο είναι κυλινδρικά.



Εικόνα 1.28. Σχηματική αναπαράσταση ωοθυλακίου σταδίου 10. Στο στάδιο αυτό το ωοθυλάκιο καλύπτει το 50% του ωοθυλακίου. Τα θυλακοκύτταρα που το περιβάλλουν έχουν κυλινδρική μορφολογία ενώ αυτά που καλύπτουν το υπόλοιπο 50% που αποτελείται από τροφοκύτταρα έχουν πλακώδη μορφολογία. Στο στάδιο αυτό επίσης έχει ολοκληρωθεί η μετανάστευση των οριακών κυττάρων

(θυλακοκύτταρα που έχουν μεταναστεύσει από το πρόσθιο άκρο του ωοθυλακίου) προς το ωοκύτταρο, τα οποία αργότερα θα σχηματίσουν την μικροπύλη. Στην εικόνα φαίνονται επίσης τα δακτυλιοειδή κανάλια που συνδέουν το κυτταρόπλασμα μεταξύ των τροφοκυττάρων και του ωοκυττάρου, καθώς και ο πυρήνας του ωοκυττάρου στο πρόσθιο-ραχιαίο τμήμα αυτού μαζί με τα συνεντοπιζόμενα mRNAs, *bicoid* και *gurken*. Μαζί με το *oskar* mRNA καθορίζουν τους βασικούς άξονες συμμετρίας, προσθιο-οπίσθιο και ραχιαίο-κοιλιακό, του ωοθυλακίου τους οποίους και θα ακολουθήσει αργότερα το έμβρυο κατά την εμβρυογένεση. Τροποποίηση από *McLaughlin et al, 2015*

Στα στάδια 11-14, που αποτελούν την τελική φάση της ωογένεσης συντελείται η χοριογένεση. Σε αυτή τη φάση περιλαμβάνονται τα γεγονότα της σύνθεσης των ζωνών του χορίου και για αυτό τα στάδια αυτά χαρακτηρίζονται ως χοριογενετικά. Η χοριογένεση αποτελεί ένα πρότυπο σύστημα κυτταρικής διαφοροποίησης, συγκεκριμένα των θυλακοκυττάρων τα οποία και συνθέτουν τις πρωτεΐνες του κελύφους των ωοθυλακίων με ποσοτική και ποιοτική διαφοροποίηση (*Trougakos and Margaritis, 2002*). Το κέλυφος αποτελείται από τη βιτελλινική μεμβράνη και το χόριο, το οποίο διακρίνεται σε εξωχόριο, ενδοχόριο και εσωτερική χοριονική ζώνη. Το κέλυφος χαρακτηρίζεται από ακτινωτή και οριζόντια πολυπλοκότητα που αντίστοιχα αφορούν στο επίπεδο διαφοροποίησης των κυττάρων (χρονική διαφοροποίηση) και στη διαφοροποίηση των ζωνών του χορίου (δομική διαφοροποίηση). Η χοριογένεση ξεκινά στο στάδιο 11 όπου το ωοκύτταρο αποτελεί τα 2/3 του ωοθυλακίου και έχουμε την ενεργοποίηση της σύνθεσης των αναπνευστικών νηματίων του αυγού ταυτόχρονα με την συγκρότηση της εσωτερικής χοριονικής ζώνης. Στο στάδιο 12 εμφανίζονται τα αναπνευστικά νημάτια, το ενδοχόριο σχηματίζεται στο εμπρόσθιο-ραχιαίο τμήμα του ωοκυττάρου, αρχίζει και διακρίνεται η εσωτερική χοριονική ζώνη (σε κρυσταλλική μορφή) καθώς και ευκρινώς το στρώμα κεριού. Στο στάδιο 13 ολοκληρώνεται ο σχηματισμός των στυλίσκων που είχε ξεκινήσει στο στάδιο 12 και έχουμε τη συγκρότηση της οροφής του ενδοχορίου στο κύριο τμήμα και το εμπρόσθιο του ωοθυλακίου. Στο στάδιο 14, η οροφή του ενδοχορίου ολοκληρώνεται σε όλο το ωοθυλάκιο, το δάπεδο του ενδοχορίου αρχίζει και διαμορφώνεται στο κύριο τμήμα του ωοθυλακίου ενώ τα αναπνευστικά νημάτια φθάνουν στο τελικό τους μήκος. Από το ώριμο πλέον αυγό αποχωρίζονται τα θυλακοκύτταρα, τα οποία έχουν εκκρίνει το εξωχόριο και εκφυλίζονται (*King, 1970; Margaritis, 1980; Μαργαρίτης Α.Χ., 1980 ; Margaritis, 1985*).

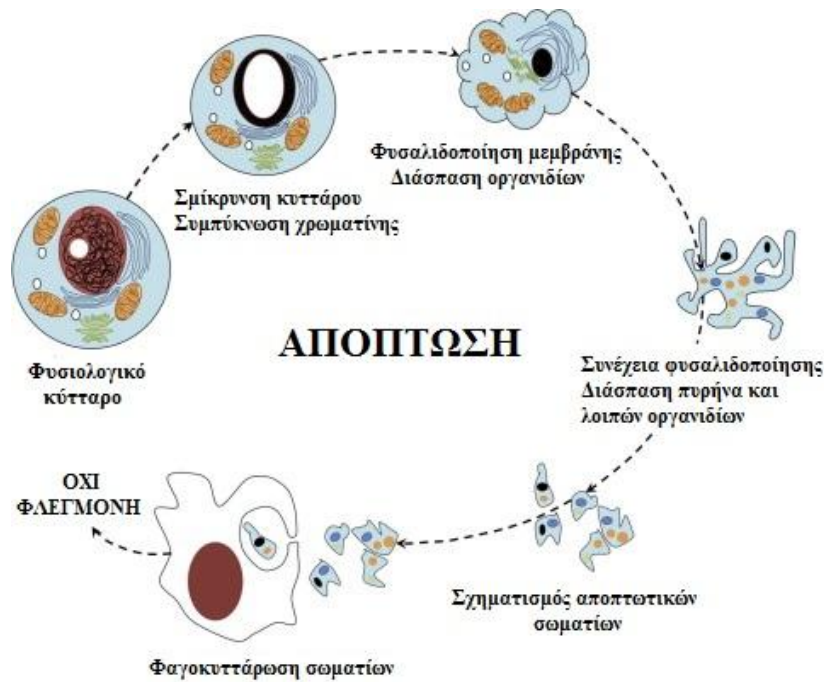
1.11.3.3. Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος κατά την ωογένεση

Τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού είναι εξειδικευμένα μέλη μίας πολύ οργανωμένης «κοινότητας» και ο πολλαπλασιασμός τους πρέπει να ελέγχεται ώστε ένα ορισμένο κύτταρο να διαιρείται μόνο όταν ο οργανισμός χρειάζεται ένα άλλο κύτταρο για να αυξηθεί ή για να αναπληρώσει μία απώλεια. Όταν τα κύτταρα πάψουν να είναι απαραίτητα «αυτοκτονούν» με τη διεργασία που είναι γνωστή ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση (*Alberts et al, 2006*).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι εντυπωσιακά διαδεδομένος τόσο στους αναπτυσσόμενους όσο και στους ενήλικους ιστούς (*Alberts et al, 2006*). Για τη *Drosophila* αποτελεί απαραίτητη διαδικασία για την ανάπτυξη της αφού παρατηρείται σε πολλά στάδια του κύκλου της ζωής της, από την ωογένεση μέχρι τη μεταμόρφωση της νύμφης σε τέλειο έντομο.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, στην απόπτωση το κύτταρο «αυτοκτονεί», σκοτώνει δηλαδή εσκεμμένα τον εαυτό του και στη συνέχεια απομακρύνεται από γειτονικά κύτταρα ή από μακροφάγα χωρίς να διασπείρει το περιεχόμενό του και να προκαλέσει φλεγμονώδη αντίδραση, σε αντίθεση με την κυτταρική νέκρωση κατά την οποία το κύτταρο μετά από οξεία βλάβη διογκώνεται και διαρρηγνύεται, διασπείροντας το περιεχόμενό του στα γειτονικά κύτταρα, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο φλεγμονή στην περιοχή (*Alberts et al, 2006*). Κατά την απόπτωση το κύτταρο παρουσιάζει κάποια μορφολογικά χαρακτηριστικά που το ξεχωρίζουν από τη νέκρωση και την αυτοφαγία, μία άλλη μορφή κυτταρικού θανάτου. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι:

- Συρρίκνωση του πυρήνα και του κυττάρου (με συμπύκνωση της πυρηνικής χρωματίνης)
- Δημιουργία πόρων στις μεμβράνες των μιτοχονδρίων
- Θρυμματισμένο γονιδιωματικό DNA (διαφορετικά μεγέθη θραυσμάτων)
- Φυσαλιδοποίηση της κυτταρικής μεμβράνης
- Αναδιοργάνωση κυτταροσκελετού ακτίνης
- Διάσπαση οργανιδίων κυττάρου
- Δημιουργία αποπτωτικών σωματίων
- Απουσία φλεγμονής λόγω φαγοκυττάρωσης από γειτονικά κύτταρα ή μακροφάγα (**εικόνα 1.29**)



Εικόνα 1.29 Σχηματική αναπαράσταση των φάσεων της απόπτωσης και τα χαρακτηριστικά που διέπουν τη διαδικασία σε κάθε φάση. Τροποποίηση από Abou-Ghali et al, 2015

Σε μοριακό επίπεδο, ενεργοποιούνται διάφορες οικογένειες πρωτεϊνών με πιο σημαντική την οικογένεια των κασπασών, οι οποίες διακρίνονται σε εναρκτές και τελεστές, ανάλογα με το ρόλο τους στην διαδικασία της απόπτωσης. Οι κασπάσες αποτελούν μία οικογένεια πρωτεασών, οι οποίες παράγονται ως ανενεργά πρόδρομα μόρια (προ-κασπάσες) και ενεργοποιούνται με πρωτεόλυση σε απάντηση σε διάφορα προ-αποπτωτικά σήματα (Alberts et al, 2006). Στη συνέχεια, οι κασπάσες ενεργοποιούν άλλα μέλη της ίδιας οικογένειας και αναστέλλουν μέλη των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών όπως οι αποπτωτικοί αναστολείς, συμβάλλοντας στην ολοκλήρωση της διαδικασίας της απόπτωσης. Γενικά, η απόπτωση διέπεται από μία δυναμική ισορροπία μεταξύ προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών. Στην *Drosophila* έχουν βρεθεί πολλά ομόλογα προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών γονιδίων. Όσον αφορά στις κασπάσες έχουν βρεθεί 7, εκ των οποίων οι δύο είναι κασπάσες-εναρκτές (Dronc και Dredd), τέσσερις είναι κασπάσες-τελεστές (Dcp-1, Drice, Damm, Decay) ενώ για μία δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί ο ρόλος της (Strica) (McCall, 2004).

Στο ενήλικο θηλυκό έντομο έχει παρατηρηθεί επαγωγή κυτταρικού θανάτου στην ωογένεση και συγκεκριμένα στα ωοθυλάκια της μέσης ωογένεσης σταδίου 7-9 και στην περιοχή 2 του γερμαρίου, συνήθως σε απόκριση σε στρεσογόνους

αναπτυξιακούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Για το λόγο αυτό, γίνεται τα στάδια αυτά αποτελούν τα «σημεία ελέγχου της ωογένεσης» και δρουν προστατευτικά, απομακρύνοντας τα ελαττωματικά ωοθυλάκια που δε θα καταφέρουν να αναπτυχθούν σε ώριμα προς γονιμοποίηση αυγά και με αυτόν τον τρόπο αποτρέπουν τη σπατάλη θρεπτικών συστατικών για τη δημιουργία τέτοιων αυγών (Nezis *et al*, 2000). Φυσιολογικά, ο κυτταρικός θάνατος παρατηρείται στα χοριογενετικά στάδια, συγκεκριμένα στο στάδιο 11 μέχρι και το στάδιο 14. Στα στάδια αυτά, έχουμε τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των τροφοκυττάρων τα οποία σταδιακά μεταφέρουν όλο τους το περιεχόμενο στο ωοκύτταρο και πεθαίνουν. Αναλυτικότερα, η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου των τροφοκυττάρων ξεκινά στο στάδιο 11 όπου και έχουμε αναδιάταξη του κυτταροσκελετού, συνεχίζει στο στάδιο 12 με συμπύκνωση της χρωματίνης και θραύση του DNA στους πυρήνες των τροφοκυττάρων στο στάδιο 13. Στο στάδιο 14 τα υπολείμματα των τροφοκυττάρων φαγοκυτταρώνονται από γειτονικά εναπομείναντα τροφοκύτταρα τα οποία μαζί με τα θυλακοκύτταρα (μετά την ολοκλήρωση και του εξωχορίου) πεθαίνουν στο τέλος του σταδίου αυτού (Nezis *et al*, 2000; 2001; 2002; 2006a).

- **Πρώτο σημείο ελέγχου στην ωογένεση: Περιοχή 2b του γερμαρίου**

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο παρατηρούμενος κυτταρικός θάνατος στην περιοχή 2b του γερμαρίου αποτελεί το πρώτο από τα δύο σημεία ελέγχου της ωογένεσης και η παρουσία στρεσογόνων παραγόντων επάγει τον αριθμό των αποπτωτικών γερμαρίων.

Οι *Drummond-Barbosa* και *Spradling* (2001) παρατήρησαν ότι ο κυτταρικός θάνατος στην περιοχή αυτή συνέβαινε στο 70% των εντόμων που αναπτύχθηκαν σε διατροφικά φτωχό περιβάλλον και τα οποία ανέπτυξαν εκφυλισμένα κύτταρα βλαστικής σειράς ενώ στα έντομα που αναπτύχθηκαν σε κανονική τροφή το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 2%. Συγκεκριμένα, ο κυτταρικός θάνατος παρατηρήθηκε στο σημείο που η βλαστοκύστη των 16 κυττάρων περιβάλλεται από θυλακοκύτταρα. Τα θυλακοκύτταρα πολλαπλασιάζονται πιο αργά σε σχέση με τα κύτταρα της γαμετικής σειράς και για αυτό το λόγο σε συνθήκες μειωμένης ή θερμιδικά φτωχής τροφής τα κύτταρα της γαμετικής σειράς πεθαίνουν για να διατηρηθεί η αριθμητική αναλογία αυτών με τα θυλακοκύτταρα. Μέσω πειραμάτων με τεχνική TUNEL στην ίδια εργασία ανιχνεύθηκε θετικό σήμα θρυμματισμένου DNA στα εκφυλισμένα βλαστικά κύτταρα και κατά συνέπεια ανακαλύφθηκε ότι ο μηχανισμός του θανάτου

των κυττάρων στην περιοχή αυτή ήταν η απόπτωση. Πιο πρόσφατες μελέτες όμως έχουν δείξει ότι πολύ πιθανά ο θάνατος των κυττάρων της γαμετικής σειράς να πραγματοποιείται και με αυτοφαγία, πιθανόν συνεργιστικά με την απόπτωση (Nezis *et al*, 2009).

- **Δεύτερο σημείο ελέγχου στην ωογένεση: Στάδια 7-9 μέσης ωογένεσης**

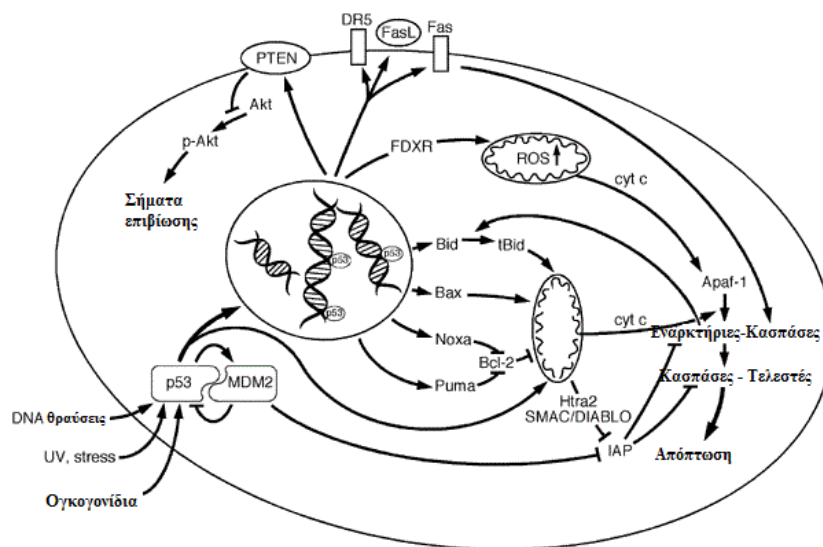
Ο κυτταρικός θάνατος στη μέση ωογένεση πραγματοποιείται επίσης με απόπτωση, γεγονός που επιβεβαιώνεται με την εύρεση θετικού σήματος θρυμματισμένου DNA με τεχνική TUNEL (Chao *et al*, 1999). Σε αυτή τη φάση της ωογένεσης η απόπτωση των κυττάρων παρατηρείται στα τροφοκύτταρα που είναι τα πρώτα που εκφυλίζονται και δίνουν θετικό σήμα TUNEL (Chao *et al*, 1999 ; Nezis *et al*, 2000 ; Peterson *et al*, 2003). Παρομοίως όμως με το πρώτο σημείο ελέγχου της ωογένεσης, έχουν βρεθεί αυτοφαγικά σωμάτια στα κύτταρα, επομένως η απόπτωση μπορεί να μην είναι το μοναδικό μονοπάτι θανάτου που ακολουθείται (Nezis *et al*, 2006 ; Velentzas *et al*, 2007; Barth *et al*, 2011).

Τα νεκρά κύτταρα γενικά απομακρύνονται μέσω εγκόλπωσης από γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα ή εξειδικευμένα μακροφάγα. Λόγω παρουσίας ελάχιστων μακροφάγων στην ωοθήκη της *Drosophila* (King, 1970), η εγκόλπωση πραγματοποιείται από τα θυλακοκύτταρα, όπως έχει παρατηρηθεί και σε μελέτες με ηλεκτρονική μικροσκοπία (Nezis *et al*, 2006).

1.12. Ο ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ p53

Η πρωτεΐνη p53 πήρε το όνομά της από το μέγεθός της (53 kD) και ανακαλύφθηκε αρχικά ως κυτταρική πυρηνική πρωτεΐνη που αλληλεπιδρά με το αντιγόνο T του ιού SV40 και σταθεροποιείται από αυτό. Αποτελεί έναν μεταγραφικό παράγοντα γνωστό ως Παράγοντας Καταστολής Όγκου (Tumor Suppressor Factor) και αυτό γιατί η μεταλλαγή του γονιδίου της είναι η συνηθέστερη γενετική βλάβη που συναντάται σε όγκους και αποτελεί βασική προϋπόθεση για την ανάπτυξη των περισσότερων από αυτών (Liu και Xu, 2011). Ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου στο οποίο εκφράζεται αλλά και το εξωγενές ερέθισμα στο οποίο απαντά, μπορεί να προκαλέσει διαφορετικές κυτταρικές αποκρίσεις. Συγκεκριμένα, μπορεί να αναστείλει τον κυτταρικό κύκλο μέχρι η βλάβη που έχει προκύψει (βλάβη DNA, συγκέντρωση ελευθέρων ριζών κ.λπ.) να διορθωθεί, ρυθμίζοντας την έκφραση

διαφόρων γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο, όπως η κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση *CDK1* (Luciani et al, 2000) και ο αναστολέας *p21* (Lewin, 2004). Επίσης, σε περίπτωση που η βλάβη είναι ανεπανόρθωτη οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση με τη ρύθμιση γονιδίων σχετιζόμενων με αυτή, όπως τα γονίδια *Bax*, *Puma* και *Noxa* (εικόνα 1.30). Για τους παραπάνω λόγους, ο μεταγραφικός παράγοντας *p53* θεωρείται καθοριστικός ρυθμιστής του καρκίνου και χαρακτηρίζεται ως «φύλακας του γονιδιώματος» (Liu and Xu, 2011).



Εικόνα 1.30 Σχηματική αναπαράσταση των σηματοδοτικών μονοπατιών που συμμετέχει ο μεταγραφικός παράγοντας *p53*. Στην εικόνα φαίνονται τα μονοπάτια σηματοδότησης της απόπτωσης που εξαρτώνται από τον *p53*. Τροποποίηση από Friedman και Lowe, 2003

Οι *Jin et al* το 2000, αναγνώρισαν και ταυτοποίησαν, στη *Drosophila*, ένα ομόλογο γονίδιο της *p53* πρωτεΐνης, η οποία μεταφράζεται σε μία πρωτεΐνη που μοιάζει με την ανθρώπινη πρωτεΐνη στο μοτίβο δέσμευσης του DNA αλλά στερείτο του μοτίβου SAM (Sterile Alpha Motif) στο καρβοξυτελικό της άκρο (Ollmann et al., 2000). Το γονίδιο αναφέρεται ως *Dmp53* (*Drosophila melanogaster p53*). Τα *Dmp53*^{-/-} μεταλλαγμένα έντομα είναι βιώσιμα και γόνιμα, γεγονός που καθιστά τη *Drosophila* ανεκτίμητο πρότυπο βιολογικό σύστημα για τη μελέτη του συγκεκριμένου παράγοντα (Jin et al, 2000). Η προ-αποπτωτική λειτουργία της είναι συντηρημένη στο έντομο *Drosophila melanogaster* και έχει βρεθεί ότι ενεργοποιεί τον μηχανισμό της απόπτωσης ρυθμίζοντας την έκφραση των RHG γονιδίων. Τα προ-αποπτωτικά RHG γονίδια, προάγουν την απόπτωση μέσω της απενεργοποίησης του αναστολέα κασπασών DIAP1, γεγονός που οδηγεί στην ενεργοποίηση της

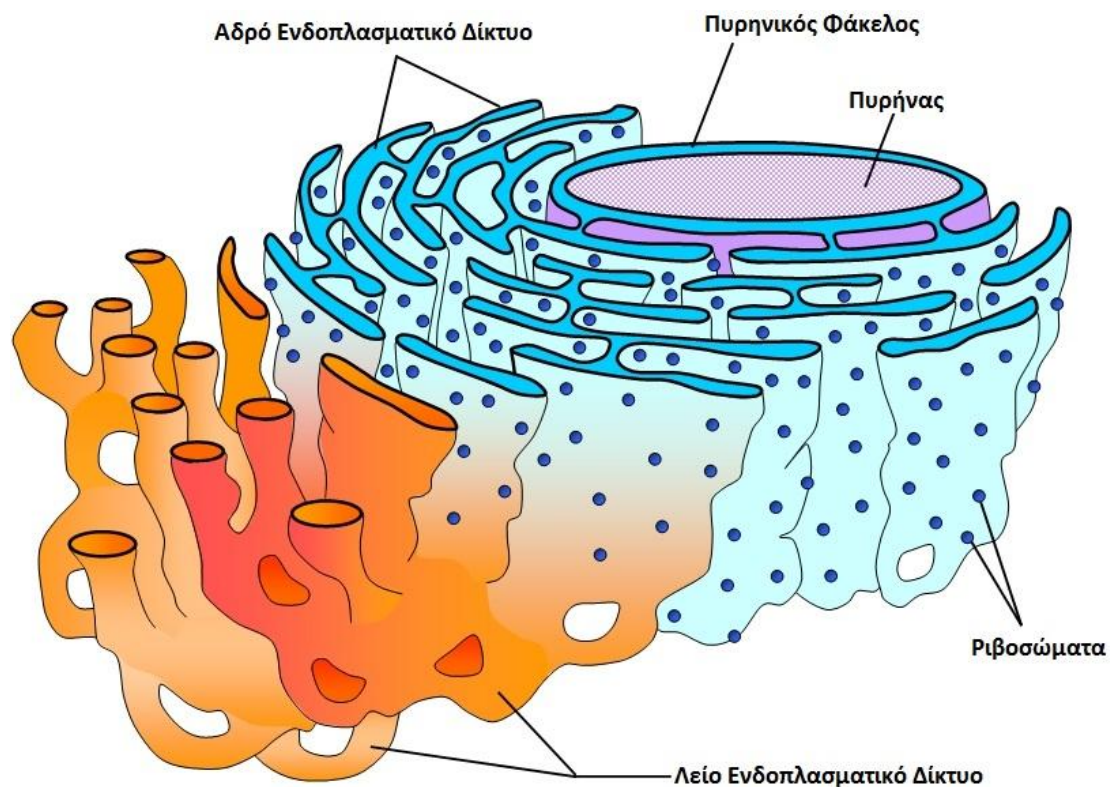
εναρκτήριας κασπάσης Dronc και δύο κασπασών τελεστών, των DrICE και Dcp-1 (Jenkins et al., 2013).

Συγκεκριμένα, μελέτες στη *Drosophila* με χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας, έχουν δείξει ότι η ακτινο-επαγόμενη καταστροφή του DNA ενεργοποιεί την Dmp53, η οποία προάγει τη μεταγραφή του προ-αποπτωτικού γονιδίου *rpr* (Reaper), πυροδοτώντας το μηχανισμό της απόπτωσης. Ωστόσο, στα έντομα, σε αντίθεση με τα θηλαστικά, δε φαίνεται να οδηγεί σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου αλλά ούτε και να ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου *Dacapo*, ορθόλογου του p21 αναστολέα (Brodsky et al. 2004). Μάλιστα η μελέτη των Bodai et al (2011) ανέδειξε και το μονοπάτι ανακύκλωσης (turnover) της Dmp53, γεγονός πολύ σημαντικό διότι η υπερέκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης μπορεί να οδηγήσει σε εκφύλιση των κυττάρων (κάτι που έχει μελετηθεί στο μάτι της *Drosophila* από τους Brodsky et al, 2004). Στο μονοπάτι αυτό βρέθηκε ότι συμμετέχει η E2 λιγάση η οποία είναι η ομόλογη της πρωτεΐνης Rad6 (E2 ubiquitin-conjugating protein) του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae*.

1.13. ΣΤΡΕΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ (ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS – ER STRESS)

Το Ενδοπλασματικό Δίκτυο (ΕΔ) είναι ένα εκτεταμένο μεμβρανικό δίκτυο αποτελούμενο από σωληνάρια, κυστίδια και ασκίδια, το οποίο εκτείνεται σχεδόν σε όλο το κύτταρο (Μαρμαράς και Λαμπροπούλου-Μαρμαρά, 2005; Alberts et al, 2006). Οι διάφοροι αυλοί του ΕΔ επικοινωνούν μεταξύ τους καθώς και με τον πυρηνικό χώρο (Μαρμαράς και Λαμπροπούλου-Μαρμαρά, 2005). Η εξωτερική μεμβράνη του πυρήνα αποτελεί συνέχεια της μεμβράνης του ΕΔ (Alberts et al, 2006) (εικόνα 1.31).

Το ΕΔ αποτελεί ένα πολύ σημαντικό κυτταρικό οργάνο στο οποίο εκτελούνται απαραίτητες διεργασίες του κυττάρου, περιλαμβανομένων της σύνθεσης, διαλογής, αναδίπλωσης και μετα-μεταφραστικής τροποποίησης καθώς και της μεταφοράς πρωτεϊνών, λιπιδίων και στεροειδών ορμονών στα οργάνο-στόχους ή στο κυτταρόπλασμα. Στις δύο τελευταίες διαδικασίες συμμετέχει και το σύμπλεγμα Golgi το οποίο συνορεύει με το ΕΔ. Διακρίνεται στο αδρό και στο λείο ΕΔ, ανάλογα με την παρουσία ή όχι ριβοσωμάτων στην επιφάνειά του (Μαρμαράς και Λαμπροπούλου-Μαρμαρά, 2005). Αυτή του η διαφορά στη μορφολογία συνδέεται και με τις διαφορετικές λειτουργίες που εκτελούνται σε κάθε περιοχή (εικόνα 1.31).



Εικόνα 1.31 Σχηματική αναπαράσταση του Ενδοπλασματικού Δικτύου. Απεικονίζεται το Λείο Ενδοπλασματικό Δίκτυο, το Αδρό Ενδοπλασματικό Δίκτυο με τα ριβοσώματα προσκολλημένα στην επιφάνεια αυτού και ο πυρήνας με τον πυρηνικό φάκελο, που αποτελούν συνέχεια του Ενδοπλασματικού Δικτύου. Τροποποίηση από <https://socratic.org/questions/why-is-the-smooth-endoplasmic-reticulum-smooth>

Συγκεκριμένα, στο αδρό ΕΔ πραγματοποιείται η σύνθεση, τροποποίηση και μεταφορά των εκκριτικών πρωτεϊνών, των διαλυτών πρωτεϊνών του ΕΔ, των λιπιδίων των μεμβρανών (εκτός των φωσφολιπιδίων) και των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών πλην αυτών που προορίζονται για τη μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Όσον αφορά στην αναδίπλωση και στην τροποποίηση των πρωτεϊνών, στο αδρό ΕΔ πραγματοποιούνται, μεταξύ άλλων, διεργασίες όπως η καρβοξυλίωση, η προσθήκη δισουλφιδικών δεσμών και η γλυκοζυλίωση, η οποία συνεχίζεται στο σύμπλεγμα Golgi. Λόγω του ρόλου του στην αναδίπλωση και μεταφορά των πρωτεϊνών, το ΕΔ είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες, μοριακές συνοδούς, όπως η GRP78/BIP, η οποία ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών θερμικού σοκ HSP70 (Heat Shock Protein 70) (Lewin, 2004).

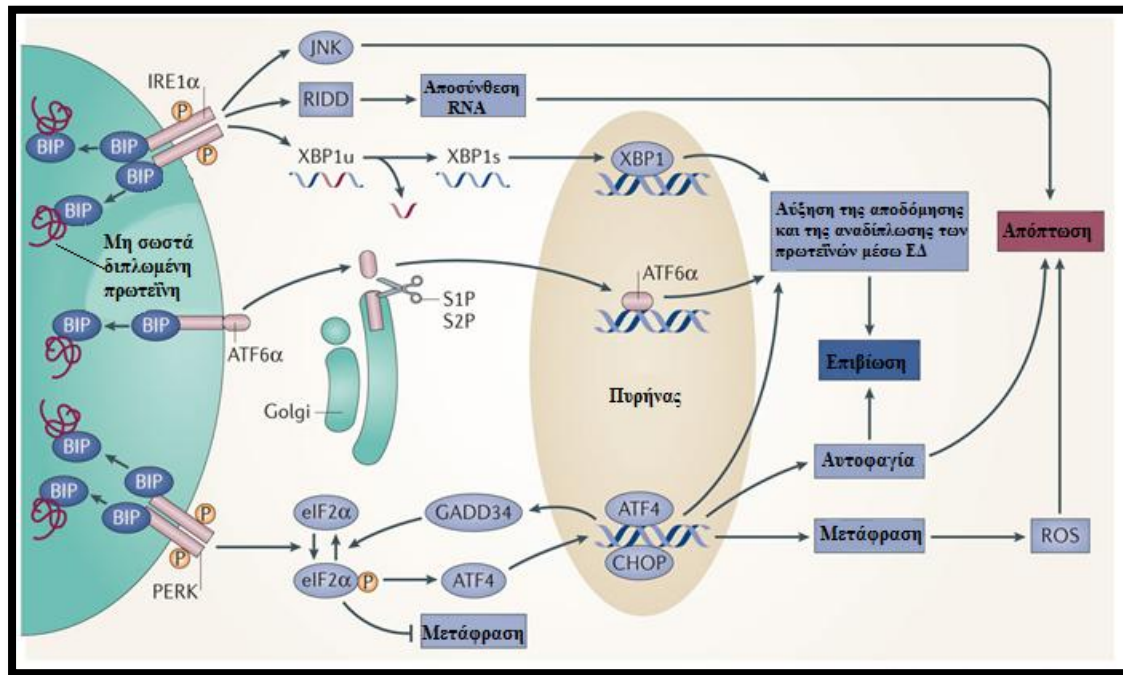
Στο λείο ΕΔ, αντίστοιχα, πραγματοποιείται η σύνθεση των φωσφολιπιδίων και των στεροειδών ορμονών, η αποτοξίνωση του κυττάρου από υδρόφοβα μόρια που δεν

εκκρίνονται, η απελευθέρωση της γλυκόζης από το ήπαρ στην κυκλοφορία του αίματος, μέσω του ενζύμου της φωσφατάσης του 6-φωσφορικού εστέρα της γλυκόζης και η ρυθμιζόμενη απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου στον ενδοκυττάριο χώρο, διαδικασία η οποία διεγείρει ειδικές κυτταρικές αποκρίσεις (*Μαρμαράς και Λαμπροπούλου-Μαρμαρά, 2005*).

Διαταραχή των φυσιολογικών λειτουργιών του ΕΔ οδηγεί στην παρεμπόδιση της ορθής αναδίπλωσης των πρωτεϊνών και της έκκρισης τους γεγονός που τελικά οδηγούν στη συσσώρευση μη – ορθά αναδιπλούμενων πρωτεϊνών μέσα στον αυλό του ΕΔ. Η διαταραχή της ομοιόστασης και της φυσιολογικής λειτουργίας του συγκεκριμένου οργανιδίου είναι γνωστή ως «στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου – Endoplasmic Reticulum Stress, ER Stress». Η συσσώρευση αυτή πυροδοτεί ένα μονοπάτι απόκρισης το οποίο επάγει τη μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν, μεταξύ άλλων, πρωτεΐνες – μοριακές συνοδούς με στόχο τη σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και επαναφορά της ομοιόστασης του ΕΔ. Το μονοπάτι το οποίο ενεργοποιείται αποκαλείται «μονοπάτι απόκρισης των μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών – Unfolded Protein Response, UPR» (*Lewin, 2004*).

Η UPR είναι πρωταρχικώς μία απόκριση επιβίωσης με σκοπό την επαναφορά της φυσιολογικής ομοιόστασης του ΕΔ (*Shen at al., 2004*) και αποτελεί ένα πολύπλευρο μηχανισμό σηματοδότησης ενδοκυττάρια. Αποτελείται από τρία κύρια μονοπάτια απόκρισης: 1) αναστολή της μετάφρασης στο κύτταρο, προκειμένου να περιορισθεί το φορτίο πρωτεϊνοσύνθεσης στο ΕΔ, 2) μεταγραφική ενεργοποίηση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες συνοδούς του ΕΔ και 3) αύξηση του ρυθμού απομάκρυνσης των συσσωρευμένων μη ορθώς αναδιπλούμενων πρωτεϊνών μέσω του πρωτεασώματος και του μηχανισμού ERAD (Endoplasmic Reticulum Associated Degradation). Σε μοριακό επίπεδο, η UPR χαρακτηρίζεται από την ενεργοποίηση τριών διαμεμβρανικών υποδοχέων του ΕΔ: την κινάση PERK (Pancreatic ER Kinase (PKR)-Like ER Kinase), τη ριβονουκλεάση/κινάση IRE1 (Inositol-Requiring Enzyme 1) και το μεταγραφικό παράγοντα ATF6 (Activated Transcription Factor 6) (**εικόνα 1.32**). Οι πρωτεΐνες αυτές βρίσκονται στη μεμβράνη του ΕΔ και κατά τη φυσιολογική λειτουργία του οργανιδίου είναι προσδεσμένη σε αυτές η GRP78/BIP. Η πρόσδεση αυτή ρυθμίζει κατασταλτικά τους συγκεκριμένους υποδοχείς (*Zhang and Kaufman, 2006*). Σε περίπτωση διαταραχής της λειτουργίας του ΕΔ, τα μονομερή της BIP απελευθερώνονται και προσδένονται σε μη ορθά αναδιπλωμένες πρωτεΐνες μέσα

στον αυλό με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των τριών διαμεμβρανικών υποδοχέων και την έναρξη της UPR (Zhang and Kaufman, 2006).



Εικόνα 1.32 Σχηματική απεικόνιση των μονοπατιών που συμμετέχουν στο μηχανισμό απόκρισης της UPR. Όταν η αναδίπλωση των πρωτεϊνών δεν πραγματοποιείται σωστά, υπάρχει συσσώρευση αυτών εντός του αυλού του ΕΔ και διαταράσσεται η ομοιόσταση αυτού. Η διαταραχή αυτή οδηγεί το ΕΔ σε συνθήκες στρες και στην έναρξη της απόκρισης της UPR μέσω της αποδέσμευσης της μοριακής συνοδού GRP78/BIP από τις πρωτεΐνες ATF6, IRE1 και PERK της μεμβράνης του ΕΔ. Στην εικόνα φαίνονται αναλυτικά τα στάδια του κάθε μονοπατιού. Τροποποίηση από Wang και Kauffman, 2014.

Η PERK είναι μία κινάση σερίνης/θρεονίνης, η οποία μετά την ενεργοποίηση της ολιγομερίζεται και φωσφορυλιώνει τον eIF2 αναστέλλοντας έτσι τη μετάφραση και κατά συνέπεια τη συσσώρευση και άλλων πρωτεϊνών στο ΕΔ. (Kupsco and Schlenk, 2015). Η πρωτεΐνη ATF6 απελευθερώνεται από το ΕΔ στο Golgi όπου πρωτεολύεται μετα-μεταφραστικά από τις πρωτεάσες S1P και S2P και ενεργοποιείται ως μεταγραφικός παράγοντας που μπορεί και ελέγχει την έκφραση γονιδίων, μεταξύ των οποίων, γονίδια που συμμετέχουν στην καταστροφή πρωτεϊνών μέσω της διαδικασίας ERAD, μοριακές συνοδούς του ΕΔ και τον μεταγραφικό παράγοντα Xbp-1 (Kupsco and Schlenk, 2015). Η ενεργοποίηση του μονοπατιού της ATF6 παρατηρείται στην φάση προσαρμογής της UPR, στην οποία συμμετέχει και η κινάση PERK με τη φωσφορυλίωση του eIF2 ο οποίος, ανάμεσα σε πολλές πρωτεΐνες-

στόχους, ενεργοποιεί και τον μεταγραφικό παράγοντα ATF4, ο οποίος ελέγχει γονίδια για τη φάση προσαρμογής επίσης.

Το πιο καλά μελετημένο μονοπάτι της UPR είναι αυτό που ξεκινά με την ενεργοποίηση της IRE1. Η IRE1 πρωτοανακαλύφθηκε στον ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* και φαίνεται το μονοπάτι της να είναι συντηρημένο ανάμεσα στα διάφορα είδη οργανισμών, μεταξύ αυτών και στη *Drosophila melanogaster* (Don Ryo et al, 2000). Η πρωτεΐνη IRE1 διαθέτει τόσο ενεργότητα κινάσης σερίνης/θρεονίνης όσο και ενεργότητα ριβονουκλεάσης. Ενεργοποίηση της UPR προκαλεί διμερισμό και trans – αυτοφωσφορύλιωση της, η οποία τελικά οδηγεί σε ενεργοποίηση της κυτταροπλασματικής ενεργότητας ριβονουκλεάσης που διαθέτει. Δρα μέσω τροποποίησης του mRNA του μεταγραφικού παράγοντα Xbp-1 (X-box Binding Protein 1) γεγονός που επιτρέπει κατωροϊκά τη μετάφραση και την παραγωγή του. Συγκεκριμένα αφαιρεί 26 νουκλεοτίδια από το mRNA του Xbp-1, ο οποίος αφού μεταφραστεί, μεταβαίνει στον πυρήνα και ενεργοποιεί τη μεταγραφή γονιδίων της UPR (Kupsco and Schlenk, 2015).

Και τα τρία μονοπάτια ενεργοποίησης της UPR έχουν στόχο την αύξηση του ρυθμού αποδόμησης και αναδίπλωσης των μη ορθώς-αναδιπλούμενων πρωτεϊνών και την επαναφορά της ομοιόστασης του ΕΔ. Σε περίπτωση που η ομοιόσταση δεν επανέλθει, το κύτταρο οδηγείται σε απόπτωση (Xu et al, 2005).

Θα πρέπει να σημειωθεί, ότι το στρες του ΕΔ έχει συνδεθεί με πολλές μορφές καρκίνου (Wang and Kauffman, 2014), με το διαβήτη (Ozcan et al, 2004) καθώς επίσης και με τη νόσο του Crohn (Kaser et al, 2008). Τέλος, έχει βρεθεί ότι ο μεταγραφικός παράγοντας Xbp-1 συνδέεται με μείωση της νευροτοξικότητας από αμυλοειδείς πλάκες στη νόσο του Alzheimer (Casans-Tinto et al, 2011).

1.14 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η πολυεπίπεδη μελέτη των επιπτώσεων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (HMA) της ασύρματης τεχνολογίας, με εστίαση σε αυτές που σχετίζονται με την ωογένεση, την αναπαραγωγική ικανότητα, τη βιωσιμότητα και την επαγωγή στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου στο πρότυπο βιολογικό σύστημα *Drosophila melanogaster*. Ως πηγές μη ιονίζουσας ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκαν τρεις συσκευές ασύρματης τεχνολογίας, καθημερινής χρήσης:

- το ασύρματο δίκτυο WiFi με ή χωρίς ροή δεδομένων, για τη μελέτη των επιπτώσεων της ΗΜΑ στην ωογένεση και στην αναπαραγωγική ικανότητα
- το ασύρματο τηλέφωνο τύπου DECT και συγκεκριμένα η βάση αυτού, για τη μελέτη των επιπτώσεων της ΗΜΑ στη βιωσιμότητα
- το κινητό τηλέφωνο GSM 1800MHz, για τη μελέτη επαγωγής του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου από την ΗΜΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΥΛΙΚΑ

2.1.1. Χημικά αντιδραστήρια

Τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρούσα διπλωματική ήταν τα εξής:

Πίνακας 2.1: Χημικά αντιδραστήρια

Χημικό / Αντιδραστήριο	Εταιρεία
Acridine orange base	Sigma
Agar	Fluka
Calcium chloride (CaCl ₂)	Appllichem
Diethyl ether	Scharlau
Dithiothreitol (DTT)	Appllichem
Ethanol	Sigma
Potassium Chloride	Sigma
Propionic Acid	Merck
Schneider's Insect medium	Sigma
Sodium Bicarbonate (NaHCO ₃)	Merck
Sodium chloride (NaCl)	Appllichem

2.1.2. Όργανα και συσκευές

Τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για την παρούσα διπλωματική ήταν οι εξής:

Πίνακας 2.2: Όργανα και συσκευές

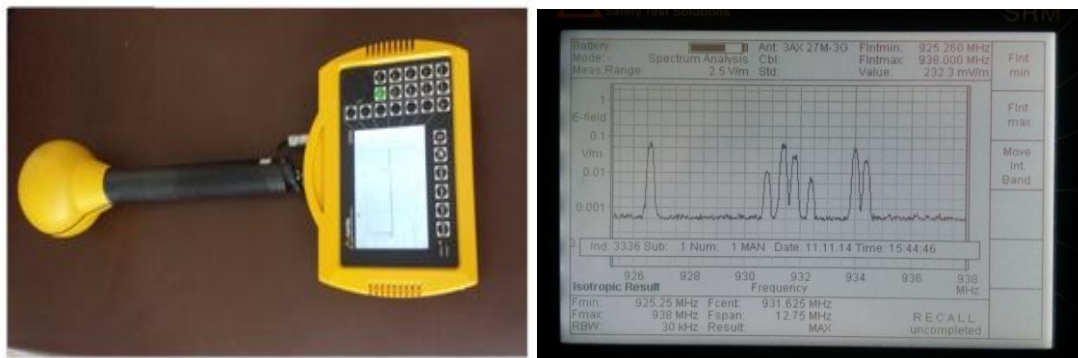
Όργανα / Συσκευές	Εταιρεία
Επιτραπέζια φυγόκεντρος	Eppendorf, 5410
Ζυγός ακριβείας	AND Electronic Balance
Ηλεκτρονικός ζυγός	KERN PRS 320-3
Κλίβανος επώασης	MIR products
Κλίβανος καλλιέργειας εντόμων σταθερών συνθηκών	Elvem
Μικροσκόπιο Φθορισμού – Συνεστιακό Μικροσκόπιο Laser – Φωτονικό Μικροσκόπιο	Nikon TE 2005

Στερεομικροσκόπιο	Zeiss stereo IV
Φασματικός αναλυτής	NARDA SRM3000
Φασματικός αναλυτής	ROHDE & SWARTZ FSL/6
Ελεγκτής εκπομπής	COM

Για τον καθορισμό της δοσιμετρίας χρησιμοποιήθηκαν οι εξής αναλυτές:

2.1.2.1 Φασματικός Αναλυτής Πεδίου NARDA SRM3000

Ο φασματικός αναλυτής ραδιοσυχνοτήτων και μικροκυμάτων **NARDA SRM 3000** αποτελείται από μία πολυκατευθυντική ευρυζωνική κεφαλή, η οποία επιτρέπει τη λήψη ισοτροπικών μετρήσεων, υψηλής ακρίβειας με δυνατότητα καταγραφής τόσο της μέσης έντασης ηλεκτρικού πεδίου όσο και της μέγιστης τιμής καθώς και τη δυνατότητα αποτύπωσης σε εικόνα του φάσματος των συχνοτήτων που έχουμε επιλέξει και της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου. Έχει τη δυνατότητα συχνοεπιλεκτικών μετρήσεων στην περιοχή συχνοτήτων 100kHz – 3GHz, με ευαισθησία μέτρησης 0,002-0,013 V/m ανάλογα με τη συχνότητα. Οι τιμές της έντασης καταχωρούνται σε πίνακα ενώ η μέση τιμή προκύπτει από την ολοκλήρωση των εντάσεων όλων των συχνοτήτων. (εικόνα 2.1A-B).



Εικόνα 2.1.A. Φωτογραφία του αναλυτή NARDA SRM3000

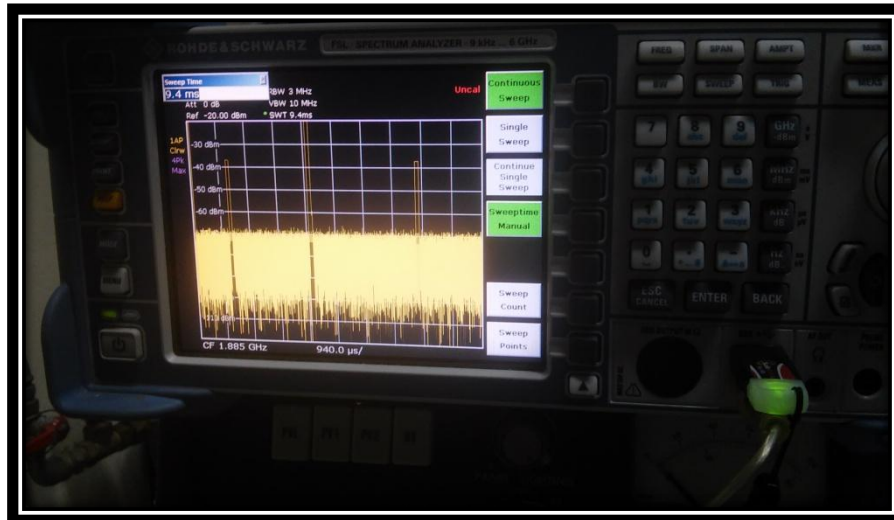
Πηγή: http://aktinovolias.net/lab_Narda_new_SpectrumAktinovolias.html

B. Φάσμα συχνοτήτων ραδιοφωνίας από 42 μέχρι 2260 MHz. Καταγραφή Α.Χ.Μαργαρίτης

2.1.2.2 Φασματικός Αναλυτής Rohde και Schwarz FSL/6

Ο φασματικός αναλυτής Rohde και Schwarz FSL/6 χρησιμοποιείται για την καταγραφή των κυματομορφών και την ανάλυση του φάσματος εκπομπής. Μπορεί και ανιχνεύει συχνότητες από 9 KHz έως 8 GHz, οπότε καλύπτει μήκη κύματος από

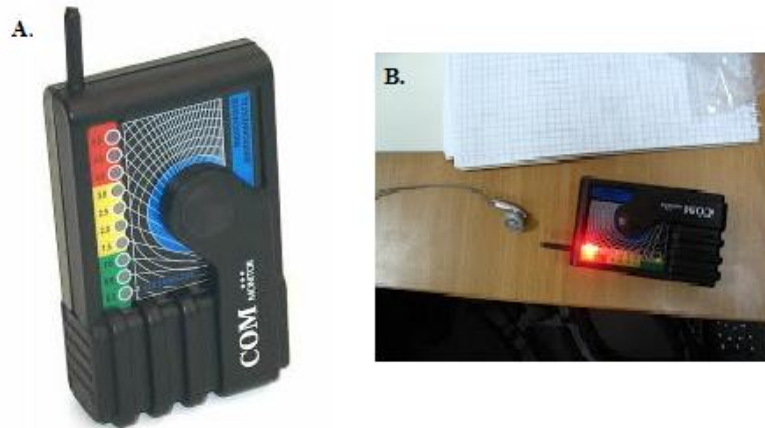
3,5 cm μέχρι περίπου 5 mm. Ο συγκεκριμένος αναλυτής προσφέρει τη δυνατότητα χρήσης ανιχνευτών της έντασης κοντινού – εγγύς πεδίου καθώς και πολύ μικρό χρονικό διάστημα σάρωσης, το οποίο επιτρέπει την καλύτερη απεικόνιση των παλμών που εκπέμπονται από τις συσκευές ασύρματης τεχνολογίας (εικόνα 2.2)



Εικόνα 2.2. Φωτογραφία του φασματικού αναλυτή Rohde and Schwarz FSL/6. Στην οθόνη του αναλυτή φαίνονται οι παλμοί του ασύρματου τηλεφώνου DECT.

2.1.2.3 COM Environmental Microwave Monitor

Ο ελεγκτής εκπομπής COM Environmental Microwave Monitor χρησιμοποιείται για την μέτρηση παλμικής και συνεχούς ακτινοβολίας μεταξύ 250 – 2500 MHz και παρέχει τη δυνατότητα μέτρησης των επιπέδων από σταθμούς κινητής τηλεφωνίας, ασύρματων τηλεφώνων, φούρνων μικροκυμάτων και γενικά συσκευών που εκπέμπουν στις συχνότητες μικροκυμάτων όπως το router του WiFi ή το Bluetooth (εικόνα 2.3A-B).



Εικόνα 2.3.A. Φωτογραφία του ελεγκτή COM Πηγή: <http://uk.rs-online.com/web/p/microwave-emission-detectors/4094986/> B. Φωτογραφία του ελεγκτή σε λειτουργία δίπλα από ακουστικό Bluetooth. Πηγή: <http://www.norad4u.com/monitor/home-emr-meters>

2.1.2.4 Ακουστικός Ευρυζωνικός Ανιχνευτής Electrosmog Detector

Ο συγκεκριμένος ανιχνευτής επιτρέπει την ανίχνευση ακτινοβολίας μέσω ηχητικού σήματος. Ανιχνεύει δηλαδή τους ηλεκτρομαγνητικούς παλμούς και τους μετατρέπει σε συλλογή ήχων. Για αυτό το λόγο δεν μπορεί να ανιχνεύσει τις εκπομπές εξαιρετικά χαμηλών συχνοτήτων από τις γραμμές μεταφοράς ρεύματος και τις οικιακές ηλεκτρικές συσκευές (εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4. Φωτογραφία του ανιχνευτή Electrosmog Detector. Πηγή: <http://www.detect-protect.com/k/marketing/>

2.1.3. Βιολογικό υλικό - Πειραματόζωα

2.1.3.1 Καλλιέργεια εντόμων

Η καλλιέργεια των εντόμων πραγματοποιήθηκε σε αποστειρωμένους πλαστικούς σωλήνες ύψους 8 cm και διαμέτρου 3 cm σε δωμάτιο καλλιέργειας με τις εξής σταθερές συνθήκες :

- θερμοκρασία 24-25 °C
- υγρασία 60 – 70%
- φωτοπερίοδος: 12 ώρες φώς / 12 ώρες σκοτάδι.

Για την καλλιέργεια μεγαλύτερου πληθυσμού χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα δοχεία που αποστειρώνονταν κάθε φορά πριν από τη χρήση. Η ξηρή αποστείρωση πραγματοποιούνταν σε ειδικό κλίβανο, στους 160 °C για 2 ώρες.

Τα πρωτόκολλα ακτινοβόλησης λάμβαναν χώρα σε ειδικούς κλιβάνους καλλιέργειας σταθερών συνθηκών με τις ίδιες συνθήκες με του δωματίου καλλιέργειας, , προκειμένου να μην επηρεαστεί η ωογένεση και ο κύκλος ζωής του εντόμου.

2.1.3.2 Τύποι θρεπτικών μέσων

Για την καλλιέργεια των εντόμων χρησιμοποιήθηκαν δύο τύποι τροφής, η πλήρης θερμιδικά τροφή και η χαμηλή θερμιδικά τροφή, στην οποία αφαιρέθηκε η ντομάτα και το άνθος ορύζης που αποτελούν τις δύο κύριες πηγές αντιοξειδωτικών συστατικών. Η κάθε τροφή περιείχε τα εξής υλικά και συντηρητικά:

1. Πλήρης θερμιδικά τροφή

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΑ
4gr άγαρ	2mL αιθανόλη 95% v/v
3,9gr ξηρή μαγιά	2mL προπιονικό οξύ
16gr ζάχαρη λευκή κρυσταλλική	
25gr τοματοπολτός	
32gr άνθος ορύζης	
700ml H ₂ O	

2. Χαμηλή θερμιδικά τροφή

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΑ
4g άγαρ	2mL αιθανόλη 95% v/v
3,9g ξηρή μαγιά	2mL προπιονικό οξύ
16g ζάχαρη λευκή κρυσταλλική	
700ml H ₂ O	

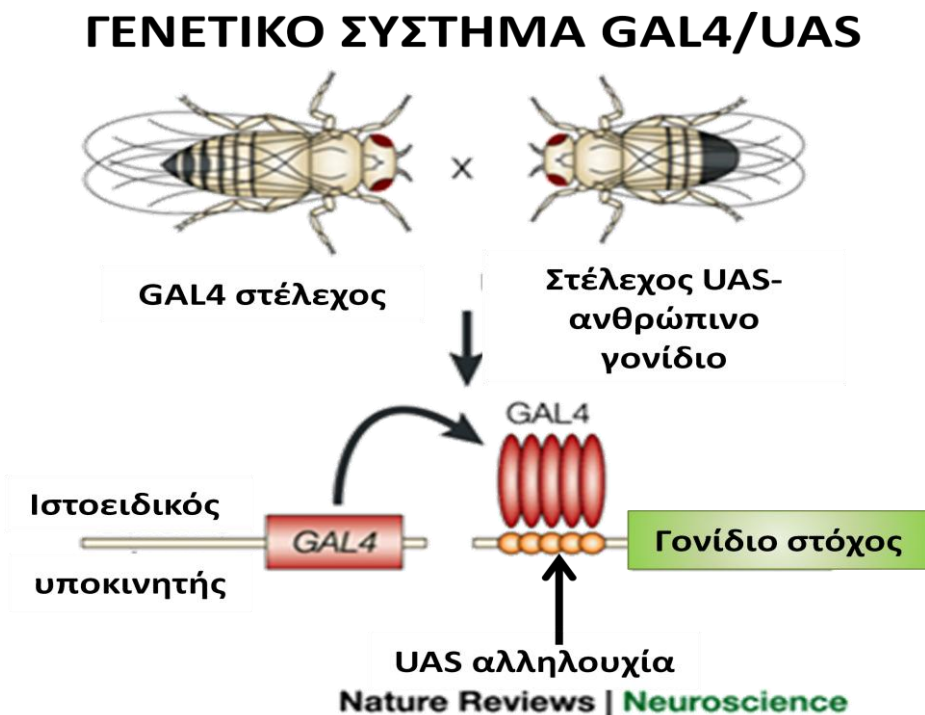
Κάθε υλικό στην τροφή παρέιχε και από ένα διαφορετικό στοιχείο που βοηθούσε στη συνολική επιβίωση των εντομών. Συγκεκριμένα:

- Το **άγαρ** είναι σταθεροποιητικός παράγοντας.
- Η **ξηρή μαγιά** αποτελεί την κύρια πηγή πρωτεϊνών και επάγει την ωογένεση, καθώς η παρουσία της στην τροφή κάνει τα θηλυκά να παράγουν περισσότερα αυγά.
- Η **ζάχαρη** αποτελεί πηγή ενέργειας (παρέχει την απαραίτητη γλυκόζη για τις ενζυμικές αντιδράσεις του μεταβολισμού).
- Ο **τοματοπολτός** αποτελεί τη βασική τροφή της *Drosophila melanogaster* καθώς είναι γνωστή ως fruit-fly (τρέφεται με φρούτα) και η τομάτα αποτελεί φρούτο. Επίσης, παρέχει στο έντομο αντιοξειδωτικά (λυκοπένιο, βιταμίνη C) και ιχνοστοιχεία που έχει βρεθεί ότι αντιμετωπίζουν τις ελεύθερες ρίζες στον οργανισμό (που, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι και μία από τις αρνητικές συνέπειες της ακτινοβολίας).
- Ο **άνθος ορύζης** προσφέρει στο έντομο, μεταξύ άλλων, απαραίτητα ιχνοστοιχεία και ένα σύμπλεγμα βιταμινών.

Η αφαίρεση των δύο πολύτιμων συστατικών πραγματοποιήθηκε προκειμένου να διευκρινιστεί, αν η απουσία αντιοξειδωτικών, βιταμινών και ιχνοστοιχείων δρα συνεργιστικά, ανταγωνιστικά ή καθόλου στη βιοδραστικότητα της ακτινοβολίας στη συνολική επιβίωση της *Drosophila*.

2.1.3.3 Γενετικό σύστημα GAL4/UAS

Το σύστημα GAL4/UAS είναι μία γενετική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της γονιδιακής έκφρασης και λειτουργίας σε πρότυπους οργανισμούς μεταξύ των οποίων βρίσκεται και η *D. melanogaster*. Η τεχνική βασίζεται στην ικανότητα πρόσδεσης στο DNA της πρωτεΐνης GAL4 η οποία έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ως ενεργοποιητής της μεταγραφής στο συγκεκριμένο πειραματόζωο. Αναλυτικότερα, η πρόσδεση γίνεται στην αλληλουχία CGG-N11-CCG, όπου “N” είναι οποιαδήποτε βάση και η οποία ονομάζεται UAS (Upstream Activation Sequence) (Fischer *et al.*, 1988). Στην παρούσα διπλωματική χρησιμοποιήθηκαν παρθένα θηλυκά που έφεραν το γονίδιο GAL4 υπό διάφορους υποκινητές, τα οποία διασταυρώθηκαν με αρσενικά έντομα που έφεραν την αλληλουχία UAS στον υποκινητή του γονιδίου-στόχου. Με αυτόν τον τρόπο μπόρεσε να επιτευχθεί ιστοειδική ή καθολική έκφραση του γονιδίου – στόχου, ανάλογα με τον κάθε driver που χρησιμοποιήθηκε (εικόνα 2.5).



*Εικόνα 2.5. Σχηματική απεικόνιση της διασταύρωσης ενός παρθένου θηλυκού εντόμου στελέχους που φέρει το γονίδιο GAL4, υπό τον έλεγχο ενός ιστοειδικού υποκινητή, με ένα αρσενικό έντομο στελέχους που φέρει το γονίδιο-στόχο υπό τον έλεγχο υποκινητή με την αλληλουχία UAS. Τροποποίηση από Miratul *et al.*, 2002.*

2.1.3.4 Στελέχη *Drosophila melanogaster*

Στη συγκεκριμένη Διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο βιολογικό σύστημα η *Drosophila melanogaster* και συγκεκριμένα τα παρακάτω στελέχη:

Πίνακας 2.1. Στελέχη της Drosophila melanogaster.

Συμβολισμός στελέχους	Γονότυπος	Χρωμόσωμα
Wild Type. Oregon R *	+/+	-
UAS-CAT ***	w ¹ P {UAS-Cat.A}2	2
#6874 **	w*; P{UAS-2xEGFP}AH2	2
UAS-Xbp1 **	w[*]; P{w[+mC]=UAS-Xbp1.EGFP}2	2
#4414 **	y ¹ w*; P{Act5C-GAL4}25FO1/Cyo, y ⁺	2
#8760 **	w* P{GAL4-elav.L}3	3
arm-GAL4 **	armadillo-GAL4/ GAL4-armadillo;Sb/Tm6B	2
Dmp53 ^{-/-} **	y ¹ w[1118]; p53[5A-1-4]	-

Το κάθε στέλεχος είχε συγκεκριμένα μορφολογικά και γονοτυπικά χαρακτηριστικά που το διαφοροποιούσαν μεταξύ των υπολοίπων. Τα χαρακτηριστικά για το κάθε ένα, ήταν τα εξής:

- I. Στέλεχος wild type (WT) Oregon R:** Είναι το στέλεχος φυσικού τύπου της *Drosophila melanogaster*. Έχει κόκκινα μάτια και κοιλιά με εναλλαγές άσπρου και μαύρου χρώματος (**εικόνα 2.6A**).
- II. UAS-CAT:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει το γονίδιο του ενζύμου καταλάση υπό τον υποκινητή UAS. Χαρακτηριστικό του στελέχους είναι η παρουσία μίας τριγωνικής σκούρας περιοχής στη ράχη του θώρακα (**εικόνα 2.6B**).
- III. #6874:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει το γονίδιο της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης EGFP υπό τον έλεγχο του υποκινητή UAS.

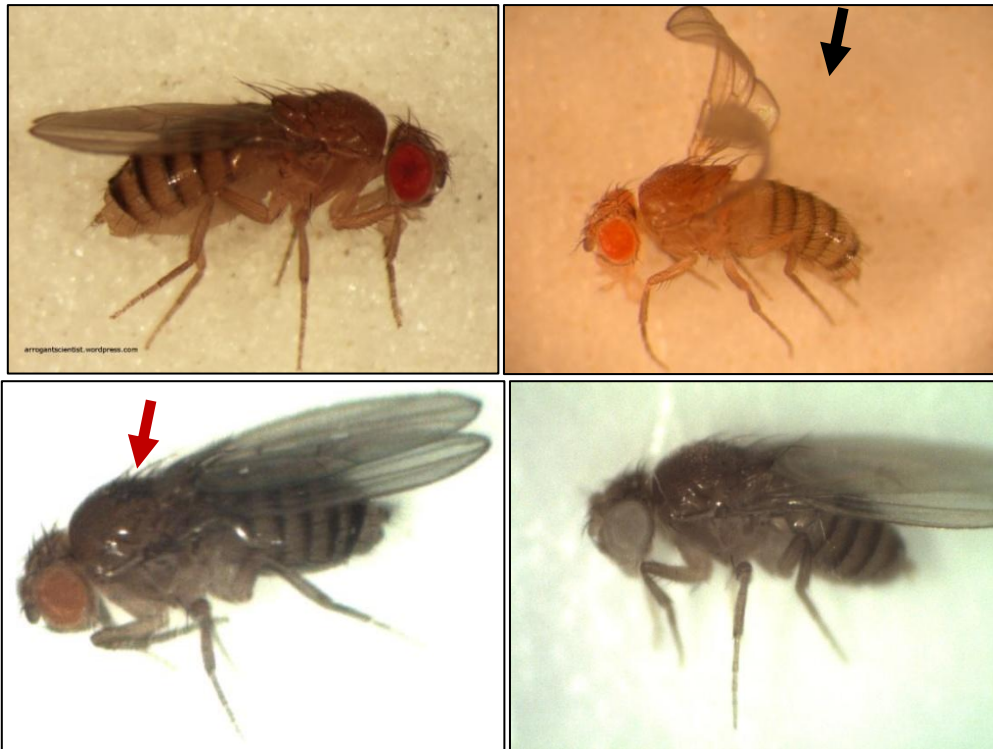
Χρησιμοποιείται στις διασταυρώσεις ελέγχου για την επιβεβαίωση της έκφρασης του εκάστοτε driver.

- IV. UAS-Xbp1:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει το γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 υπό τον υποκινητή UAS. Δε φέρει κάποιο εξωτερικό μορφολογικό χαρακτηριστικό διάκρισης από το WT στέλεχος.
- V. #4414:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει υπό τον έλεγχο του υποκινητή της ακτίνης το γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα GAL4. Η ακτίνη ανήκει στα γονίδια αναφοράς (housekeeping genes) και εκφράζεται σε όλους τους ιστούς του εντόμου καθόλη τη φάση της ζωής του. Χαρακτηριστικό επίσης του συγκεκριμένου στελέχους είναι η παρουσία φτερών με κλίση προς τα πάνω, αναφερόμενα και ως «curly» (**εικόνα 2.6Γ**), λόγω της παρουσίας του γονιδίου Cyg στο γονιδίωμα του.
- VI. #8760:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει το γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα GAL4, υπό τον έλεγχο ιστοειδικού για το νευρικό ιστό υποκινητή. Χαρακτηριστικό του στελέχους είναι ότι τα μάτια των νεοεκδυθέντων εντόμων είναι ανοιχτά πορτοκαλί και κοκκινίζουν με το πέρασ της ηλικίας.
- VII. arm-GAL4:** Διαγονιδιακό στέλεχος που φέρει το γονίδιο GAL4 υπό τον έλεγχο του υποκινητή της πρωτεΐνης armadillo. Η armadillo ανήκει επίσης στα γονίδια αναφοράς και εκφράζεται σε όλους τους ιστούς. Το συγκεκριμένο στέλεχος φέρει στο γονιδίωμα του το balancer χρωμόσωμα Tm6B που αποτρέπει τον ομόλογο ανασυνδυασμό και φέρει τη μεταλλαγή Tubby (Tb) η οποία φαινοτυπικά οδηγεί σε μικρότερου μεγέθους έντομα.
- VIII. Dmp53^{-/-}:** Μεταλλαγμένο στέλεχος όπου απουσιάζει ο μεταγραφικός παράγοντας p53. Χαρακτηριστικό του στελέχους είναι η έλλειψη χρώματος στα μάτια (λευκά) και το πιο ανοιχτό χρώμα σώματος σε σχέση με την φυσικού τύπου *Drosophila melanogaster* (**εικόνα 2.6Δ**).

* Το στέλεχος WT ελήφθη από τη μόνιμη καλλιέργεια του Τομέα Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

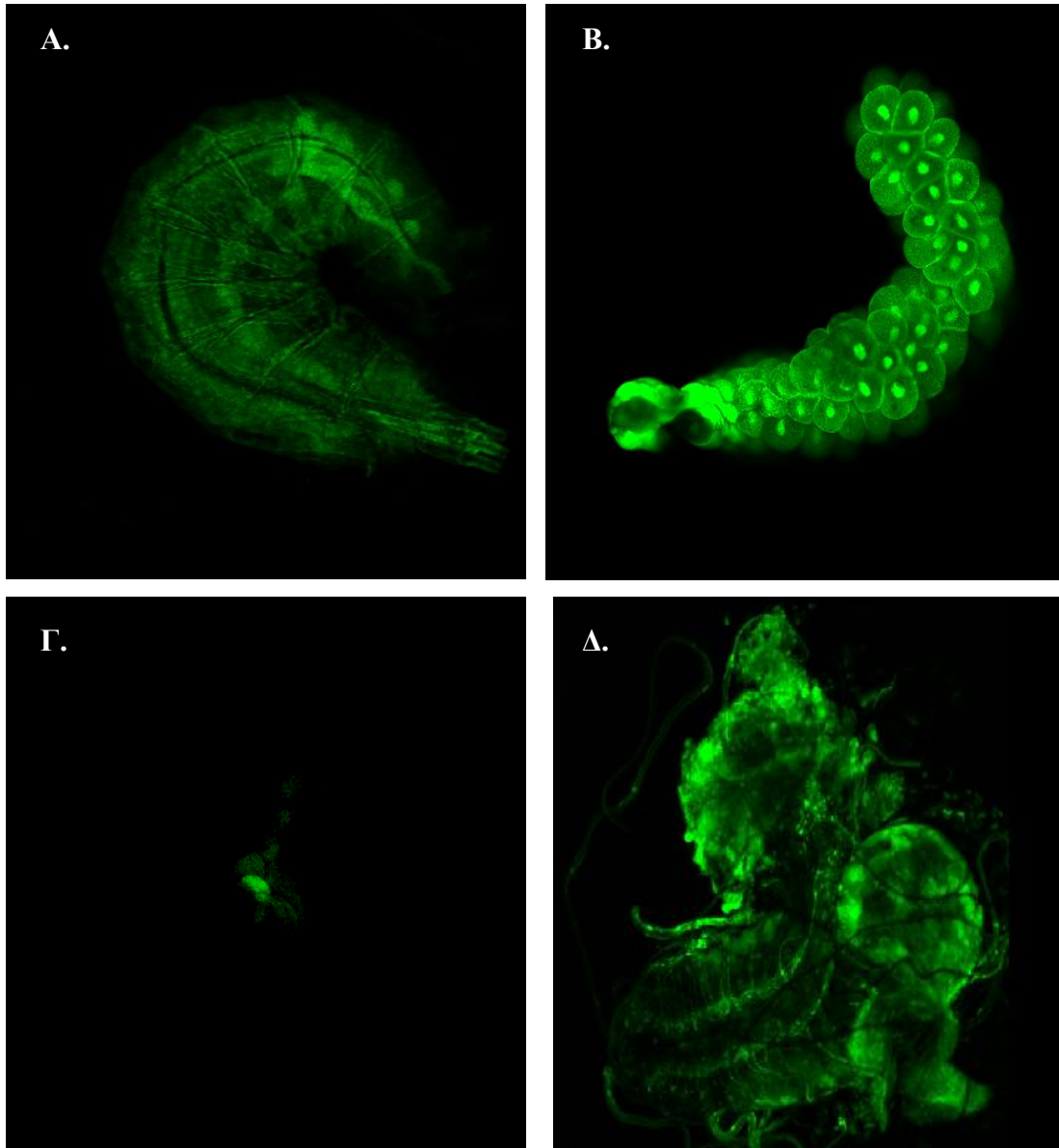
** Τα στελέχη III-VIII ελήφθησαν από την μόνιμη καλλιέργεια στο Εργαστήριο του Τομέα Βιολογίας Κυττάρου & Βιοφυσικής του Πανεπιστημίου Αθηνών από τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Στραβοπόδη.

*** Το στέλεχος UAS-CAT ήταν δωρεά από τη μόνιμη καλλιέργεια στο Εργαστήριο Νευροεπιστημών του Ιδρύματος Ερευνών Αλεξάντερ Φλέμινγκ από τον Ερευνητή Β' κ. Σκουλάκη.



Εικόνα 2.6. Φωτογραφίες μερικών από τα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική. **A.** Φυσικού τύπου *Drosophila melanogaster* (Wild Type, Oregon R) <https://arrogantscientist.wordpress.com/2009/01/02/the-greatest-model-organism/>. **B.** Στέλεχος #4414, με τα χαρακτηριστικά “curly” φτερά (μαύρο βέλος) <http://www.unc.edu/~abcook18/wingshape3.html>. **Γ.** Στέλεχος UAS-CAT στο οποίο με διασταύρωση Με το κόκκινο βέλος σημειώνεται το χαρακτηριστικό σημάδι στη ράχη του συγκεκριμένου στελέχους. **Δ.** Στέλεχος *Dmp53^{-/-}*, με χαρακτηριστική την απουσία χρώματος στα μάτια και στο σώμα. Όλα τα έντομα στην παρούσα απεικόνιση είναι θηλυκά.

Η υπερέκφραση ενός γονιδίου μέσω των διασταυρώσεων μπορεί να επιτευχθεί είτε ιστοειδικά είτε σε όλο το σώμα, ανάλογα με τον υποκινητή του γονιδίου. Σύμφωνα με τον **πίνακα 2.1**, το γονίδιο – στόχος σε κάθε στέλεχος έχει ενσωματωθεί στο χρωμόσωμα 2, εκτός από το στέλεχος **#8760** στο οποίο η ένθεση έχει πραγματοποιηθεί στο χρωμόσωμα 3. Για να επιβεβαιωθεί η ιστοειδική έκφραση του GAL4 πραγματοποιήθηκαν διασταυρώσεις ελέγχου μεταξύ των στελεχών **#4414** και **#8760** και **#6874**. Τα έντομα τη F1 γενιάς επιβεβαίωσαν την ιστοειδική έκφραση, καθώς για το **#4414** εντοπίστηκε θετικό φθορίζον σήμα σε όλη την προνύμφη 3^{ου} σταδίου και τους σιελογόνους αδένες (**εικόνα 2.7A-B**) και για το **#8760** στον εγκέφαλο και το νευρικό σωλήνα και όχι στους σιελογόνους (**εικόνα 2.7Γ-Δ**).



Εικόνα 2.7. A-B. Διασταύρωση 4414x6874. Παρατηρούμε την υπερέκφραση της EGFP σε όλη την προνύμφη 3^{ov} αναπτυξιακού σταδίου (A) και σε ολόκληρο το σιελογόνο αδέν (B). Γ-Δ. Διασταύρωση 8760x4414. Παρατηρούμε ελάχιστη έως καθόλου έκφραση της EGFP στο σιελογόνο αδέν της προνύμφης που προέκυψε από την διασταύρωση (Γ) και αντίστοιχα υπερέκφραση αυτής στον εγκέφαλο της προνύμφης (Δ).

2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1 Δοσιμετρία

Όλες οι μετρήσεις της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου έγιναν εντός 6 λεπτών όπως προβλέπεται από την ICNIRP (ICNIRP 1998) και οι τιμές του ειδικού ρυθμού απορρόφησης SAR υπολογίστηκαν με βάση τους *Lee et al. (2008)*. Για τις ωσθήκες χρησιμοποιήθηκε τιμή ηλεκτρικής αγωγιμότητας $\sigma=1,19$ S/m και πυκνότητα μάζας $\rho=1000$ Kg/m³, ενώ για τους σωματικούς ιστούς οι αντίστοιχες σταθερές ήταν $\sigma=0,92$ S/m και $\rho=1000$ Kg/m³. Ως πηγές ακτινοβολίας καθημερινής χρήσης χρησιμοποιήθηκαν το κινητό τηλέφωνο, η βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT και το ασύρματο δίκτυο WiFi. Για κάθε πηγή ακτινοβολίας (με μέση ένταση E που μετρήθηκε με τον φασματικό αναλυτή πεδίου NARDA SRM3000) ο ειδικός ρυθμός απορρόφησης για τον αντίστοιχο ιστό που ακτινοβολήθηκε υπολογίστηκε ως εξής:

- **Κινητό τηλέφωνο GSM (Global System for Mobile Telecommunications):**
 - Σωματικός ιστός: 0,15 W/Kg
- **Βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT (Digital Enhanced Cordless Telephone) :**
 - Σωματικός ιστός: 0,007 W/Kg
- **Ασύρματο δίκτυο WiFi :**
 - Σωματικός ιστός: 0,005 W/Kg
 - Ωοθηκικός ιστός: 0,007 W/Kg

Για τα φάσματα εκπομπής ανατρέξαμε στην μελέτη των *Margaritis et al (2014)* που πραγματοποιήθηκε από την ερευνητική μας ομάδα.

2.2.2 Πρωτόκολλα ακτινοβολίας

2.2.2.1. Προσδιορισμός αποπτωτικών ωοθυλακίων

Ο προσδιορισμός των αποπτωτικών ωοθυλακίων πραγματοποιήθηκε μετά από έκθεση των θηλυκών εντόμων της *Drosophila melanogaster* σε διάφορες πηγές ακτινοβολίας, ιονίζουσας και μη. Οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το ασύρματο δίκτυο WiFi, συσκευή ασύρματου πομποδέκτη (Walkie-Talkie), γεννήτρια ραδιοσυχνότητας HP και κρύσταλλοι τριοξειδίου του ουρανίου σαν πηγή εκπομπής ιονίζουσας ακτινοβολίας. Η ακτινοβολία με το ασύρματο δίκτυο WiFi πραγματοποιήθηκε σε ειδικό κλίβανο καλλιέργειας με περιβαλλοντικές συνθήκες

όμοιες με αυτές του δωματίου καλλιέργειας, ενώ η ακτινοβολήση με τη συσκευή του πομποδέκτη, της γεννήτριας ραδιοσυχνοτήτων και το τριοξειδίο του ουρανίου έλαβαν χώρα εκτός κλιβάνου αλλά κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες έκθεσης. Παράλληλα χρησιμοποιήθηκαν θηλυκά έντομα μάρτυρες τα οποία διατηρούνταν στο δωμάτιο καλλιέργειας με τις συνήθεις περιβαλλοντικές συνθήκες καθώς και εικονικά ακτινοβολημένα έντομα (Sham exposed – SE) σε κλίβανο καλλιέργειας με τις ίδιες συνθήκες του δωματίου καλλιέργειας, προστατευμένα από την ακτινοβολία. Τα τελευταία χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να αποκλειστεί τυχόν επίδραση άλλου περιβαλλοντικού παράγοντα πλην της ακτινοβολίας στα έντομα που ακτινοβολήθηκαν με τις παραπάνω συνθήκες.

Τα αποπτωτικά ωοθυλάκια ανιχνεύονταν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης, μέσω χρώσης με πορτοκαλί της ακριδίνης όπως ήδη αναφέρθηκε (βλέπε Υποκεφάλαιο 2.2.2.2.3)

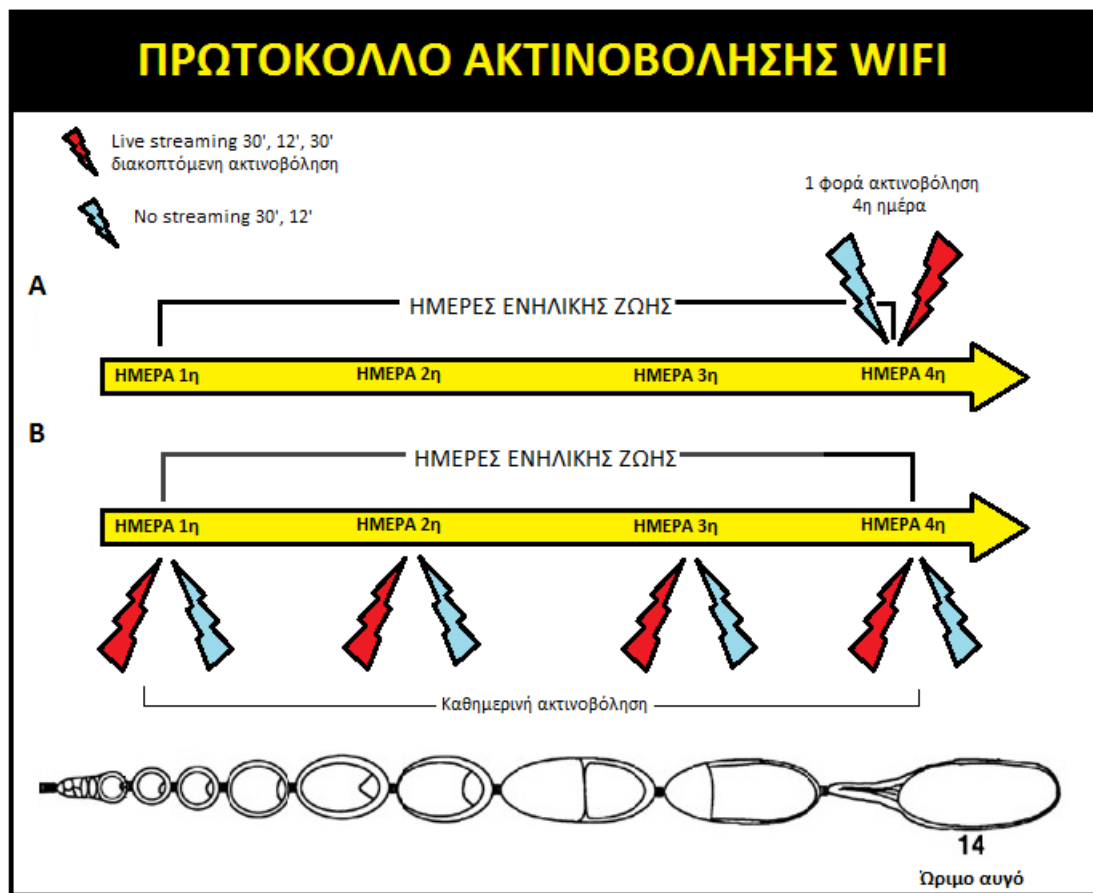
2.2.2.1.1 Ασύρματο δίκτυο WiFi

Η επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην ωογένεση του δίπτερου *Drosophila melanogaster* μελετήθηκε συναρτήσει της διάρκειας έκθεσης, της διαμόρφωσης εκπομπής και της επαναληψιμότητας της έκθεσης. Για το σκοπό αυτό, σχεδιάστηκαν κατάλληλα πρωτόκολλα καθημερινής ή εφάπαξ ακτινοβολήσης, διαφορετικής διάρκειας έκθεσης, και διαφορετικής διαμόρφωσης, ανάλογα με τη μετάδοση δεδομένων (live streaming) ή όχι. Αναλυτικότερα τα πρωτόκολλα είχαν ως εξής:

- 12 λεπτά ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες.
- 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση.
- 30 λεπτά διακοπτόμενη ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες (συγκεκριμένα: 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON), διακοπή για 6 λεπτά (OFF) και στη συνέχεια άλλα 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON))
- 30 λεπτά διακοπτόμενη (12 λεπτά ON, 6 λεπτά OFF, 12 λεπτά ON), εφάπαξ ακτινοβολήση
- 30 λεπτά συνεχόμενη ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες.
- 30 λεπτά συνεχόμενη, εφάπαξ ακτινοβολήση.

Στην εφάπαξ ακτινοβολήση, τα θηλυκά ακτινοβολούνταν την 4^η ημέρα της ενήλικης ζωής τους, για τον αντίστοιχο χρόνο του πρωτοκόλλου ενώ στην

καθημερινή ακτινοβολή τα θηλυκά ακτινοβολούνται από την 1^η ημέρα έκδυσης μέχρι την 4^η (εικόνα 2.8).



Εικόνα 2.8 Σχηματική απεικόνιση των πρωτοκόλλων ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi για τη μελέτη της επίδρασής του στην ακτινο-επαγόμενη απόπτωση κατά την ωογένεση. Με κόκκινο σήμα συμβολίζεται η ακτινοβολήση με το ρούτερ σε λειτουργία live streaming και με γαλάζιο η ακτινοβολήση χωρίς streaming (no streaming). **A.** Πρωτόκολλο εφάπαξ ακτινοβολήσης την 4^η ημέρα της ενήλικης ζωής. **B.** Πρωτόκολλο καθημερινής ακτινοβολήσης για 4 ημέρες. Για κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης αναφέρονται ξεχωριστά η διάρκεια έκθεσης καθώς και η επαναληψιμότητα ή όχι της έκθεσης.

2.2.2.1.2 Συσκευή ασύρματου πομποδέκτη (Walkie-Talkie)

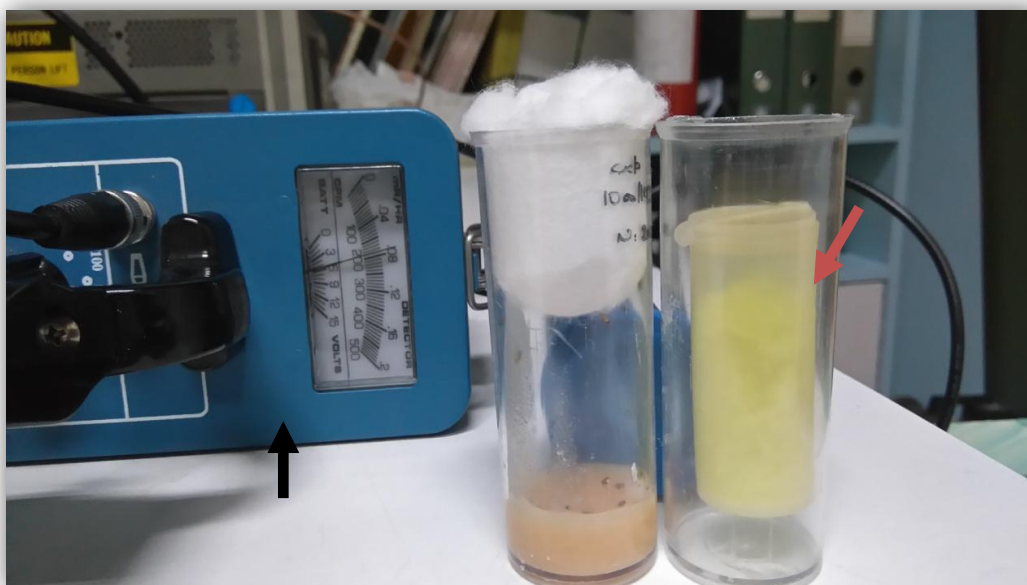
Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε ως πιλοτικό πείραμα αναφοράς για την επίδραση της ακτινοβολίας χαμηλής συχνότητας στην απόπτωση των ωοθυλακίων. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε ακτινοβολήση 30 λεπτών την 5^η ημέρα της ενήλικης ζωής των θηλυκών εντόμων, κατά τα οποία η έκθεση ήταν διακοπτόμενη: 20 δευτερόλεπτα ON - 10 δευτερόλεπτα OFF.

2.2.2.1.3 Γεννήτρια ραδιοσυχνότητων

Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε επίσης ως πιλοτικό πείραμα για την επίδραση της ακτινοβολίας στην απόπτωση των ωοθυλακίων. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκε ακτινοβολήση 30 λεπτών σε συχνότητα HMA 900MHz την 5^η ημέρα της ενήλικης ζωής των θηλυκών εντόμων.

2.2.2.1.4 Κρύσταλλοι τριοξειδίου του ουρανίου

Για το πείραμα αυτό εφαρμόστηκε πρωτόκολλο 30 λεπτών συνεχόμενης ακτινοβολήσης, κάθε μέρα για 5 ημέρες. Το πείραμα αυτό επίσης αποτέλεσε πιλοτικό πείραμα αναφοράς (εικόνα 2.9).



Εικόνα 2.9 Διάταξη ακτινοβολήσης με τριοξείδιο του ουρανίου (κόκκινο βέλος). Η επιβεβαίωση της ακτινοβολίας έγινε με μετρητή Geiger (μαύρο βέλος) ενώ το τριοξείδιο του ουρανίου τοποθετούνταν σε άδειο πλαστικό σωληνάριο καλλιέργειας και δίπλα ακριβώς από το δείγμα προς ακτινοβολήση για καλύτερη κατανομή της ακτινοβολίας. Καταγραφή Α.Χ. Μαργαρίτης.21-10-2016.

2.2.2.2. Προσδιορισμός αναπαραγωγικής ικανότητας

Για τη μελέτη της επίδρασης της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην αναπαραγωγική ικανότητα της *Drosophila melanogaster* σχεδιάστηκε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με πηγή το ασύρματο δίκτυο WiFi. Αναλυτικότερα, τα έντομα συλλέγονταν 2-4 ώρες μετά την έκδυσή τους και χωρίζονταν σε δύο ομάδες, τα ακτινοβολημένα και τους μάρτυρες. Επίσης, διαχωρίζονταν σε αρσενικά και θηλυκά και διατηρούνταν σε ξεχωριστούς σωλήνες

καλλιέργειας. Τα έντομα που ανήκαν στην ομάδα των μαρτύρων παρέμεναν στο δωμάτιο καλλιέργειας σταθερών συνθηκών, ενώ τα έντομα της ομάδας των ακτινοβολημένων μεταφέρονταν σε ειδικό κλίβανο με τις ίδιες συνθήκες όπως αυτές του δωματίου καλλιέργειας. Εκεί παρέμεναν για 4 ημέρες συνεχόμενα (24 ώρες το 24ώρο) υπό την έκθεση του ασύρματου δικτύου WiFi (εικόνα 2.14). Την 4^η ημέρα πραγματοποιούνταν η διασταύρωση απουσία ακτινοβολίας. Τα έντομα παρέμεναν στο σωλήνα για 24 ώρες και την επόμενη ημέρα απομακρύνονταν (αναλυτικά οι διασταυρώσεις αναφέρονται στην ενότητα 2.2.4.).



Εικόνα 2.9 Σχηματική απεικόνιση του πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi για τη μελέτη της αναπαραγωγικής ικανότητας των εντόμων.

2.2.2.3. Ανίχνευση επαγωγής του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου

Για τον προσδιορισμό πιθανής επαγωγής του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου, μετά από έκθεση σε παλμική ακτινοβολία ασύρματης τεχνολογίας αλλά και για τη μελέτη του χρονισμού μίας ενδεχόμενης ενεργοποίησης, πραγματοποιήθηκαν πρωτόκολλα ακτινοβολήσης με κινητό τηλέφωνο GSM με διαφορετική διάρκεια και διαφορετικό χρόνο αναμονής μετά το τέλος της ακτινοβολήσης και πριν την παρατήρηση στο Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser. Αναλυτικότερα, τα πρωτόκολλα ήταν τα εξής:

- 30 λεπτά συνεχόμενη ακτινοβολήση και άμεση μικροσκοπική παρατήρηση του σήματος φθορισμού
- 30 λεπτά συνεχόμενη ακτινοβολήση και 30 λεπτά μετά μικροσκοπική παρατήρηση
- 60 λεπτά συνεχόμενη ακτινοβολήση και άμεση μικροσκοπική παρατήρηση

Για τα συγκεκριμένα πειράματα επιλέχθηκαν ως βιολογικό υλικό μελέτης απομονωμένοι σιελογόνοι αδένες προνύμφης του 3^{ου} αναπτυξιακού σταδίου της *Drosophila melanogaster*, οι οποίοι ακτινοβολήθηκαν *in vitro* (εικόνα 2.10). Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν σιελογόνοι αδένες οι οποίοι επώαστηκαν *in vitro* με Dithiothreitol (DTT) για 60 λεπτά.



Εικόνα 2.10 Διάταξη ακτινοβολήσης σιελογόνων αδένων με κινητό τηλέφωνο.

2.2.2.4. Προσδιορισμός βιωσιμότητας

Η επίδραση της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην βιωσιμότητα της *Drosophila melanogaster* μελετήθηκε τόσο στα αρσενικά όσο και στα θηλυκά έντομα, μέσω συνεχούς δια βίου έκθεσης σε βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT. Για τη μελέτη του ρόλου των μεταγραφικών παραγόντων Xbp1 και p53, αλλά και της ιστοειδικής έκφρασης της καταλάσης στη βιωσιμότητα των ακτινοβολημένων εντόμων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω 6 στελέχη μεταλλαγμένων, διαγονιδιακών εντόμων:

1. WT
2. *Dmp53*^{-/-}
3. Διαγονιδιακό στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Catalase

4. Διαγονιδιακό στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1
5. Διαγονιδιακό στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Catalase
6. Διαγονιδιακό στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Xbp1

Όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα 2.2.3 χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη τροφής για όλα τα στελέχη. Τα ακτινοβολημένα έντομα διατηρήθηκαν σε ειδικό κλίβανο καλλιέργειας μαζί με τη βάση DECT (εικόνα 2.11), ενώ τα έντομα μάρτυρες παρέμειναν στο δωμάτιο καλλιέργειας πληθυσμού με τις ίδιες σταθερές συνθήκες.



Εικόνα 2.11 Α. Διάταξη με βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT για τον προσδιορισμό της βιωσιμότητας των εντόμων. Τα βέλη δείχνουν το διαφορετικό είδος τροφής που χρησιμοποιήθηκε. Το κόκκινο βέλος δείχνει τη χαμηλή θερμιδικά τροφή ενώ το ανοιχτό γκρι βέλος την πλήρη θερμιδικά τροφή. Στη μέση ακριβώς βρίσκεται η βάση του ασύρματου τηλεφώνου DECT, για τη σωστή κατανομή της ακτινοβολίας.

B. Σχηματική απεικόνιση του πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο τηλέφωνο DECT για τη μελέτη της βιωσιμότητας των εντόμων.

2.2.3 Μικροσκοπία

2.2.3.1 Φωτονική Μικροσκοπία

Για την ανατομία των εντόμων χρησιμοποιήθηκε το Στερεομικροσκόπιο Zeiss stereo IV με ειδική διάταξη προσπίπτοντος ψυχρού φωτισμού, ενώ για την παρατήρηση της εξωτερικής μορφολογίας των παρασκευασμάτων το Φωτονικό Μικροσκόπιο Nikon Eclipse TE-2000 (Ανάστροφο) σε μεγεθύνσεις 4x και 10x.

2.2.3.2 Μικροσκοπία Φθορισμού

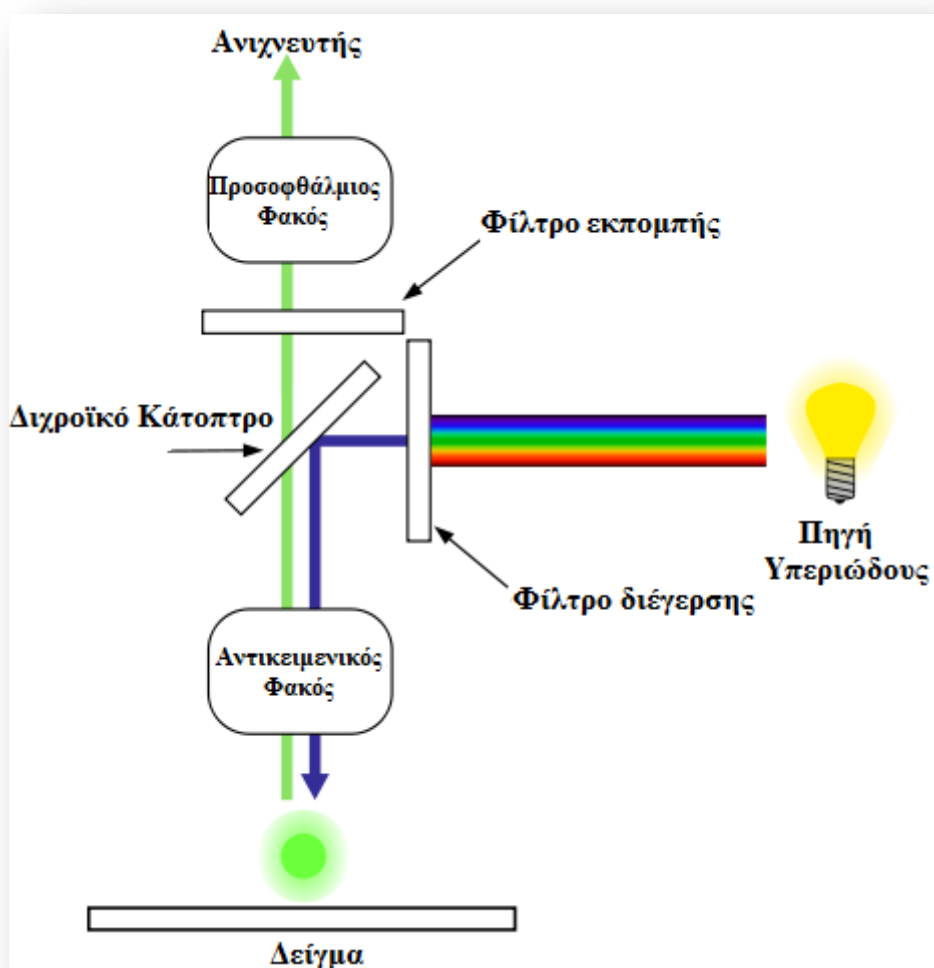
Ο φθορισμός είναι ένα φυσικοχημικό φαινόμενο, χαρακτηριστικό πολλών μορίων, βιολογικών και μη. Κατά το φθορισμό το μόριο διεγείρεται με ακτινοβολία μικρού μήκους, συνήθως στην περιοχή της υπεριώδους ($\lambda = 250-350 \text{ nm}$). Μέρος της ενέργειας που πήρε το μόριο, την αποδίδει στη συνέχεια με μεγαλύτερο μήκος κύματος που συνήθως εμπίπτει στην περιοχή φάσματος του ορατού φωτός. Στη φύση υπάρχουν μόρια που εμφανίζουν πρωτογενή φθορισμό ή αυτοφθορισμό, όμως οι περισσότερες ουσίες ή κυτταρικές δομές που μας ενδιαφέρουν επιστημονικά δεν εμφανίζουν πρωτογενή φθορισμό. Έτσι, αυτά τα παρασκευάσματα πρέπει να «χρωματισθούν», για να δώσουν φθορισμό και μάλιστα στόχος είναι η επίτευξη φθορισμού σε ορισμένες μόνο περιοχές, ουσίες ή οργανίδια (τοπολογία). Ο εξειδικευμένος φθορισμός μπορεί να επιτευχθεί με χρήση φθορίζοντων μορίων, τα οποία χρησιμοποιούνται όπως ακριβώς και οι συνηθισμένες ιστολογικές χρωστικές. Ο φθορισμός που παρατηρείται στα παρασκευάσματα που έχουν επωασθεί με αυτά τα μόρια αναφέρεται ως ετεροφθορισμός. Το φαινόμενο αυτό χρησιμοποιείται στη μικροσκοπία φθορισμού. Μερικά παραδείγματα από αυτά τα φθορίζοντα μόρια (αναφέρονται και ως φθορίζοντες ουσίες ή χρωστικές) είναι η φλουορεσκίνη που φθορίζει στο πράσινο ή η ροδαμίνη που φθορίζει στο κόκκινο (*Kapuscinski and Darzynkiewicz, 1990; Bialecka-Fornal et al, 2016*).

Η δημιουργία του μικροσκοπίου φθορισμού έγινε το 1904 από τον August Kohler και τον Moritz von Rohr όταν προσπάθησαν να βελτιώσουν το διακριτικό όριο του φωτονικού μικροσκοπίου. Στην προσπάθειά τους αυτή χρησιμοποίησαν υπεριώδες φως προκειμένου να δώσει καλύτερη πρακτικότητα λόγω του μικρότερου

μήκους κύματος του. Αυτή η δοκιμή αποτέλεσε το εναρκτήριο βήμα για την ανάπτυξη και χρήση του μικροσκοπίου φθορισμού.

2.2.3.2.1 Αρχή λειτουργίας Μικροσκοπίου Φθορισμού

Η υπεριώδης ακτινοβολία (από λυχνία Hg ή Xe) περνά από το φίλτρο εκπομπής για την επιλογή συγκεκριμένου φάσματος. Μετά τη διέλευση της από τον συγκεντρωτικό φακό, η υπεριώδης ακτινοβολία επιδρά στο παρασκεύασμα και σχηματίζει είδωλο στο όπισθεν εστιακό επίπεδο του αντικειμένου φακού. Ένα φίλτρο εκπομπής επιτρέπει μόνο στο ορατό φάσμα να περάσει και έτσι διαπιστώνεται η παρουσία μορίων στο παρασκεύασμα με αυτοφθορισμό ή μετά από προσθήκη εξωγενών φθορίζοντων ουσιών (εικόνα 2.12).



Εικόνα 2.12 Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας και των μερών που αποτελούν το Μικροσκόπιο Φθορισμού. Πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescence_microscope

2.2.3.2.2 Εφαρμογές Μικροσκοπίας Φθορισμού

Η Μικροσκοπία Φθορισμού έχει πολλές εφαρμογές, οι κυριότερες στις Βιολογικές Επιστήμες όμως είναι:

- Ο εντοπισμός μακρομορίων στο κύτταρο (πρωτεΐνες, μεταβολίτες κλπ).
- Παρατήρηση κυτταρικών δομών, όπως μεμβράνες, κυτταροσκελετός, χρωματίνη, λυσοσώματα.
- Μελέτη της κίνησης μακρομορίων, κυστιδίων και κυττάρων.
- Μελέτη κυτταρικών λειτουργιών, όπως απόπτωση, κυτταρική διαίρεση, ενδοκυττάρωση, εξωκυττάρωση, κυτταρική διήθηση, μετάσταση

2.2.3.2.3 Ανίχνευση αποπτωτικών ωοθυλακίων – χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης (Acridine Orange – AO)

Το πορτοκαλί της ακριδίνης είναι μία φθορίζουσα χρωστική η οποία συνδέεται με DNA ή RNA. Ανάλογα με το μόριο που συνδέεται φθορίζει σε διαφορετικό χρώμα. Συγκεκριμένα, φθορίζει στο πράσινο αν είναι συνδεδεμένη με DNA και στο κόκκινο αν είναι συνδεδεμένη με RNA. Σε ζωντανό ιστό χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής της απόπτωσης γιατί συνδέεται με το κατακερματισμένο DNA (*McCall και Peterson, 2004; Denton et al, 2008*). Αντίθετα, σε μονιμοποιημένο ιστό αποτελεί πυρηνική χρώση και δεσμεύεται απλά στο DNA.

Για τη συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήθηκε ως ανιχνευτής απόπτωσης στα ωοθυλάκια σταδίου 2β (γερμάριο) και μέσης ωογένεσης (σταδίου 9). Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε ήταν το εξής:

- Ανατομία θηλυκών εντόμων μετά από αναισθησία και συλλογή ωοθηκών με τη χρήση ειδικών λαβίδων. Στη συνέχεια, με ειδικές βελόνες ανατομίας διαχωρίστηκαν τα ωοθυλάκια. Η ανατομία των εντόμων πραγματοποιήθηκε σε ισότονο διάλυμα με την αιμολέμφο, 1 x Ringer's (0,75% NaCl, 0,02% CaCl₂, 0,01% KCl, 0,02% NaHCO₃ διαλυμένα σε ddH₂O).
- Τα ωοθυλάκια που απομονώθηκαν ξεπλύθηκαν με διάλυμα 1 x Ringer's .
- Το διάλυμα απομακρύνθηκε και προστέθηκε 200μL Ringer's που περιείχε 1,6 x 10⁻⁶ M πορτοκαλί της ακριδίνης. Ακολούθησε επώαση απουσία φωτός και υπό συνεχή ανάδευση για 5 λεπτά.

- Ακολούθησε ακόμα μία πλύση με Ringer's για 5 λεπτά, πάλι απουσία φωτός και υπό συνεχή ανάδευση.
- Απομακρύνθηκε η χρωστική και τα ωοθυλάκια ξεπλύθηκαν 3 φορές γρήγορα με διάλυμα Ringer's.
- Απομακρύνθηκε το Ringer's και προστέθηκε φρέσκο ισότονο διάλυμα. Τα ωοθυλάκια συλλέχθηκαν με γυάλινη πιπέττα Pasteur και μεταφέρθηκαν σε αντικειμενοφόρο vidal.

Η παρατήρηση στο μικροσκόπιο φθορισμού (Nikon TE 2005) έγινε άμεσα, λόγω διάχυσης της χρωστικής και δεν ξεπερνούσε σε διάρκεια τα 20 λεπτά.

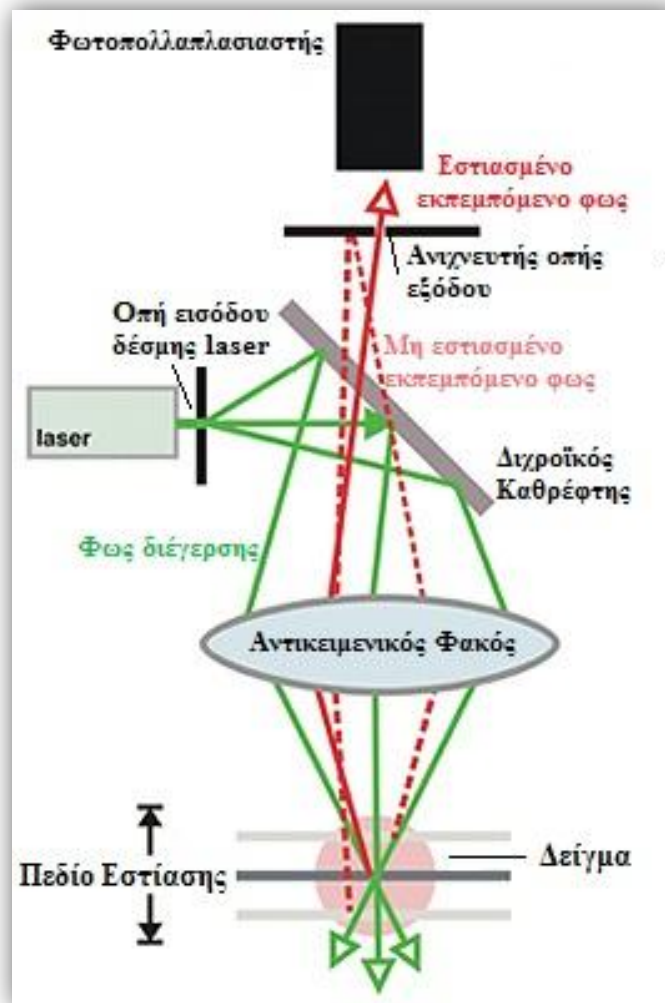
2.2.3.3 Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser (Confocal Laser Scanning Microscopy - CLSM)

Η βασική ιδέα για το Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser διατυπώθηκε από τον Marvin Minsky το 1955 και η κατασκευή του αποτελεί τη σημαντικότερη μέχρι στιγμής εξέλιξη της Φωτονικής Μικροσκοπίας. Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στη χρήση μίας δέσμης Laser η οποία σαρώνει το δείγμα με τη βοήθεια περιστρεφόμενων καθρεπτών.

Η συνολική οπτική διάταξη εντός CLSM αποτελείται από ένα υψηλής ποιότητας οπτικό μικροσκόπιο στο οποίο είναι προσαρτημένη μία πηγή Laser, το φως της οποίας εισέρχεται στο οπτικό μικροσκόπιο μέσω μίας μικρής οπής μεταβλητής διαμέτρου. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται μία λεπτή δέσμη φωτός που εστιάζεται και σαρώνει με μεγάλη ακρίβεια το παρασκεύασμα με τη βοήθεια μίας συσκευής σάρωσης. Συγκεκριμένα, η δέσμη laser σαρώνει το παρασκεύασμα είτε κινούμενη η ίδια (beam scanning) είτε με μετακίνηση του παρασκευάσματος (object scanning). Το φως μετά την αλληλεπίδρασή του με το παρασκεύασμα ανακλάται από αυτό και επιστρέφει περνώντας από μία δεύτερη οπή και συλλέγεται από έναν φωτοανιχνευτή (εικόνα 2.13). Η εικόνα με τη βοήθεια των περιστρεφόμενων καθρεπτών μπορεί να σχηματιστεί σε χρόνο 0,1 sec.

Μία πολύ σημαντική εφαρμογή της Συνεστιακής Σαρωτικής Μικροσκοπίας είναι η απεικόνιση σε τρεις διαστάσεις των κυττάρων και των κυτταρικών συστατικών τους. Αυτό είναι εφικτό με τη δυνατότητα που έχει το CLSM να εστιάζει μόνο στις περιοχές που βρίσκονται μέσα ή πολύ κοντά στο επίπεδο εστίασης του. Οι διαδοχικές τομές που παίρνει το CLSM με την κατακόρυφη μετακίνηση του

παρασκευάσματος μπορούν να επανασυσταθούν και να δώσουν την τρισδιάστατη απεικόνιση του παρασκευάσματος.



Εικόνα 2.13 Σχηματική απεικόνιση Συνεστιακού Σαρωτικού Μικροσκοπίου Laser. Τροποποίηση από: <http://www.ncl.ac.uk/bioimaging/techniques/confocal/>

2.2.3.3.1 Προσδιορισμός ενεργοποίησης της UPR – Έλεγχος ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1

Για τη μελέτη της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1, διασταυρώσαμε στελέχη με στόχο την υπερέκφραση αυτού μέσω του γενετικού συστήματος GAL4/UAS. Συγκεκριμένα, διασταυρώσαμε παρθένα θηλυκά του στελέχους **arm-GAL4**, που έφεραν το γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα GAL4, υπό τον έλεγχο του υποκινητή του γονιδίου αρμαντίλο, με αρσενικά έντομα του στελέχους **UAS-Xbp1**, που έφεραν την αλληλουχία UAS στον υποκινητή του χμαιρικού γονιδίου του Xbp1 και της Πράσινης Φθορίζουσας Χρωστική (βλέπε υποκεφάλαια 2.1.3.3 και 2.1.3.4). Μέσω της σύζευξης του μεταγραφικού παράγοντα

με την Πράσινη Φθορίζουσα Χρωστική (Enhanced Green Fluorescent Protein - EGFP) επιτρέπει η παρατήρηση του στο Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser.

Ο παράγοντας Xbp1 αποτελεί έναν μεταγραφικό παράγοντα και στόχος του είναι να περάσει στον πυρήνα του κυττάρου και να συνδεθεί στους υποκινητές γονιδίων απαραίτητων για την σωστή απόκριση της UPR και να τους ενεργοποιήσει. Για τον λόγο αυτό, ως σύστημα παρατήρησης της έκφρασης του Xbp1 χρησιμοποιήθηκαν οι σιελογόνοι αδένες από την προνύμφη 3^{ου} σταδίου της *Drosophila melanogaster*. Οι σιελογόνοι αδένες αποτελούνται από μεγάλα κύτταρα με ευδιάκριτους πυρήνες κάτι που μας επιτρέπει να παρατηρήσουμε πιο εύκολα τη τοπολογία του παράγοντα Xbp1 μέσα στο κύτταρο (εικόνα 2.14)

2.2.4 Προσδιορισμός βιωσιμότητας

Για τη μελέτη της βιωσιμότητας των εντόμων χρησιμοποιήθηκαν δύο ειδών τροφές, η πλήρης θερμιδικά τροφή (ΠΘΤ) και η χαμηλή θερμιδικά τροφή (ΧΘΤ) (βλέπε υποκεφάλαιο 2.1.2.3). Για το πείραμα αυτό συλλέχθηκαν συνολικά περισσότερα από 100 αρσενικά και 100 θηλυκά νεοεκδυθέντα έντομα για την ομάδα των ακτινοβολημένων εντόμων και ο ίδιος αριθμός για την ομάδα των μαρτύρων αντίστοιχα και για τα δύο είδη τροφής. Τα έντομα χωρίζονταν ανά 25 αρσενικά και 25 θηλυκά για κάθε σωλήνα καλλιέργειας. Οι καλλιέργειες ανανεώνονταν με καινούρια τροφή κάθε 2 ημέρες, ενώ η καταγραφή των νεκρών εντόμων πραγματοποιούνταν καθημερινά.

Να αναφερθεί ότι η *Drosophila melanogaster* αποτελεί κατάλληλο μοντέλο για μελέτες βιωσιμότητας λόγω του μικρού κύκλου ζωής της.

2.2.5 Προσδιορισμός αναπαραγωγικής ικανότητας (Μελέτη γονιμότητας)

Για τη μελέτη της γονιμότητας χρησιμοποιήθηκε η πλήρης θερμιδικά τροφή. Για το πείραμα αυτό συλλέχθηκαν νεοεκδυθέντα έντομα 2-4 ώρες μετά την έκδυσή τους και διαχωρίστηκαν ανάλογα με το φύλο σε ξεχωριστά δοχεία καλλιέργειας τόσο στην ομάδα των ακτινοβολημένων εντόμων όσο και στην αντίστοιχη των μαρτύρων. Τα έντομα της ομάδας των ακτινοβολημένων τοποθετήθηκαν σε ειδικό κλίβανο καλλιέργειας, όπου υπήρχε η πηγή ακτινοβολίας για τη διάρκεια που είχε προσδιοριστεί. Τα έντομα-μάρτυρες παρέμεναν στο ειδικό δωμάτιο καλλιέργειας σταθερών συνθηκών (flyroom), πλήρως προστατευμένα από την ακτινοβολία. Να

σημειωθεί ότι ο κλίβανος καλλιέργειας διαθέτει τις ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία και φωτοπερίοδο) με το δωμάτιο καλλιέργειας. Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν η διασταύρωση των εντόμων σε νέους σωλήνες καλλιέργειας με καινούρια τροφή ως εξής:

- 1 ακτινοβολημένο θηλυκό x 1 μάρτυρα αρσενικό
- 1 μάρτυρα θηλυκό x 1 ακτινοβολημένο αρσενικό
- 1 μάρτυρα θηλυκό x 1 μάρτυρα θηλυκό

Η παραμονή του αρσενικού με το θηλυκό έντομο σε κοινό δοχείο καλλιέργειας διήρκησε 24 ώρες, ενώ στη συνέχεια απομακρύνθηκαν και τα δύο φύλα. Οι σωλήνες καλλιέργειας παρακολουθούνταν καθημερινά μέχρι να ολοκληρωθεί η καταμέτρηση των χρυσαλίδων από την 1^η έως την τελευταία ημέρα, όπου και ξεκινούσε η καταγραφή των εντόμων της F1 γενιάς. Για την επιτυχία του πειράματος απαραίτητο ήταν έντομο της F1 γενιάς να μην παρέμεναν στο σωλήνα καλλιέργειας πάνω από 24 ώρες, ώστε να αποτραπεί η σεξουαλική ωρίμανσή τους και η εναπόθεση νέων αυγών από τα νεαρά θηλυκά έντομα. Το πείραμα τελείωνε όταν σταματούσε η έκδυση νέων εντόμων.

Για τις μελέτες γονιμότητας η *Drosophila melanogaster* αποτελεί επίσης ένα κατάλληλο μοντέλο, λόγω της μικρής διάρκειας του κύκλου ζωής (περί τις 10 ημέρες, βλέπε παράγραφος 1.10).

2.2.6 Στατιστική ανάλυση

Κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε σε τουλάχιστον τρεις επαναλήψεις για τη διασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων, εκτός από τα τρία πειράματα που αναφέρονται ως πιλοτικά. Για τη στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences, έκδοση 22.0 για Windows). Οι διαφορές ανάμεσα σε διαφορετικές ομάδες δειγμάτων ελέγχθηκαν μέσω t-test για ανεξάρτητα δείγματα ή Mann-Whitney, ανάλογα με την κατανομή των προς εξέταση δειγμάτων. Στην περίπτωση κανονικής κατανομής των δειγμάτων για τη σύγκριση περισσότερων των δύο ομάδων πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one way analysis of variance, ANOVA) μετά από προσαρμογή Bonferroni ή Games-Howell για πολλαπλές συγκρίσεις ανάλογα με τον αριθμό των δειγμάτων και τη διακύμανση. Στην περίπτωση της μη κανονικής κατανομής για την ταυτόχρονη σύγκριση πολλαπλών δειγμάτων

χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis. Οι καμπύλες βιωσιμότητας επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Log-Rank. Σε κάθε ανάλυση που αναφέρθηκε πραγματοποιήθηκαν όλοι οι απαραίτητοι έλεγχοι όσον αφορά στις προϋποθέσεις χρήσης του επιλεγμένου μοντέλου. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά για $p < 0,05$ ή $p < 0,01$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ, ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ

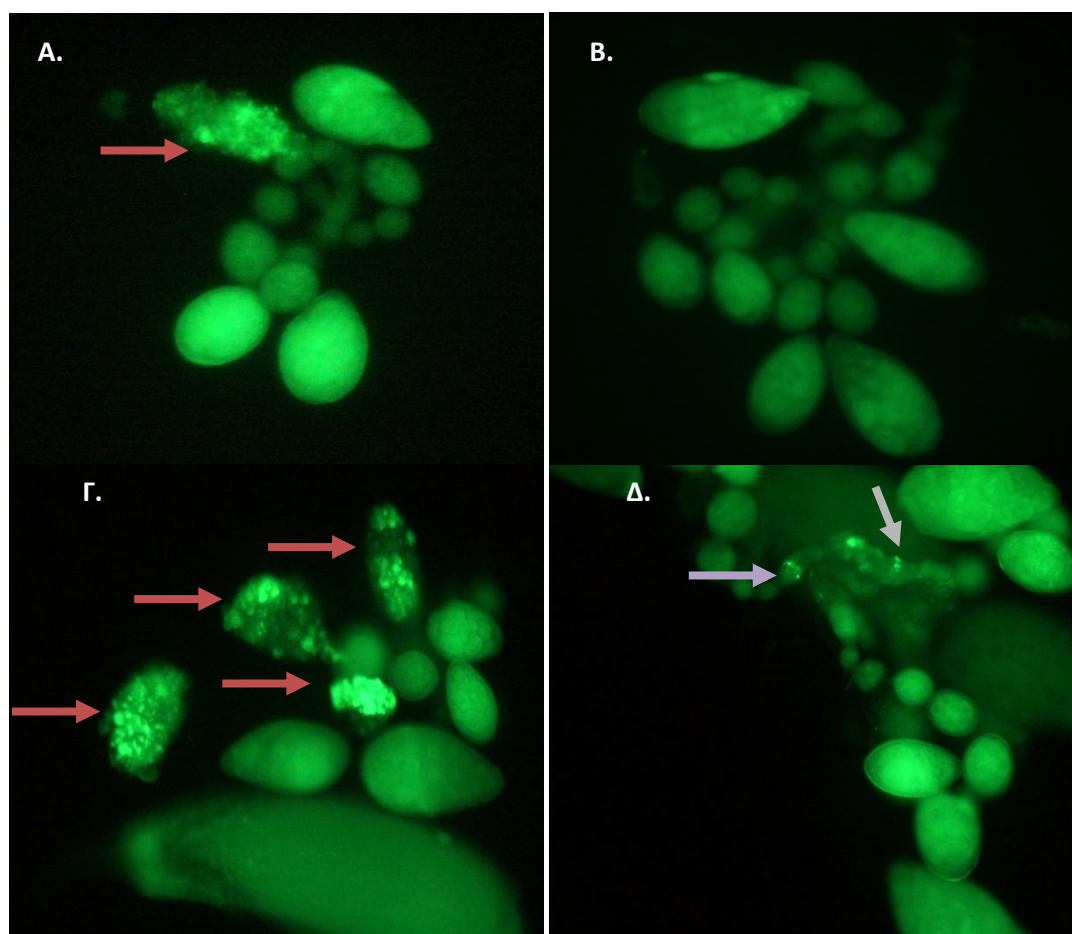
Στη συγκεκριμένη εργασία αντικείμενο μελέτης αποτέλεσε, η ενδεχόμενη επίδραση της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας στο αποπτωτικό δυναμικό του δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster*. Στόχος ήταν ο προσδιορισμός της βιοδραστικότητας της ακτινοβολίας του ασύρματου δικτύου Wi-Fi router ως προς: α) τη διάρκεια έκθεσης, β) τη διαμόρφωση εκπομπής ανάλογα με τη μετάδοση δεδομένων (live streaming) ή όχι και γ) την επαναληψιμότητα της έκθεσης στην ωογένεση του εντόμου *Drosophila melanogaster*. Για τον σκοπό αυτόν χρησιμοποιήθηκε, ως πηγή ακτινοβολίας συμβατικό WiFi router, TP-LINK model, WR-841ND. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν πιλοτικά πειράματα έκθεσης σε ακτινοβολία ασύρματου πομποδέκτη, γεννήτριας ραδιοσυχνοτήτων HP και σε ιονίζουσα ακτινοβολία τριοξειδίου του ουρανίου.

Για τη διερεύνηση τυχόν επαγωγής της απόπτωσης κατά την ωογένεση, απομονώθηκαν οι ωοθήκες και διαχωρίστηκαν τα διαφορετικών σταδίων ωοθυλάκια 4 ώρες μετά το τέλος της εκάστοτε ακτινοβολήσεως, χρόνος ο οποίος έχει επιλεγεί σε προηγούμενα πειράματα του εργαστηρίου ότι είναι ο βέλτιστος για την ανάδειξη της απόπτωσης των ωοθυλακίων (*Sagioglou et al, 2016*). Κατά τη διαδικασία της φυσιολογικής ωογένεσης κερματισμένο DNA εμφανίζεται κυρίως στα στάδια 11-13, όπου αποπίπτουν τα τροφοκύτταρα. Αποπτωτικά ωοθυλάκια με κερματισμένο DNA ανιχνεύονται ωστόσο και σποραδικά στα σημεία ελέγχου, δηλαδή στο στάδιο του γερμαρίου (περιοχή 2b) (**Εικόνα 3.1A**) και στα στάδια της μέσης ωογένεσης 7-9 (**Εικόνα 3.1 B**).

Η ποσοτική εκτίμηση της απόπτωσης πραγματοποιήθηκε υπολογίζοντας το λόγο των αποπτωτικών ωοθυλακίων, τα οποία καταμετρήθηκαν σε μικροσκόπιο φθορισμού, μετά από χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης, ως προς το συνολικό αριθμό ωοθυλακίων από το γερμάριο μέχρι και το στάδιο 9. Με βάση το συγκεκριμένο τρόπο υπολογισμού προέκυψαν τα αντίστοιχα ποσοστά αποπτωτικών ωοθυλακίων που παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα.

Για τα πειράματα αυτά έγινε αρχικά συλλογή νεοεκδυθέντων εντόμων *D. melanogaster* φυσικού τύπου WT, Oregon R (2 – 4 ώρες από τη στιγμή της έκδυσης).

Οι μύγες κατά τη συλλογή τους χωρίστηκαν σε 2 ομάδες: Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε τα ακτινοβολημένα έντομα, τα οποία μεταφέρθηκαν στους κλιβάνους καλλιέργειας σταθερών περιβαλλοντικών συνθηκών και εκτέθηκαν στην ακτινοβολία. Η δεύτερη ομάδα αποτελούνταν από τα έντομα μάρτυρες, δηλαδή έντομα που παρέμειναν προστατευμένα από την ακτινοβολία στο δωμάτιο καλλιέργειας. Σε κάθε ομάδα συλλέχθηκαν 5 θηλυκά έντομα, σε κάθε πείραμα υπήρχαν 2 δείγματα ανά συνθήκη, ενώ το κάθε πείραμα επαναλήφθηκε τουλάχιστον 3 φορές.



Εικόνα 3.1: Χαρακτηριστικές εικόνες αποπτωτικών ωοθυλακίων μετά από χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης. **A.** Ωοθυλάκια ακτινοβολημένου εντόμου με 12 λεπτά ακτινοβολία *live streaming* την 4^η ημέρα της ενήλικης ζωής του, όπου παρατηρείται θετικό σήμα απόπτωσης σε ωοθυλάκιο μέσης ωογένεσης (κόκκινο βέλος) **B.** Ωοθυλάκια δείγματος μάρτυρα που απουσιάζει θετικό σήμα απόπτωσης και στα δύο σημεία ελέγχου **Γ.** Ωοθυλάκια μέσης ωογένεσης, μετά από ακτινοβολία 30 λεπτών *live streaming* την 4^η ημέρα της ενήλικης ζωής του, με θετικό σήμα στο πορτοκαλί της ακριδίνης (κόκκινο βέλος) και **Δ.** Γερμάρια (περιοχή 2b) θετικά στη χρώση με πορτοκαλί της ακριδίνης μετά από το ίδιο πρωτόκολλο ακτινοβολίας (μωβ βέλος). Ράβδοι μεγέθυνσης = 19 μm

3.1.1. Επίδραση WiFi στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει του πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης

Η διάρκεια ακτινοβολήσης ήταν 12 λεπτά και 30 λεπτά αντίστοιχα, ενώ στα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης που εφαρμόστηκαν με τους συγκεκριμένους χρόνους έκθεσης η δόση πραγματοποιήθηκε είτε μία φορά την 4^η ημέρα της ενήλικης ζωής των εντόμων, είτε καθημερινά για 4 ημέρες. Ακόμη, στο πρωτόκολλο των 30 λεπτών μελετήθηκε και η βιοδραστικότητα της διακοπτόμενης έναντι της συνεχούς έκθεσης. Αναλυτικά, τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης διαμορφώθηκαν ως εξής:

- 12 λεπτά ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες.
- 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση.
- 30 λεπτά διακοπτόμενη ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες (συγκεκριμένα: 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON), διακοπή για 6 λεπτά (OFF) και στην συνέχεια άλλα 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON))
- 30 λεπτά διακοπτόμενη, εφάπαξ ακτινοβολήση (συγκεκριμένα: 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON), διακοπή για 6 λεπτά (OFF) και στην συνέχεια άλλα 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON))
- 30 λεπτά συνεχόμενη ακτινοβολήση κάθε μέρα για συνολικά 4 ημέρες.
- 30 λεπτά συνεχόμενη, εφάπαξ ακτινοβολήση.

Τέλος, τα 12 λεπτά και τα 30 λεπτά πραγματοποιήθηκαν με live streaming και χωρίς live streaming (no streaming) με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της διαμόρφωσης εκπομπής του ασύρματου δικτύου WiFi στην ωογένεση της *Drosophila*.

3.1.1.1 Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση, συναρτήσει της διαμόρφωσης εκπομπής WiFi με (live streaming) ή χωρίς (no streaming) ροή δεδομένων- Πρωτόκολλο 12λεπτης ακτινοβολήσης

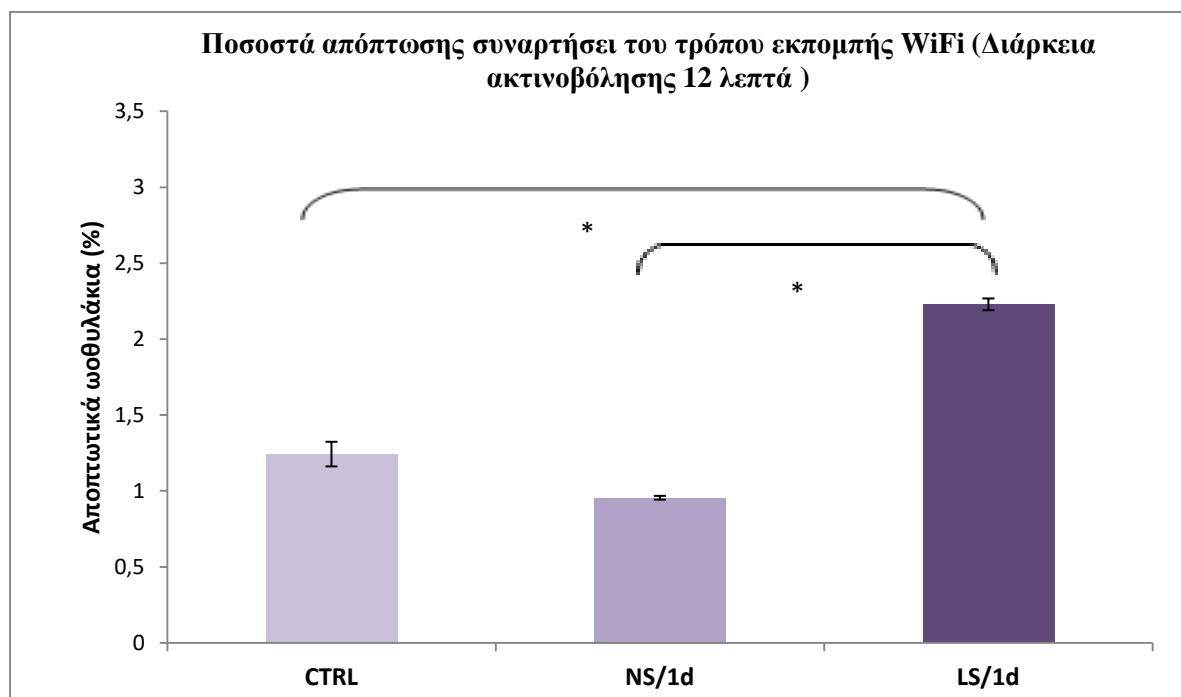
• Πρωτόκολλο εφάπαξ ακτινοβολήσης

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στα ποσοστά των αποπτωτικών ωοθυλακίων μόνο στο πρωτόκολλο ακτινοβολήσης 12 λεπτών με ροή δεδομένων (live streaming) συγκριτικά με τα έντομα μάρτυρες. Συγκεκριμένα, μετά από εφάπαξ ακτινοβολήση live streaming 12 λεπτών τα ποσοστά των αποπτωτικών ωοθυλακίων

από 1,2% που ήταν στους μάρτυρες, ανήλθαν στο 2,2%, ενώ ίδιας διάρκειας εφάπαξ ακτινοβολήση χωρίς ροή δεδομένων (no streaming) δεν επέφερε σημαντική μεταβολή του ποσοστού (πίνακας 3.1 και εικόνα 3.2).

Πίνακας 3.1 Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) των ποσοστών αποπτωτικών ωοθυλακίων ± το τυπικό σφάλμα που ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης και μείωσης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση με live streaming, **NS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΟΘΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,2 ± 0,6	–
LS/1d	2,2 ± 0,5	79
NS/1d	1 ± 0,1	- 23



Εικόνα 3.2 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση με live streaming, **NS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **CTRL**= Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post-Hoc για πολλαπλές συγκρίσεις, * $p < 0,05$.

Ταυτόχρονη στατιστική επεξεργασία όλων των συνθηκών, με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variance (ANOVA) αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά και ανάμεσα στα ακτινοβολημένα δείγματα. Πιο αναλυτικά, το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων που προκλήθηκε από το πρωτόκολλο των 12 λεπτών live streaming ακτινοβολήσης διέφερε σημαντικά συγκριτικά με το αντίστοιχο που προκλήθηκε από την ακτινοβολήση 12 λεπτών χωρίς τη ροή δεδομένων. (Πίνακας 3.2).

Πίνακας 3.2 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων live streaming και no streaming 12λεπτής εφάπαξ ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post – Hoc, για πολλαπλές συγκρίσεις. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d**= 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση με live streaming, **NS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	LS/1d	NS/1d
CTRL		0.022	1.000
LS/1d	0.022		0.004
NS/1d	1.000	0.004	

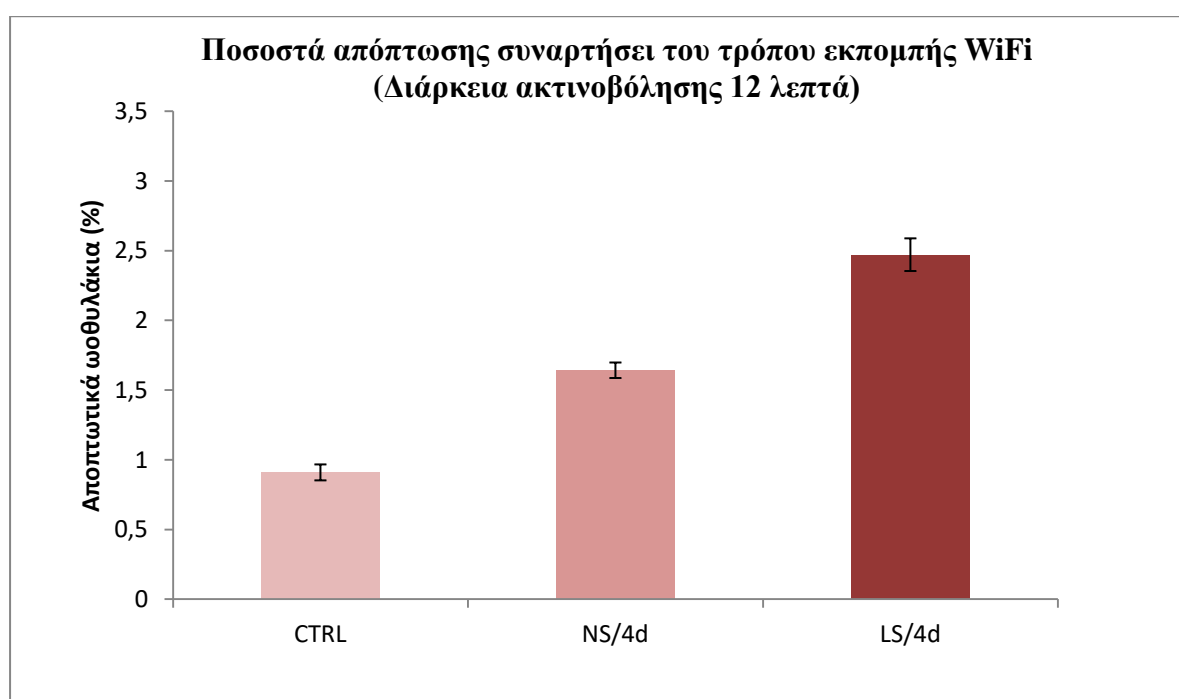
- **Πρωτόκολλο καθημερινής ακτινοβολήσης**

Στο πρωτόκολλο καθημερινής ακτινοβολήσης παρατηρήθηκε αύξηση στα ποσοστά των αποπτωτικών ωοθυλακίων και στις δύο συνθήκες ακτινοβολήσης συγκριτικά με τα έντομα μάρτυρες. Συγκεκριμένα, μετά από 12λεπτη καθημερινή ακτινοβολήση για συνολικά 4 ημέρες, με ασύρματο δίκτυο WiFi, σε διαμόρφωση εκπομπής με ροή δεδομένων (live streaming) τα ποσοστά των αποπτωτικών ωοθυλακίων από 1% που ήταν στους μάρτυρες, ανήλθαν στο 2,5%. Παράλληλα, τα ποσοστά των εκτιθέμενων θηλυκών σε WiFi χωρίς ροή δεδομένων (no streaming), για την ίδια διάρκεια ανήλθαν στο 1,6% (πίνακας 3.3, εικόνα 3.3).

Πίνακας 3.3 Παράθεση του M.O. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων \pm το τυπικό σφάλμα, όπως ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα

ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4d**= 12 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με live streaming για 4 ημέρες, **NS/4d** = 12 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση no streaming για 4 ημέρες, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΘΟΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1 ± 0,5	–
LS/4d	2,5 ± 1,4	171
NS/4d	1,6 ± 0,4	81



Εικόνα 3.3 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **EXP/4d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση live streaming, **NS/4d** =12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **CTRL**= Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post-Hoc, για πολλαπλές συγκρίσεις.

Η πολλαπλή σύγκριση όλων των συνθηκών μεταξύ τους με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variance (ANOVA) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του live streaming, του no streaming, αλλά και των δύο ακτινοβολημένων δειγμάτων με τα δείγματα μάρτυρες (**πίνακας 3.4**).

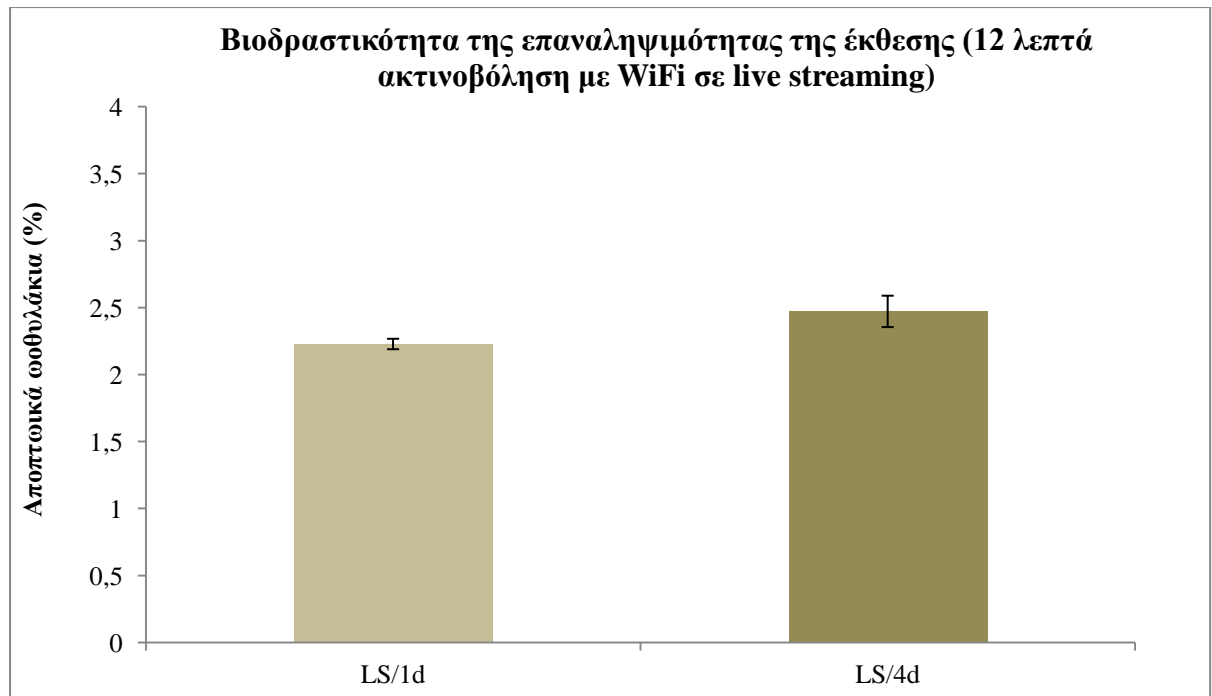
Πίνακας 3.4 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων *live streaming* και *no streaming* 12λεπτής καθημερινής ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την παραμετρική ανάλυση *One way analysis of variances (ANOVA)* και την προσαρμογή *Bonferroni Post – Hoc*, για πολλαπλές συγκρίσεις . Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4d** = 12 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με *live streaming* για 4 ημέρες, **NS/4** = 12 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση *no streaming* για 4 ημέρες, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	LS/4d	NS/4d
CTRL		0.974	0.104
LS/4d	0.974	0.682	
NS/4d	0.104		0.682

3.1.1.2 Σύγκριση της επίδρασης της 12λεπτης ακτινοβολήσης με WiFi, στην απόπτωση, συναρτήσσει της επαναληψιμότητας της έκθεσης και της διαμόρφωσης εκπομπής

- **Ακτινοβολήση με ροή δεδομένων (*live streaming*)**

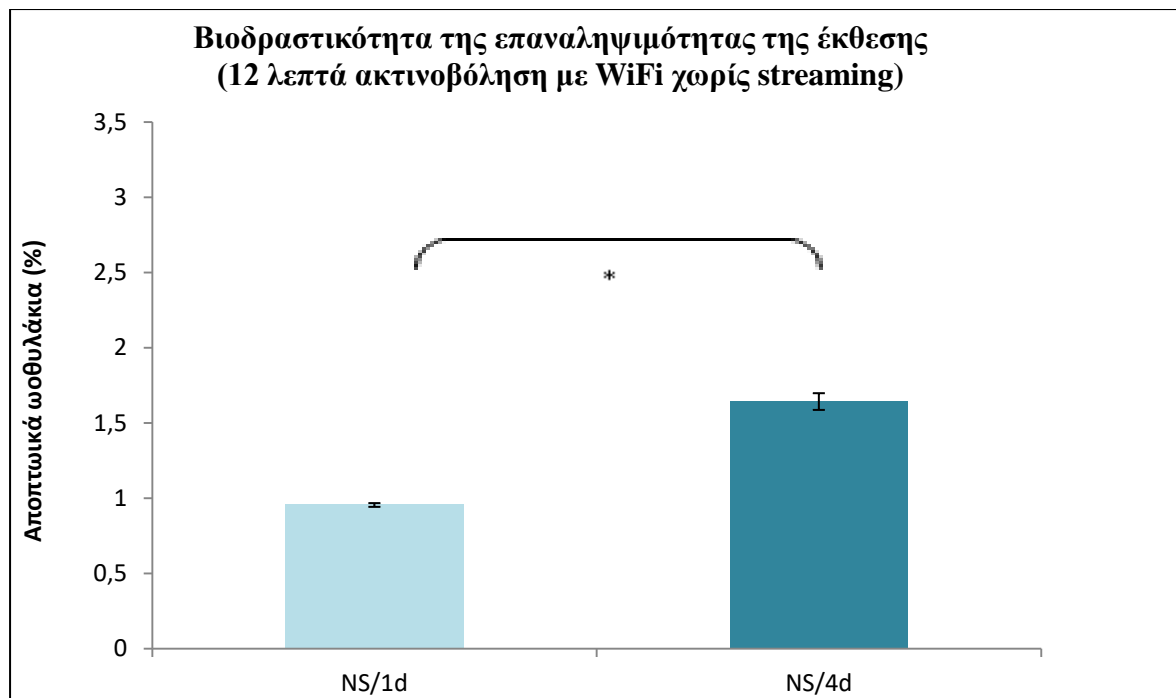
Στατιστική επεξεργασία μεταξύ της εφάπαξ ακτινοβολήσης με *live streaming* σε σχέση με την αντίστοιχη καθημερινή ακτινοβολήση δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στην εφάπαξ ακτινοβολήση έφτασε το 2,2% ενώ στην καθημερινή το 2,5% (**εικόνα 3.4**).



Εικόνα 3.4 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση live streaming, **LS/4d** = 12 λεπτά 4ημερη καθημερινή ακτινοβολήση live streaming. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση Independent T-test.

- **Ακτινοβολήση χωρίς ροή δεδομένων (no streaming)**

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ της εφάπαξ ακτινοβολήσης χωρίς live streaming σε σχέση με την αντίστοιχη καθημερινή ακτινοβολήση ανέδειξε οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,05$) μεταξύ τους. Το ποσοστό των αποπτωτικών ωσθυλακίων στην εφάπαξ ακτινοβολήση έφτανε το 1% ενώ στην καθημερινή ακτινοβολήση 1,6% (**εικόνα 3.5**).



Εικόνα 3.5 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **NS/1d** = 12 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **NS/4d** =12 λεπτά 4ημερη καθημερινή ακτινοβολήση no streaming. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση Independent T-test (* $p < 0,05$)

3.1.1.3 Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της διαμόρφωσης εκπομπής WiFiμε (live streaming) ή χωρίς (no streaming) ροή δεδομένων – Πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβολήσης

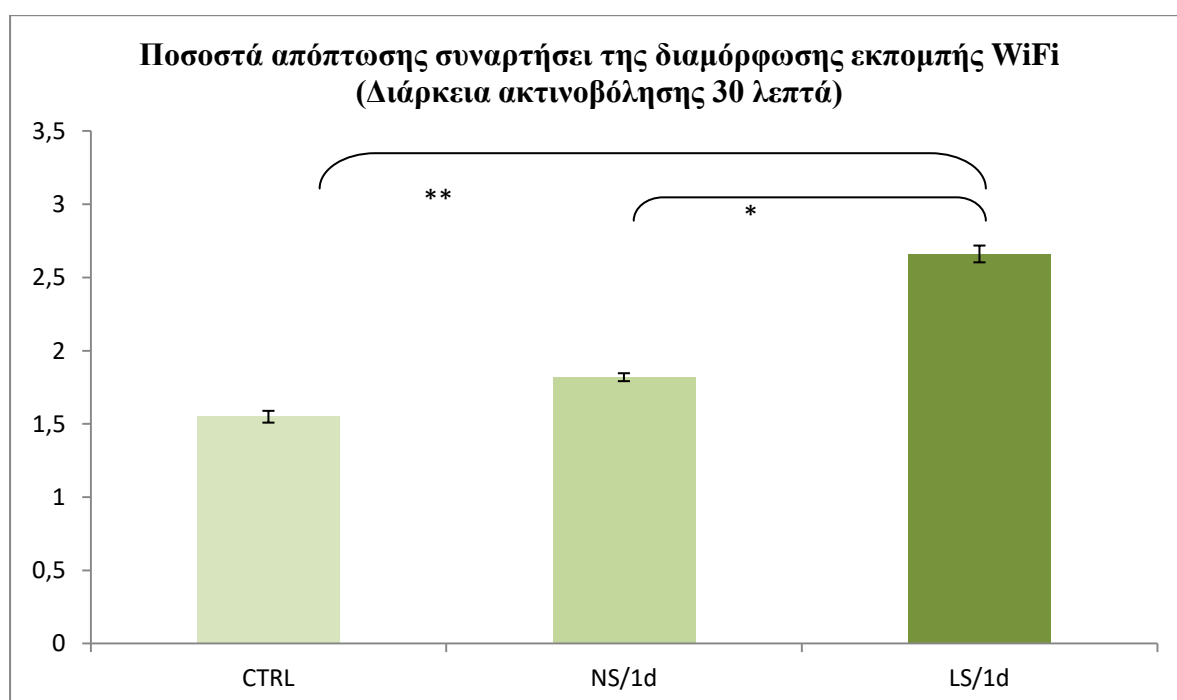
- **Πρωτόκολλο εφάπαξ ακτινοβολήσης**

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στα ποσοστά των αποπτωτικών ωσθυλακίων στο πρωτόκολλο ακτινοβολήσης 30 λεπτών με live streaming συγκριτικά με τα έντομα μάρτυρες, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην περίπτωση των ακτινοβολημένων με το no streaming πρωτόκολλο. Συγκεκριμένα, στην πρώτη περίπτωση το ποσοστό των αποπτωτικών ωσθυλακίων ήταν 2,7% , στη δεύτερη 1,8% και στους μάρτυρες 1,55%(πίνακας 3.5, εικόνα 3.6).

Πίνακας 3.5 Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτωτικών ωσθυλακίων ± το τυπικό σφάλμα, που ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα

ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσεως απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήσεως με live streaming, **NS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήσεως no streaming, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΟΘΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,55 ± 0,5	–
LS/1d	2,7 ± 0,7	72
NS/1d	1,8 ± 0,3	17,4



Εικόνα 3.6 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσεως με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσεως απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d**= 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήσεως live streaming, **NS/1d** =30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήσεως no streaming, **CTRL** = Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με τη μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test, * $p < 0.05$, ** $p < 0,001$.

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δειγμάτων που ακτινοβολήθηκαν με live streaming και no streaming και των μαρτύρων με τη μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Πιο αναλυτικά, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της αύξησης στο ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων που προκλήθηκε από το πρωτόκολλο των 30 λεπτών live streaming ακτινοβολήσεως συγκριτικά με την αντίστοιχη αύξηση που προκλήθηκε

από την no streaming ακτινοβολήση 30 λεπτών καθώς και στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της live streaming ακτινοβολήσης και το μάρτυρα. (Πίνακας 3.6).

Πίνακας 3.6 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων live streaming και no streaming 12λεπτής καθημερινής ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση με live streaming, **NS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, **CTRL**=Μάρτυρες.

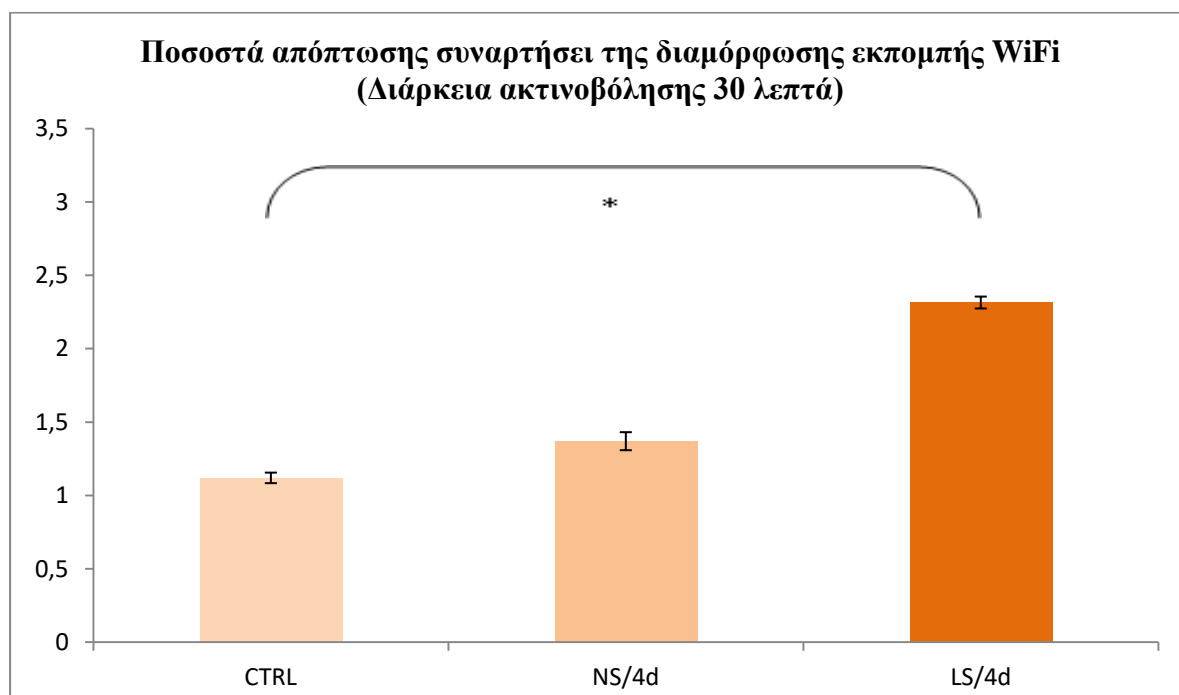
ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	LS/1d	NS/1d
CTRL		0.001	0.347
LS/1d	0.001		0.025
NS/1d	0.347	0.025	

- **Πρωτόκολλο καθημερινής ακτινοβολήσης 30 λεπτών**

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων μόνο μετά από ακτινοβολήση με live streaming. Συγκεκριμένα, μετά από καθημερινή ακτινοβολήση 30 λεπτών με live streaming τα ποσοστά των αποπτωτικών ωοθυλακίων από 1,1 % που ήταν στους μάρτυρες, ανήλθαν στο 2,3% στα ακτινοβολημένα με live streaming ενώ το ποσοστό στα ακτινοβολημένα με no streaming ίδιας διάρκειας το ποσοστό έφτασε το 1,4% (πίνακας 3.7, εικόνα 3.7).

Πίνακας 3.7 Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων \pm το τυπικό σφάλμα, που ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με live streaming για 4 ημέρες, **NS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση no streaming για 4 ημέρες, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΘΟΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,1 ± 0,4	–
LS/4d	2,3 ± 0,5	106
NS/4d	1,4 ± 0,7	22



Εικόνα 3.7 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση live streaming, **NS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση no streaming, **CTRL** = Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση *One way analysis of variances (ANOVA)* και την προσαρμογή *Bonferroni Post-hoc* για πολλαπλές συγκρίσεις, * $p < 0,05$.

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δειγμάτων που ακτινοβολήθηκαν με το WiFi σε live streaming και χωρίς streaming, με την παραμετρική ανάλυση *One way analysis of variances (ANOVA)* και την προσαρμογή *Bonferroni Post-hoc* για πολλαπλές συγκρίσεις, δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ αυτών. Σημειώθηκε μόνο, όπως προαναφέρθηκε, στατιστικά σημαντική διαφορά του ποσοστού των αποπτωτικών ωσθυλακίων που προκλήθηκε από το πρωτόκολλο των 30 λεπτών live streaming καθημερινής ακτινοβολήσης για 4 ημέρες συγκριτικά με το ποσοστό των αποπτωτικών ωσθυλακίων στους μάρτυρες (**πίνακας 3.8**).

Πίνακας 3.8 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων *live streaming* και *no streaming* 12λεπτής καθημερινής ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την παραμετρική ανάλυση *One way analysis of variances (ANOVA)* και την προσαρμογή *Bonferroni Post-hoc*, για πολλαπλές συγκρίσεις. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4ds**= 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με *live streaming*, **NS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση *no streaming*, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	LS/4d	NS/4d
CTRL		0,011	1,000
LS/4 d	0,011		0,062
NS/4 d	1,000	0,062	

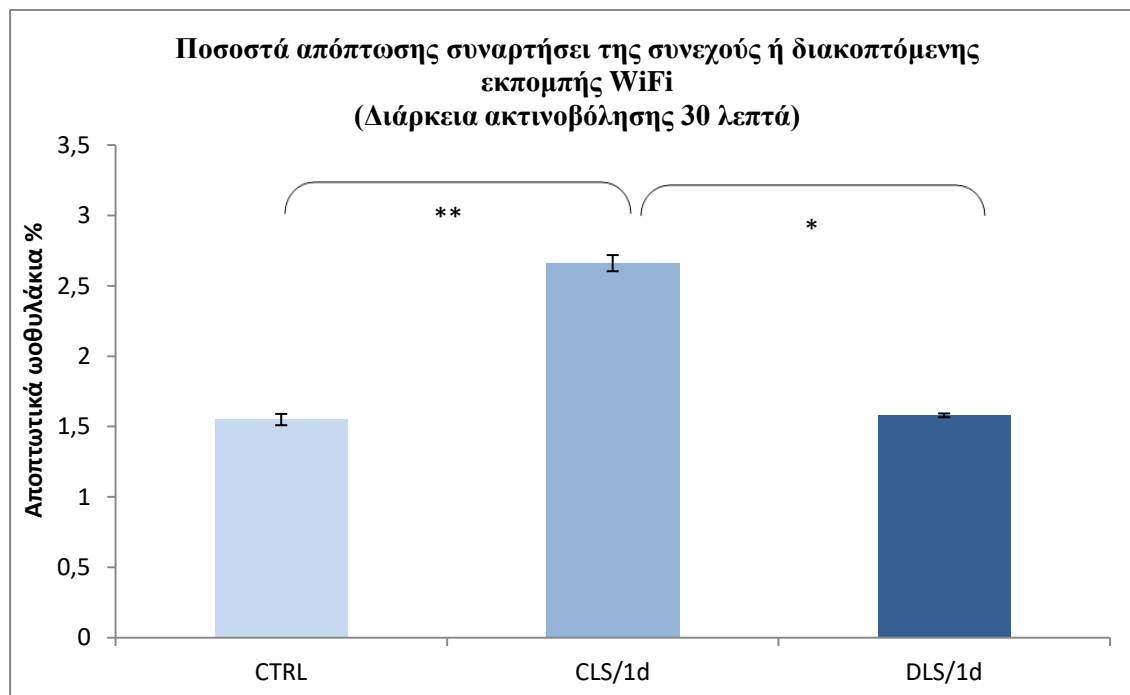
3.1.1.4 Επίδραση της ακτινοβολίας WiFi στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της συνεχόμενης και διακοπτόμενης ακτινοβολήσης με ροή δεδομένων (*live streaming*) – Πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβολήσης

- **Εφάπαξ ακτινοβολήση**

Συγκριτικά με τους μάρτυρες δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων στη διακοπτόμενη ακτινοβολήση διάρκειας 30 λεπτών (*discontinuous live streaming – DLS*) όπως παρατηρήθηκε μετά από συνεχόμενη ακτινοβολήση (*continuous live streaming – CLS*) ίσης διάρκειας, όπως αναφέρεται στην παράγραφο 3.1.1.4 (πίνακας 3.9, εικόνα 3.8).

Πίνακας 3.9 Παράθεση του *M.O. (Μέσος Όρος)* του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων \pm το τυπικό σφάλμα, που ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **CLS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ συνεχόμενη ακτινοβολήση με *live streaming*, **DLS/1d** = 30 λεπτά συνολικής διάρκειας διακοπτόμενη ακτινοβολήση *live streaming*, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΘΟΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,55 ± 0,5	-
CLS/1d	2,7 ± 0,7	72
DLS/1d	1,8 ± 0,2	2



Εικόνα 3.8 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **CLS/1d** = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση live streaming, **DLS/1d** = εφάπαξ διακοπτόμενη ακτινοβολήση συνολικής διάρκειας 30 λεπτών live streaming **CTRL** = Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$.

Ταυτόχρονη στατιστική σύγκριση μεταξύ των δύο πρωτοκόλλων ακτινοβολήσης, και των μαρτύρων, με τη μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis αποκάλυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ακτινοβολημένων δειγμάτων. (πίνακας 3.10).

Πίνακας 3.10 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων live streaming και no streaming 12λεπτής καθημερινής ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται

ως εξής: $CLS/1d = 30$ λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση με live streaming, $DLS/1d = 30$ λεπτά συνολικής διάρκειας διακοπτόμενη ακτινοβολήση live streaming, $CTRL =$ Μάρτυρες.

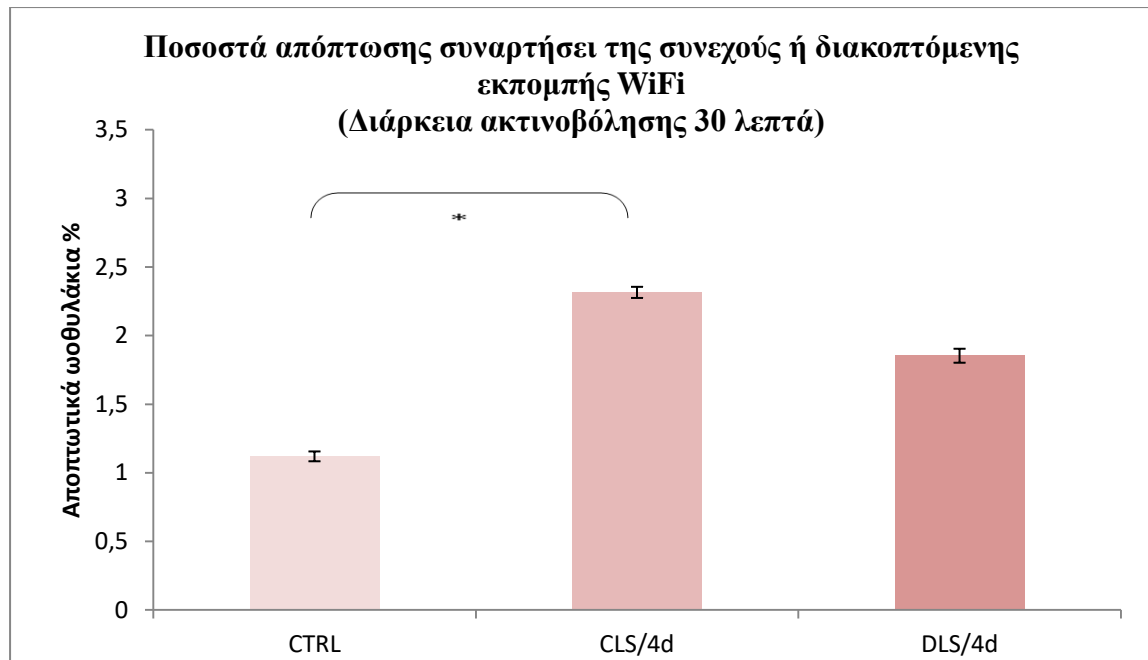
ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	CLS/1d	DLS/1d
CTRL		0.001	0.775
CLS/1d	0.001		0.004
DLS/1d	0.775	0.004	

- **Καθημερινή ακτινοβολήση**

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων μεταξύ των δειγμάτων που ακτινοβολήθηκαν με διακοπτόμενο live streaming (DLS) και τους μάρτυρες αλλά και με το συνεχόμενο live streaming (CLS), παρά μόνο μεταξύ των μαρτύρων και το συνεχόμενο live streaming. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων μετά από διακοπτόμενη ακτινοβολήση live streaming συνολικής διάρκειας 30 λεπτών ανήλθε στο 1,9% από 1,1% που ήταν στους μάρτυρες. Αντίθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στο ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στα συνεχώς ακτινοβολημένα έντομα σε σύγκριση με τους μάρτυρες, το οποίο ανήλθε στο 2,3% . (πίνακας 3.11,εικόνα 3.9).

Πίνακας 3.11 Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτικών ωοθυλακίων ± το τυπικό σφάλμα όπως ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: $CLS/4d = 30$ λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με live streaming για 4 ημέρες, $DLS/4d = 30$ λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση no streaming για 4 ημέρες, $CTRL =$ Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΟΘΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,1 ± 0,4	–
CLS/4d	2,3 ± 0,5	106
DLS/4d	1,9 ± 0,6	65



Εικόνα 3.9 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **LS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση live streaming, **DLS/4d** = καθημερινή διακοπτόμενη ακτινοβολήση συνολικής διάρκειας 30 λεπτών live streaming **CTRL** = Μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post-hoc για πολλαπλές συγκρίσεις. * $p < 0,05$

Ταυτόχρονη στατιστική σύγκριση μεταξύ των δυο πρωτοκόλλων ακτινοβολήσης και των μαρτύρων με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post –hoc για πολλαπλές συγκρίσεις δεν ανέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των πρωτοκόλλων ακτινοβολήσης παρά μόνο μεταξύ του CLS πρωτοκόλλου με τους μάρτυρες (πίνακας 3.12).

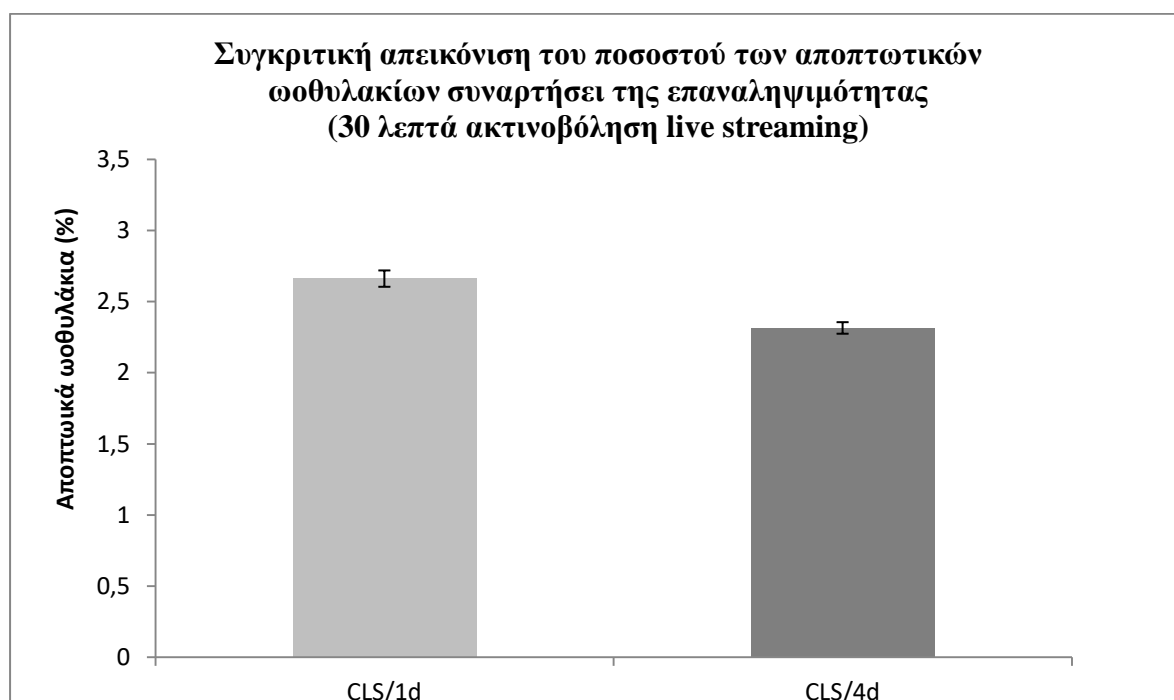
Πίνακας 3.12 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των πρωτοκόλλων live streaming και no streaming 12λεπτής καθημερινής ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την παραμετρική ανάλυση One way analysis of variances (ANOVA) και την προσαρμογή Bonferroni Post-hoc, για πολλαπλές συγκρίσεις. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **CLS/4d** = 30 λεπτά καθημερινή ακτινοβολήση με live streaming, **DLS/4d** = καθημερινή διακοπτόμενη ακτινοβολήση συνολικής διάρκειας 30 λεπτών live streaming, **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ	CTRL	CLS/4d ls	DLS/4d
CTRL		0,011	0,240
CLS/4d	0,011		1,000
DLS/4d	0,240	1,000	

3.1.1.5 Σύγκριση της επίδρασης στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της επαναληψιμότητας και της διαμόρφωσης εκπομπής (πρωτόκολλο 30λεπτης ακτινοβόλησης).

- *Συνεχόμενη live streaming*

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ της συνεχόμενης εφάπαξ ακτινοβόλησης με live streaming σε σχέση με την αντίστοιχη καθημερινή ακτινοβόληση δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στην εφάπαξ ακτινοβόληση έφτανε το 2,7% ενώ στην καθημερινή ακτινοβόληση 2,3% (εικόνα 3.10).

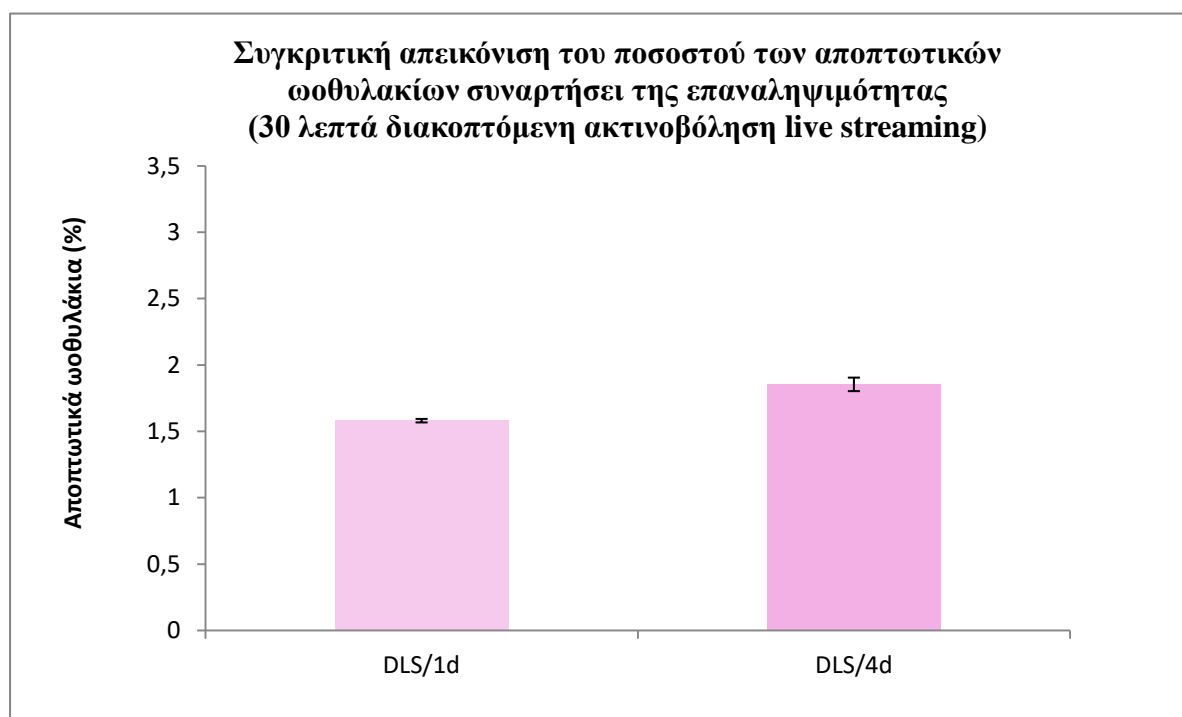


Εικόνα 3.10 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβόλησης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβόλησης απεικονίζονται ως εξής: *CLS/1day* = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβόληση live streaming, *CLS/4days* = 30

λεπτά 4ημερη καθημερινή ακτινοβολήση live streaming. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση Independent T-test.

- **Διακοπτόμενη live streaming**

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ της διακοπτόμενης εφάπαξ ακτινοβολήσης με live streaming (συνολικά 30 λεπτά: 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON), 6 λεπτά διακοπή (OFF), 12 λεπτά ακτινοβολήση (ON)) σε σχέση με την αντίστοιχη καθημερινή ακτινοβολήση δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στην εφάπαξ ακτινοβολήση έφτανε το 1,6% ενώ στην καθημερινή ακτινοβολήση το 1,9% (εικόνα 3.11).

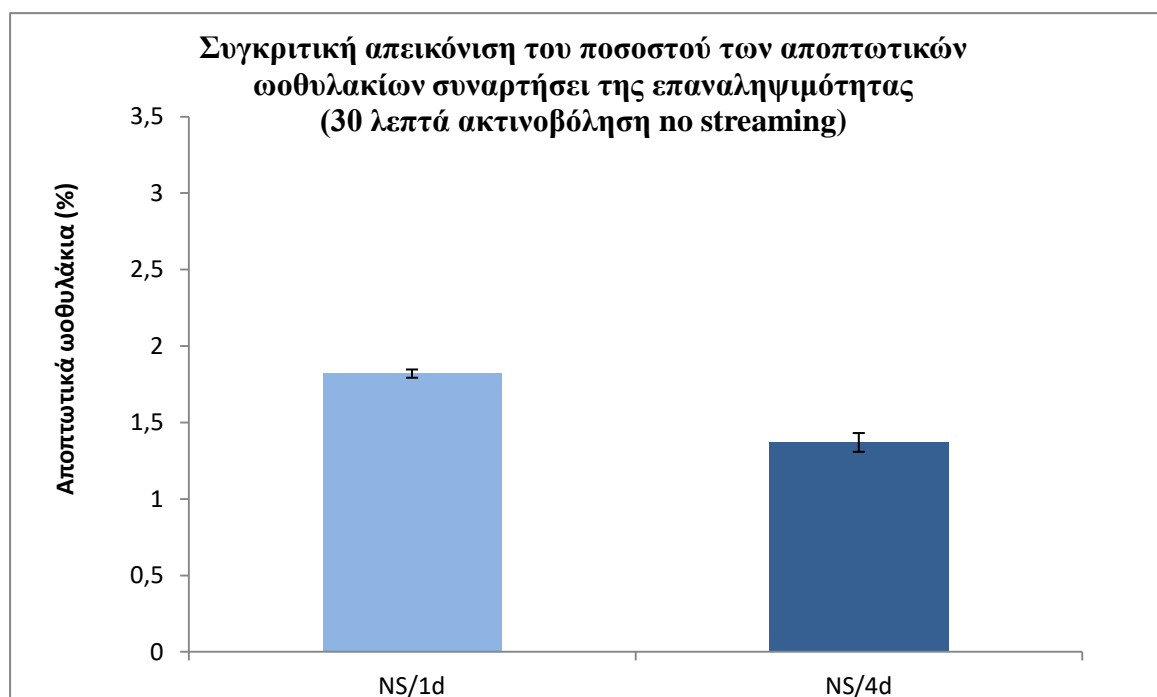


*Εικόνα 3.11. Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **DLS/1day** = 30 λεπτά εφάπαξ διακοπτόμενη ακτινοβολήση live streaming, **DLS/4days** =30 λεπτά 4ημερη καθημερινή διακοπτόμενη ακτινοβολήση live streaming. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση Independent T-test.*

- **No streaming**

Στατιστική επεξεργασία μεταξύ της συνεχόμενης εφάπαξ ακτινοβολήσης χωρίς live streaming σε σχέση με την αντίστοιχη καθημερινή ακτινοβολήση δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Το ποσοστό των αποπτωτικών

ωοθυλακίων στην εφάπαξ ακτινοβολήση έφτανε το 1,8% ενώ στην καθημερινή ακτινοβολήση 1,4% (εικόνα 3.12).



Εικόνα 3.12. Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωοθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: NS/1d = 30 λεπτά εφάπαξ ακτινοβολήση no streaming, NS/4d =30 λεπτά 4ημερη καθημερινή ακτινοβολήση no streaming. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την παραμετρική ανάλυση Independent T-test

3.1.2. Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει του πρωτοκόλλου έκθεσης σε ασύρματο πομποδέκτη, γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και τριοξείδιο του ουρανίου (πilotικά πειράματα)

Πραγματοποιήθηκαν pilotικά πειράματα έκθεσης εντόμων σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ασύρματου πομποδέκτη, γεννήτριας ραδιοσυχνοτήτων και τριοξείδιο του ουρανίου. Τα πρωτόκολλα έκθεσης είχαν ως εξής:

- **Ασύρματος πομποδέκτης (walkie-talkie):** εφάπαξ διακοπτόμενη ακτινοβολήση (20secs ON-10secs OFF) συνολικής διάρκειας 30 λεπτών
- **Γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων:** εφάπαξ ακτινοβολήση σε συχνότητα 900MHz για διάρκεια 30 λεπτών.

- **Τριοξειδίο του ουρανίου:** καθημερινή ακτινοβολήση για 5 ημέρες διάρκειας 30 λεπτών

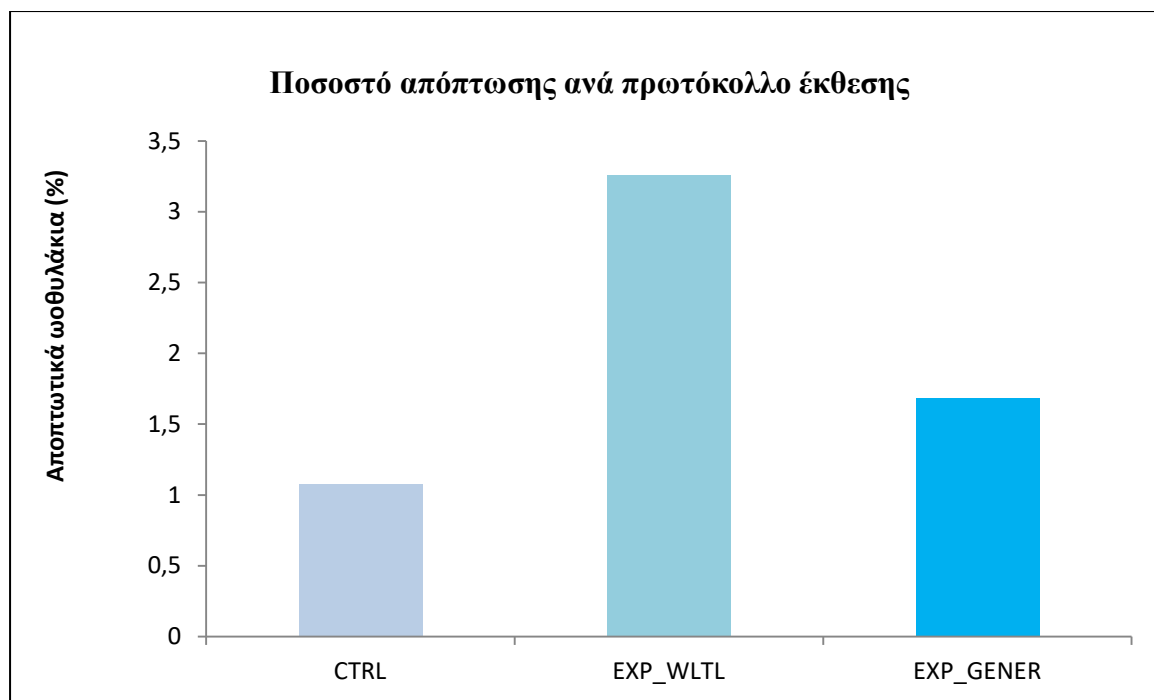
Τα αποτελέσματα για κάθε πρωτόκολλο παρατίθενται στις επόμενες παραγράφους.

3.1.2.1 Επίδραση στην απόπτωση του πρωτοκόλλου έκθεσης του ασύρματου πομποδέκτη και της γεννήτριας ραδιοσυχνοτήτων

Παρατηρήθηκε αύξηση του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων μετά από έκθεση στον ασύρματο πομποδέκτη σε σχέση με το μάρτυρα. Το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στο μάρτυρα ήταν 1,1% ενώ μετά τη διακοπτόμενη έκθεση στον ασύρματο πομποδέκτη για 30 λεπτά συνολικά το ποσοστό έφτασε το 3,3 (αύξηση κατά 203%). Αντίστοιχα, παρατηρήθηκε μεταβολή στο ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων και μετά από 30 λεπτά έκθεση σε γεννήτρια με συχνότητα 900MHz, με το ποσοστό να αυξάνεται στο 1,7% (αύξηση κατά 56%) έναντι του 1,1% του μάρτυρα (πίνακας 3.13, εικόνα 3.13). Λόγω του ότι τα πειράματα αυτά ήταν πιλοτικά, προκειμένου να γίνει στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων θα πρέπει να γίνει επανάληψη των πειραμάτων.

Πίνακας 3.14 Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτωτικών ωοθυλακίων ± το τυπικό σφάλμα που ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του κάθε πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και ασύρματο πομποδέκτη. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: EXP_WLTL= 30 λεπτά ακτινοβολήση με ασύρματο πομποδέκτη (walkie talkie – WLTL) EXP_GENer = 30 λεπτά ακτινοβολήση με γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων (generator-GEN), CTRL=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΟΘΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	1,1 ± 0,3	–
WLTL/1d	3,3 ± 1,3	203
GEN/1d	1,7 ± 0,2	56



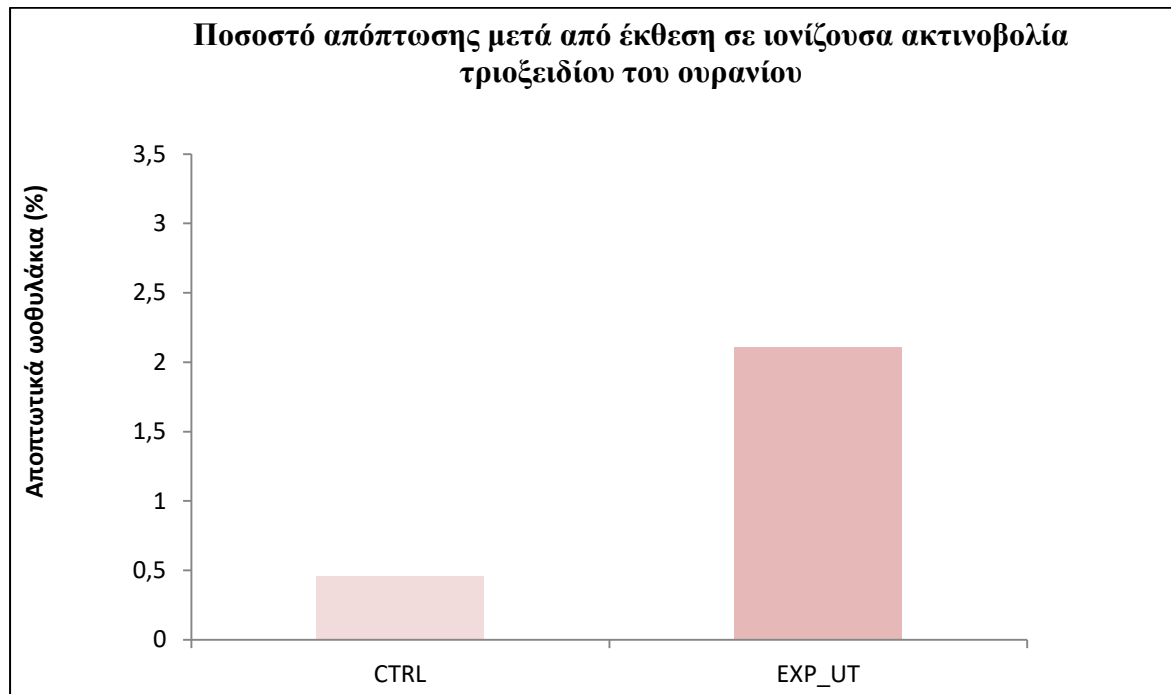
Εικόνα 3.13. Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και ασύρματο πομποδέκτη., **CTRL**=Μάρτυρες, **EXP_WLTL**= 30 λεπτά; Ακτινοβολήση με ασύρματο πομποδέκτη (walkie talkie WLTL), **EXP_GENER** = 30 λεπτά ακτινοβολήση με γ εννήτρια ραδιοσυχνοτήτων – συχνότητα $f= 900$ MHz.

3.1.2.2 Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση του τριοξειδίου του ουρανίου

Παρατηρήθηκε αύξηση του ποσοστού των αποπτωτικών ωσθυλακίων στην έκθεση με τριοξείδιο του ουρανίου μετά από 5ημερη ακτινοβολήση για 30 λεπτά καθημερινά σε σχέση με τον μάρτυρα. Συγκεκριμένα, το ποσοστό της απόπτωσης από 0,45% του μάρτυρα έφτασε το 2,1% στο εκτεθειμένο δείγμα (αύξηση κατά 362%) (πίνακας 3.14, εικόνα 3.14). Λόγω του ότι το πείραμα αυτό ήταν επίσης πιλοτικό, προκειμένου να γίνει στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων θα πρέπει να επαναληφθεί περισσότερες φορές.

Πίνακας 3.14. Παράθεση του Μ.Ο. (Μέσος Όρος) του ποσοστού των αποπτικών ωσθυλακίων \pm το τυπικό σφάλμα όπως ανιχνεύθηκαν 4 ώρες μετά το τέλος του πρωτοκόλλου ακτινοβολήσης με τριοξείδιο του ουρανίου. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό αύξησης στα ακτινοβολημένα έντομα, συγκριτικά με τα μη ακτινοβολημένα. Τα πρωτόκολλα ακτινοβολήσης απεικονίζονται ως εξής: **EXP_UT**= 30 λεπτά ακτινοβολήση καθημερινά για 5 ημέρες με τριοξείδιο του ουρανίου (uranium trioxide – UT), **CTRL**=Μάρτυρες.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	% ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΑ ΩΘΟΥΛΑΚΙΑ	% ΑΥΞΗΣΗ
CTRL	0,45 ± 0,6	–
EXP_UT	2,1 ± 0,03	362



Εικόνα 3.14 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των ποσοστών των αποπτωτικών ωσθυλακίων, 4 ώρες μετά από κάθε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με τριοξείδιο του ουρανίου, **EXP_UT**= 30 λεπτά ακτινοβολήση καθημερινά για 5 ημέρες με τριοξείδιο του ουρανίου (*uranium trioxide* – **UT**), **CTRL**=Μάρτυρες

3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΚΟΛΛΑΨΙΜΟΤΗΤΑ ΤΗΣ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Για τη μελέτη της επίδρασης της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην αναπαραγωγική ικανότητα της *Drosophila melanogaster* σχεδιάστηκε πρωτόκολλο ακτινοβολήσης με πηγή το ασύρματο δίκτυο WiFi. Αναλυτικότερα, τα έντομα συλλέχθηκαν 2-4 ώρες μετά την έκδυσή τους και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, τα ακτινοβολημένα και τους μάρτυρες. Επίσης διαχωρίστηκαν σε αρσενικά και θηλυκά και διατηρήθηκαν σε ξεχωριστούς σωλήνες καλλιέργειας. Τα έντομα που ανήκαν στην ομάδα των μαρτύρων παρέμειναν στο

δωμάτιο καλλιέργειας πληθυσμού ενώ τα έντομα της ομάδας των ακτινοβολημένων μεταφέρθηκαν σε ειδικό κλίβανο καλλιέργειας με τις ίδιες συνθήκες όπως το δωμάτιο καλλιέργειας. Εκεί παρέμειναν για 4 ημέρες συνεχόμενα (24 ώρες το 24ώρο) υπό την έκθεση του ασύρματου δικτύου WiFi (χωρίς ροή δεδομένων). Την 4^η ημέρα πραγματοποιήθηκε διασταύρωση των εντόμων χωρίς παρουσία ακτινοβολίας και την επόμενη ημέρα απομακρύνθηκαν και τα δυο φύλα. Για το χρονικό διάστημα της διασταύρωσης αλλά και για τη διάρκεια καταμέτρησης των χρυσαλίδων και των εντόμων αργότερα, οι σωλήνες καλλιέργειας παρέμειναν στο δωμάτιο καλλιέργειας, προστατευμένοι από περαιτέρω ακτινοβολία. Οι διασταυρώσεις της πατρικής γενιάς σε κάθε σωλήνα καλλιέργειας γίνονταν ως εξής:

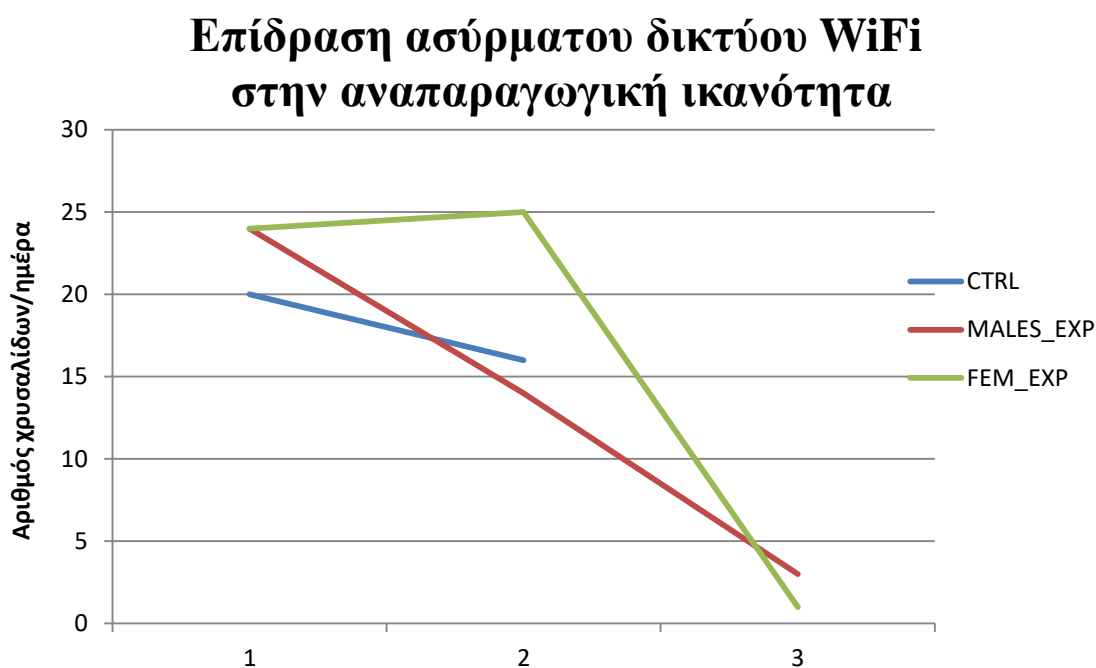
- 1 ακτινοβολημένο θηλυκό x 1 μάρτυρα αρσενικό
- 1 μάρτυρα θηλυκό x 1 ακτινοβολημένο αρσενικό
- 1 μάρτυρα θηλυκό x 1 μάρτυρα θηλυκό

Ο κύκλος ζωής της *Drosophila* διαρκεί περί τις 10 ημέρες (Βλέπε Εισαγωγή, Παράγραφος 1.10). Ως 1^η ημέρα ορίζεται η ημέρα εναπόθεσης του γονιμοποιημένου αυγού όπου και ξεκινάει το στάδιο της εμβρυογένεσης. Η εμβρυογένεση διαρκεί 24 ώρες όπου το αυγό εκκολάπτεται και δίνει μία προνύμφη, η οποία θα περάσει από τρία διαφορετικά στάδια ανάπτυξης (διάρκεια 3 ημέρες) μέχρι να σχηματιστεί η χρυσαλίδα. Στο στάδιο της χρυσαλίδας η νύμφη έχει κολλήσει στο τοίχωμα του σωλήνα καλλιέργειας και έχει σχηματίσει ένα σκληρό κουκούλι γύρω της, το οποίο την προστατεύει κατά τη διάρκεια της μεταμόρφωσης της σε τέλειο έντομο μετά από 3-4 ημέρες. Μετά την έκδυση τα πρώτα ώριμα αυγά προς γονιμοποίηση δημιουργούνται στις 3-4 ημέρες, ολοκληρώνοντας έτσι τον 10ημερο κύκλο ζωής και ξεκινώντας έναν καινούριο.

Στο πείραμα αυτό μελετήθηκε η επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα της *Drosophila*, μέσω της καθημερινής καταμέτρησης των χρυσαλίδων στα τοιχώματα των σωληναρίων καλλιέργειας καθώς και στην εκκολαψιμότητα, μέσω της καθημερινής καταμέτρησης των νεοεκδυθέντων εντόμων μέχρι την ημέρα όπου δεν εκδύονταν καινούρια. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρατίθενται παρακάτω.

3.2.1. Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα

Έντομα 2-4 ώρες μετά την έκδυσή τους συλλέχθηκαν και ακτινοβολήθηκαν για 4 ημέρες συνεχόμενα, αφού είχαν διαχωριστεί σε αρσενικά και θηλυκά. Τα θηλυκά τοποθετήθηκαν και σε ξεχωριστά μπουκαλάκια το καθένα. Στη συνέχεια διασταυρώθηκαν τα αρσενικά και τα θηλυκά μεταξύ τους (1 αρσενικό x 1 θηλυκό έντομο ανά σωλήνα καλλιέργειας), σύμφωνα με τις συνθήκες διασταύρωσης που προαναφέρθηκαν. Μετά από 24 ώρες τα ενήλικα έντομα απομακρύνθηκαν και το δοχείο καλλιέργειας μεταφέρθηκε από το θάλαμο που βρισκόταν η πηγή ΗΜΑ στο δωμάτιο σταθερών συνθηκών όπου και παρέμεινε προστατευμένο από περαιτέρω έκθεση σε ΗΜΑ. Τρεις με τέσσερις μέρες μετά την διασταύρωση εμφανίστηκαν οι πρώτες χρυσαλίδες και καταμετρήθηκαν για 2-3 ημέρες συνολικά σε όλες τις συνθήκες πατρικής γενιάς, αφότου και σταμάτησαν να εμφανίζονται καινούριες. Στην **εικόνα 3.15** παρατίθεται γραμμική απεικόνιση της εμφάνισης χρυσαλίδων συναρτήσει του χρόνου (ανά ημέρα) και της συνθήκης της πατρικής γενιάς στο τελευταίο από τα πειράματα αναπαραγωγικής ικανότητας που πραγματοποιήθηκαν.

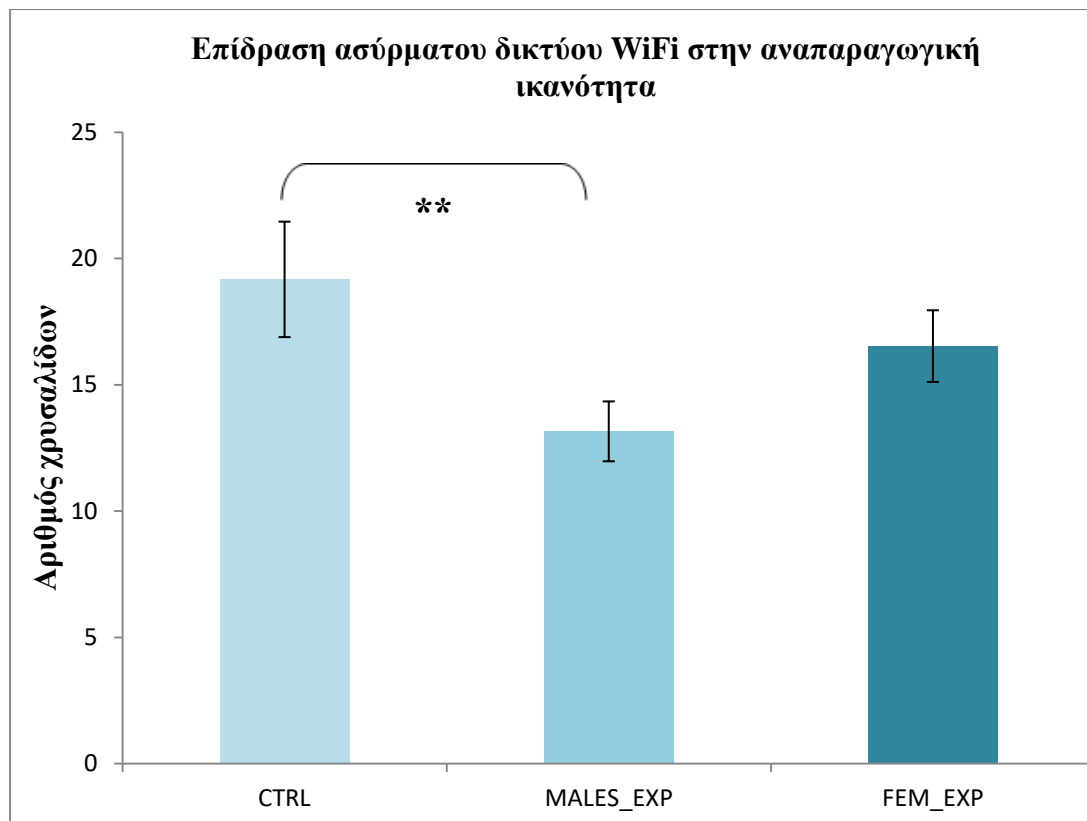


Εικόνα 3.15. Γραμμική αναπαράσταση χρονικής εμφάνισης χρυσαλίδων ανά ημέρα και ανά συνθήκη πατρικής γενιάς μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολήση με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό στην πατρική, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό στην πατρική, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό.

Συνολικά, καταμετρήθηκε ο αριθμός των χρυσαλίδων ανά συνθήκη διασταύρωσης πατρικής γενιάς και βρέθηκε μείωση του αριθμού των χρυσαλίδων κατά 32 %, μετά από διασταύρωση ακτινοβολημένου αρσενικού εντόμου με μη ακτινοβολημένο θηλυκό συγκριτικά με τον αριθμό που προέκυψε από τη διασταύρωση της πατρικής γενιάς των μη ακτινοβολημένων εντόμων. Επίσης, μείωση κατά 14 % σημειώθηκε μετά από τη διασταύρωση ακτινοβολημένου θηλυκού με μάρτυρα-αρσενικό έντομο(πίνακας 3.15, εικόνα 3.15).

Πίνακας 3.15 Παράθεση του μέσου όρου \pm το τυπικό σφάλμα χρυσαλίδων όπως καταμετρήθηκαν ανά δείγμα μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολήση με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό μεταβολής συγκριτικά με το δείγμα μάρτυρα. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό της πατρικής, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό έντομο της πατρικής, **CTRL** = μάρτυρας – μη ακτινοβολημένο θηλυκό και αρσενικό έντομο.

ΣΥΝΘΗΚΗ	Μ.Ο. ΧΡΥΣΑΛΙΔΩΝ	% ΜΕΤΑΒΟΛΗ
CTRL	19 \pm 10	–
MALES_EXP	13 \pm 9	- 32
FEM_EXP	17 \pm 9	- 14



Εικόνα 3.16. Ραβδόγραμμα απεικόνισης των χρυσαιλίδων $M.O \pm$ τυπικό σφάλμα όπως καταμετρήθηκαν ανά δείγμα μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολήση με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό της πατρικής, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό της πατρικής, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$.

Στατιστική επεξεργασία πολλαπλών συγκρίσεων με τη μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis μεταξύ των δειγμάτων ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην περίπτωση όπου ήταν ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό έντομο σε σχέση με το μάρτυρα (**πίνακας 3.16**).

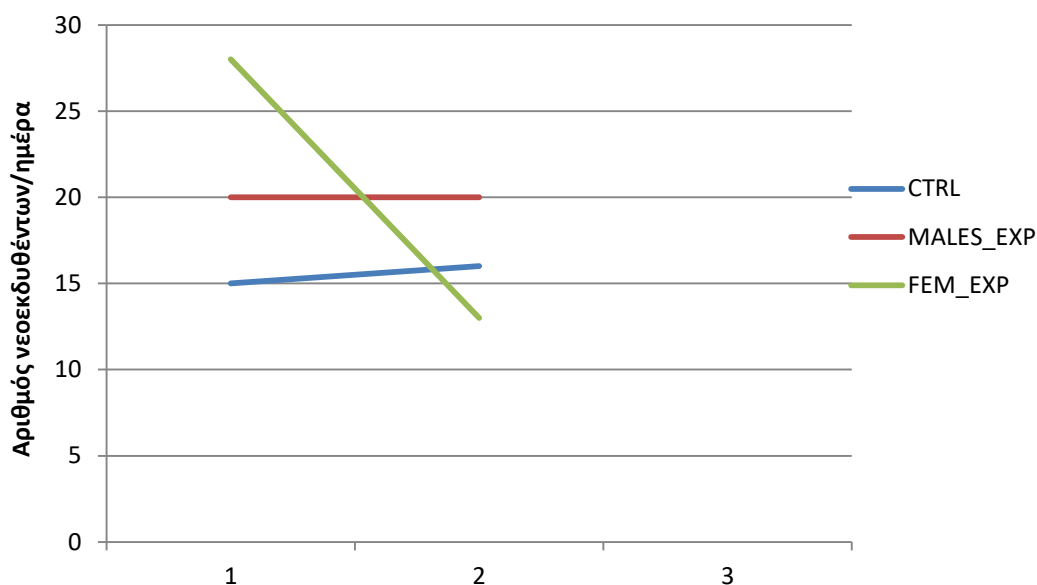
Πίνακας 3.16. Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολήση με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με τη μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALESEXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό στην πατρική, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό στην πατρική, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ	CTRL	MALES_EXP	FEM_EXP
CTRL		0,011	0,227
MALES_EXP	0,011		0,104
FEM_EXP	0,227	0,104	

3.2.2. Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην εκκολαψιμότητα χρυσαλίδων

Σε συνέχεια της προηγούμενης μελέτης, καταμετρήθηκε ο αριθμός των νεοεκδυθέντων εντόμων από τις χρυσαλίδες που μετρήθηκαν στο προηγούμενο στάδιο. Συγκεκριμένα, τα πρώτα άτομα άρχισαν να εμφανίζονται περίπου 6-7 ημέρες από την ημέρα διασταύρωσης και 4 ημέρες μετά την εμφάνιση της πρώτης χρυσαλίδας σε όλες τις συνθήκες πατρικής γενιάς. Τα νεοεκδυθέντα έντομα καταμετρήθηκαν για 3-4 ημέρες συνολικά σε όλα τα δείγματα, αφότου και σταμάτησαν να εμφανίζονται καινούρια έντομα. Στην **εικόνα 3.17** παρατίθεται γραμμική απεικόνιση ης εμφάνισης νεοεκδυθέντων ατόμων συναρτήσει του χρόνου (ανά ημέρα) και της συνθήκης της πατρικής γενιάς, για το ίδιο πείραμα που απεικονίζεται ο αριθμός των χρυσαλίδων στην **εικόνα 3.15**.

Επίδραση ασύρματου δικτύου WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα



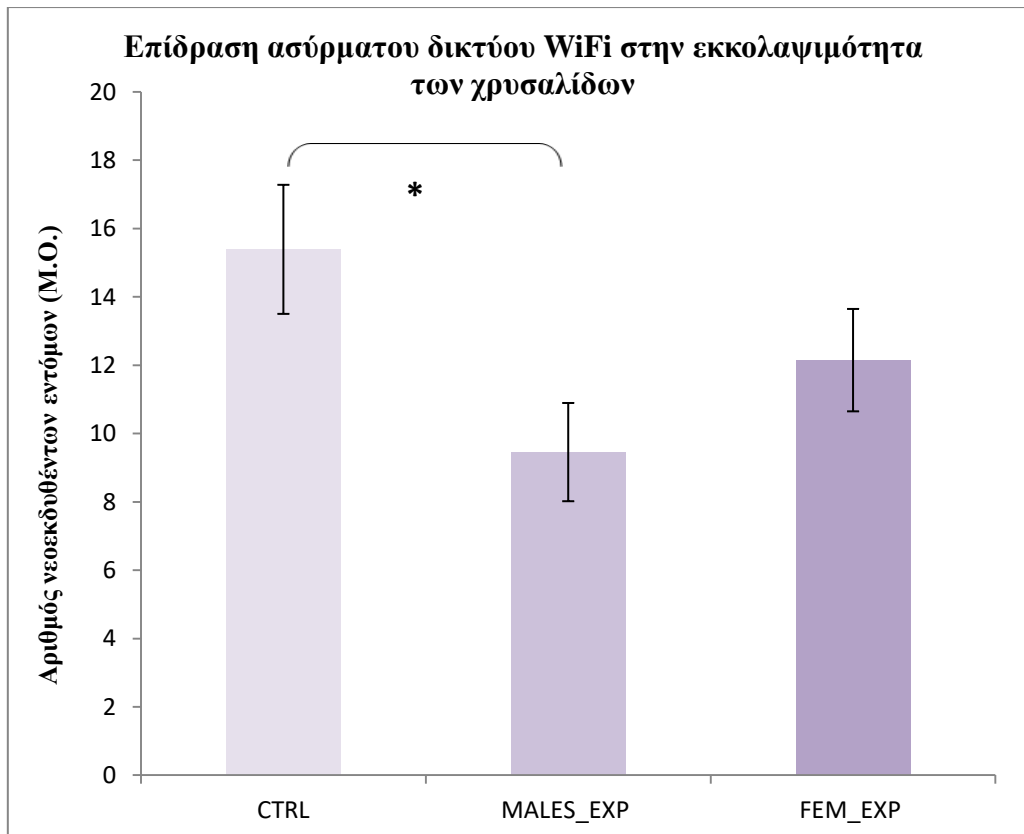
Εικόνα 3.17. Γραμμική αναπαράσταση χρονικής εμφάνισης νεοεκδυθέντων εντόμων ανά ημέρα και ανά δείγμα μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολία με ασύρματο δίκτυο WiFi. Τα δείγματα

απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό στην πατρική, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό στην πατρική, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό.

Συνολικά, καταμετρήθηκε ο αριθμός των νεοεκδυθέντων εντόμων ανά δείγμα και βρέθηκε μείωση του αριθμού αυτών, κατά 38 %, στη συνθήκη όπου ήταν ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό έντομο σε σύγκριση με το μάρτυρα. Επίσης, παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού των νεοεκδυθέντων εντόμων και στη συνθήκη όπου ήταν ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό έντομο κατά 21 % σε σύγκριση με το μάρτυρα (πίνακας 3.17, εικόνα 3.18).

Πίνακας 3.18 Παράθεση του μέσου όρου \pm το τυπικό σφάλμα του αριθμού των νεοεκδυθέντων εντόμων, όπως καταμετρήθηκαν ανά δείγμα μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολή με ασύρματο δίκτυο WiFi. Δίνεται επίσης το αντίστοιχο ποσοστό μεταβολής συγκριτικά με του μάρτυρα. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό στην πατρική, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό στην πατρική, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	Μ.Ο. ΝΕΟΕΚΔΥΘΕΝΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ	% ΜΕΤΑΒΟΛΗ
CTRL	15 \pm 9	–
MALES_EXP	9 \pm 7	- 38
FEM_EXP	12 \pm 7	- 21



Εικόνα 3.18 Ραβδόγραμμα απεικόνισης των νεοεκδυθέντων εντόμων όπως καταμετρήθηκαν ανά δείγμα μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολή με ασύρματο δίκτυο WiFi. Οι συνθήκες πατρικής γενιάς απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό της πατρικής, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό της πατρικής, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό. Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$.

Στατιστική επεξεργασία πολλαπλών συγκρίσεων μεταξύ των δειγμάτων ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων όπου ήταν ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό έντομο σε σχέση με το μάρτυρα (πίνακας 3.18). Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της αναπαραγωγικής ικανότητας.

Πίνακας 3.18 Παράθεση των επιπέδων σημαντικότητας (τιμές p) μετά από στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δειγμάτων μετά από 4ημερη συνεχόμενη ακτινοβολή με ασύρματο δίκτυο WiFi. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με την μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis T-test. Τα δείγματα απεικονίζονται ως εξής: **MALES_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το αρσενικό της πατρικής, **FEM_EXP** = ακτινοβολημένο μόνο το θηλυκό της πατρικής, **CTRL** = μάρτυρας - μη ακτινοβολημένα θηλυκό και αρσενικό.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ	CTRL	MALES_EXP	FEM_EXP
CTRL		0,002	0,089
MALES_EXP	0,002		0,080
FEM_EXP	0,089	0,080	

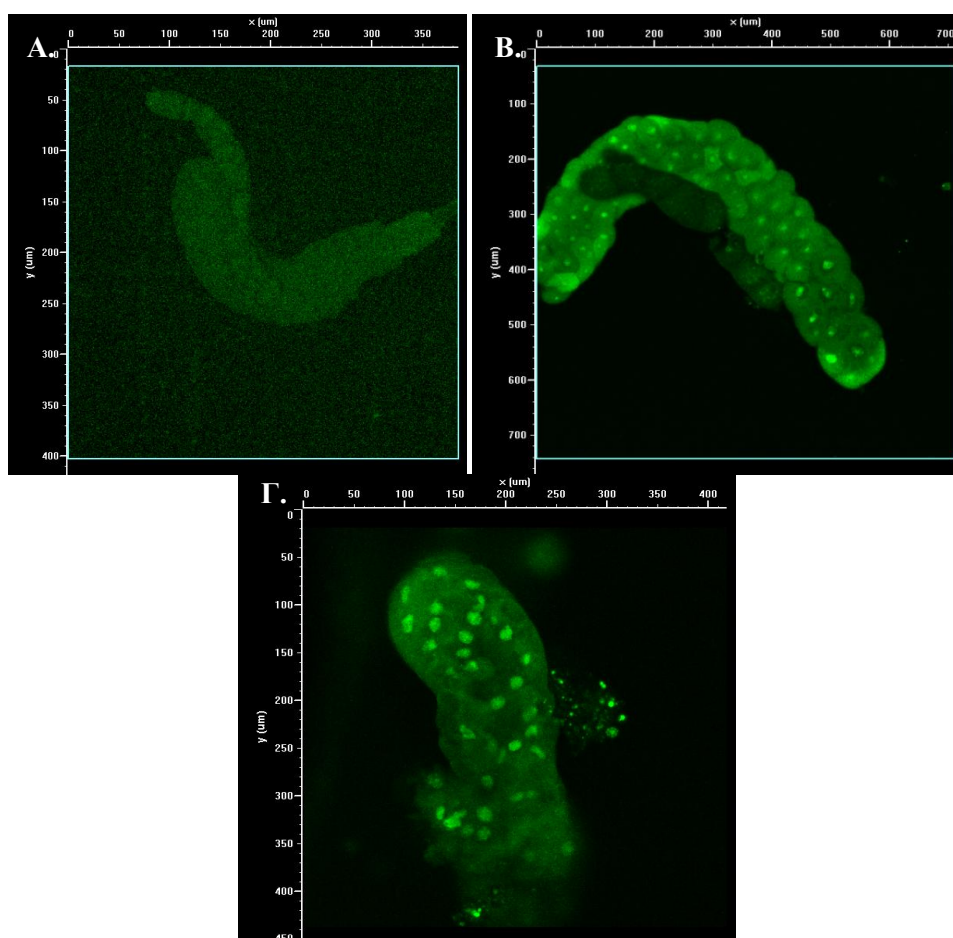
3.3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΠΑΓΩΓΗΣ ΣΤΡΕΣ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ (ER STRESS)

Με σκοπό την ανίχνευση πιθανής επαγωγής του ER Stress μετά από την επίδραση της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκαν διαγονιδιακά στελέχη και το γενετικό σύστημα UAS/GAL4. Συγκεκριμένα, στέλεχος, το οποίο έφερε το γονίδιο για το μεταγραφικό παράγοντα GAL4 κάτω από τον έλεγχο του υποκινητή της κυτταροσκελετικής πρωτεΐνης αρμαντίλο (armadillo), η οποία εκφράζεται καθολικά, διασταυρώθηκε με στέλεχος που έφερε τον παράγοντα Xbp1 συζευγμένο με τη φθορίζουσα πράσινη πρωτεΐνη GFP κάτω από τον έλεγχο υποκινητή, ο οποίος έφερε την αλληλουχία πρόσδεσης του GAL4 (UAS αλληλουχία). Σε φυσιολογικές συνθήκες το χμαιρικό γονίδιο Xbp1- GFP δε μεταφράζεται και κατά συνέπεια δεν παράγεται η πρωτεΐνη. Σε συνθήκες όμως στρες όπου υπάρχει η ενεργοποίηση του μηχανισμού για την αντιμετώπιση του στρες του ΕΔ και πραγματοποιείται η αφαίρεση των 26 νουκλεοτιδίων από το mRNA του Xbp1 το χμαιρικό γονίδιο εκφράζεται και η GFP προϊόντος του χρόνου εντοπίζεται στον πυρήνα. Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε το κινητό τηλέφωνο και η ακτινοβολία πραγματοποιήθηκε *in vitro* σε σιελογόνους αδένες προνυμφών σταδίου 3 στους οποίους είχε επιτευχθεί η υπερέκφραση του χμαιρικού γονιδίου Xbp1-GFP, στους σωματικούς ιστούς. Οι σιελογόνοι αδένες αποτελούν ιδανικό σύστημα για οπτική παρατήρηση καθώς αποτελούνται από μεγάλα κύτταρα με ευδιάκριτους πυρήνες.

Ως θετικός μάρτυρας επαγωγής του ER Stress χρησιμοποιήθηκε η ουσία DTT, η οποία προκαλεί οξειδωση και αναδιάταξη των δισουλφιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες και γενικά εμποδίζει τη δημιουργία γεφυρών θείου μεταξύ των καταλοίπων κυστεΐνης, με αποτέλεσμα να μην επιτρέπει τη σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών.

Μετά από μία ώρα *in vitro* ακτινοβολίας παρατηρήθηκε επαγωγή του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου στους σιελογόνους αδένες . Στην περίπτωση της

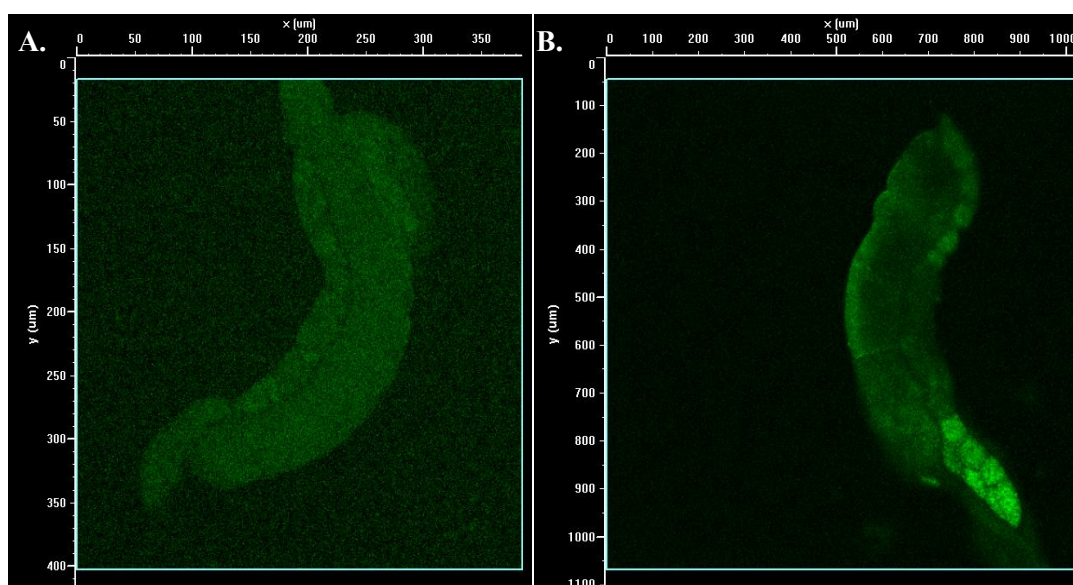
απουσίας της HMA αλλά και του DTT δεν εντοπίστηκε θετικό σήμα φθορισμού στους πυρήνες των κυττάρων των σιελογόνων αδένων (εικόνα 3.19A). Αντίθετα, η παρουσία ακτινοβολίας προκάλεσε επαγωγή του ER Stress στους εκτεθειμένους σιελογόνους, καθώς ο παράγοντας Xbp1, που ήταν συζευγμένος με GFP, εντοπίστηκε στους πυρήνες των κυττάρων (Εικόνα 3.19Γ). Θετικό πυρηνικό σήμα φθορισμού εμφανίστηκε και στους θετικούς μάρτυρες, μετά την επίδραση του DTT (Εικόνα 3.19B).



Εικόνα 3.19: Φωτογραφίες από Συνεστιακό Μικροσκόπιο Laser σιελογόνων που απομονώθηκαν από **A.** αρνητικούς μάρτυρες, προστατευμένους από την ακτινοβολία και τον οξειδωτικό παράγοντα DTT, **B.** θετικούς μάρτυρες, οι οποίοι επώαστηκαν για 1 ώρα με 500 μ M DTT και **Γ.** *in vitro* ακτινοβολημένους για μία ώρα σιελογόνους. Είναι εμφανές το θετικό σήμα φθορισμού στο θετικό μάρτυρα αλλά και στο ακτινοβολημένο δείγμα.

Για να μελετήσουμε τον χρονισμό του φαινομένου επαγωγής του ER stress από την ακτινοβολία κινητού τηλεφώνου πραγματοποιήθηκαν και πειράματα με μικρότερο χρόνο έκθεσης και διαφορετικά διαστήματα αναμονής μέχρι την

παρατήρηση των δειγμάτων στο Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε *in vitro* έκθεση των σιελογόνων αδένων για 30 λεπτά και άμεση παρατήρηση στο Συνεστιακό Μικροσκόπιο καθώς και *in vitro* έκθεση για 30 λεπτά και μικροσκοπική παρατήρηση μετά από 30 λεπτά. Σε κανένα από τα δύο αυτά πρωτόκολλα δεν παρατηρήθηκε θετικό σήμα φθορισμού στον πυρήνα των κυττάρων των σιελογόνων αδένων (εικόνα 3.20A-B). Συνεπώς, η επαγωγή του στρες του ΕΔ είναι εξαρτώμενη του χρόνου έκθεσης στην ΗΜΑ κινητού τηλεφώνου και δεν προκαλείται σε διαστήματα έκθεσης μικρότερα της μίας ώρας



Εικόνα 3.20.: Φωτογραφίες από Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser σιελογόνων που απομονώθηκαν από λάρβες 3ου αναπτυξιακού σταδίου **A.** σιελογόνοι ακτινοβολημένοι για 30 λεπτά, στους οποίους η παρατήρηση πραγματοποιήθηκε αμέσως. **B.** σιελογόνοι ακτινοβολημένοι για 30 λεπτά στους οποίους η παρατήρηση πραγματοποιήθηκε 30 λεπτά μετά το τέλος της ακτινοβολήσης. Είναι εμφανής η απουσία θετικού φθορίζοντος σήματος στους πυρήνες των σιελογόνων και των δύο συνθηκών.

3.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης της ακτινοβολίας στη βιωσιμότητα των θηλυκών και αρσενικών εντόμων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω 6 στελέχη *Drosophila melanogaster*:

7. Φυσικού τύπου (Wild Type – WT), Oregon R
8. *Dmp53*^{-/-} μεταλλαγμένο στέλεχος, στο οποίο απουσιάζει ο μεταγραφικός παράγοντας *Dmp53*

9. Διαγονιδιακό στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Catalase, στο οποίο υπερεκφράζεται η καταλάση σε όλους τους σωματικούς ιστούς των εντόμων
10. Διαγονιδιακό στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1, στο οποίο υπερεκφράζεται το χμαιοικό γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 (που σχετίζεται με την ενεργοποίηση του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου) και της GFP πρωτεΐνης σε όλους τους σωματικούς ιστούς των εντόμων.
11. Διαγονιδιακό στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Catalase, στο οποίο υπερεκφράζεται η καταλάση στο νευρικό ιστό των εντόμων
12. Διαγονιδιακό στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Xbp1, στο οποίο υπερεκφράζεται το χμαιοικό γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 (που σχετίζεται με την ενεργοποίηση του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου) και της GFP πρωτεΐνης στο νευρικό ιστό των εντόμων

Η στατιστική επεξεργασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω σύγκρισης των καμπυλών επιβίωσης με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Log-Rank ή Breslow, κατά περίπτωση.

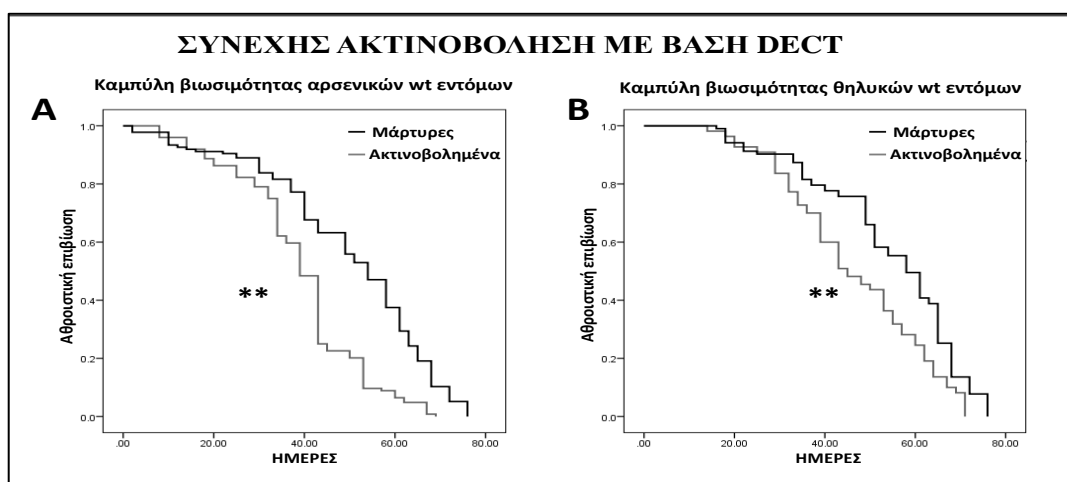
Για όλα τα πειράματα βιωσιμότητας έγινε συλλογή περισσότερων από 100 νεοεκδυθέντων εντόμων (2 – 4 ώρες μετά την έκδυση) τα οποία καλλιεργήθηκαν στους κλιβάνους καλλιέργειας σταθερών συνθηκών. Το πρωτόκολλο ακτινοβολίας που χρησιμοποιήθηκε ήταν η συνεχής δια βίου έκθεση των εντόμων με τη βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT. Τα έντομα, δηλαδή, ακτινοβολούνταν 24 ώρες το 24ώρο για όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Παράλληλα με την ομάδα των ακτινοβολημένων εντόμων στους κλιβάνους καλλιέργειας, διατηρούνταν στο δωμάτιο καλλιέργειας αντίστοιχα έντομα-μάρτυρες.

Το πρωτόκολλο αυτό εφαρμόστηκε σε δύο συνθήκες καλλιέργειας, η διαφορά των οποίων έγκειτο στο θρεπτικό μέσο. Πιο αναλυτικά, τα έντομα καλλιεργήθηκαν σε πλήρη θερμιδικά τροφή και σε χαμηλή θερμιδικά τροφή (*βλέπε Κεφάλαιο Υλικά & Μέθοδοι*), στην οποία είχαν αφαιρεθεί τα συστατικά ντομάτα και άνθος ορούζης.

3.4.1. Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου DECT στη βιωσιμότητα φυσικού τύπου (WT) εντόμων συναρτήσει του μέσου καλλιέργειας.

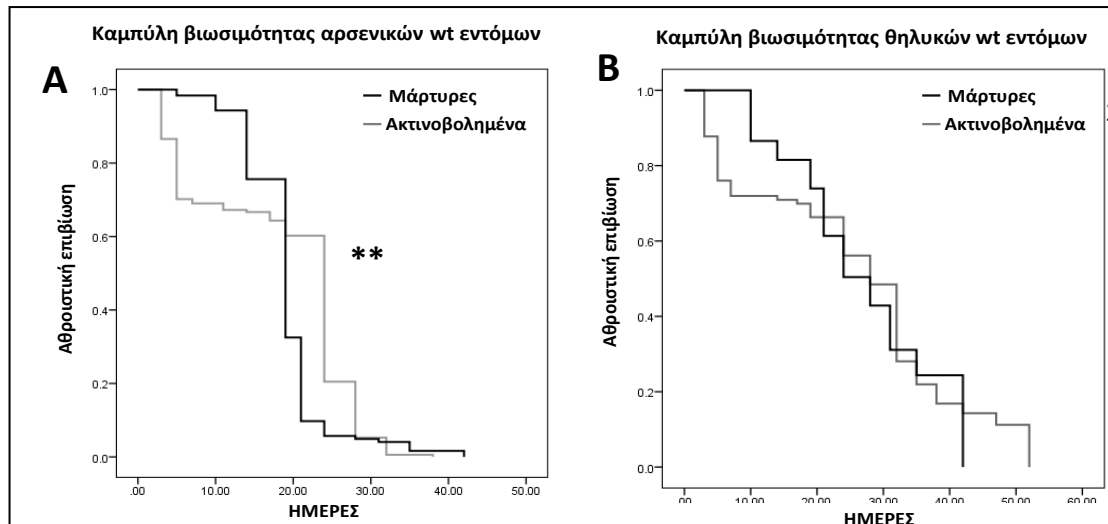
Συνεχής δια βίου έκθεση σε παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας των

αρσενικών και των θηλυκών WT εντόμων που αναπτύχθηκαν στην πλήρη θερμιδικά τροφή. Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων είχαν πεθάνει μέχρι τις 39 ημέρες, ενώ των μαρτύρων μέχρι τις 50 (Εικόνα 3.21A). Στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας παρατηρήθηκε και στα θηλυκά έντομα, όπου το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών είχε πεθάνει μέχρι τις 47 ημέρες, συγκριτικά με τους μάρτυρες που το αντίστοιχο ποσοστό είχε πεθάνει μέχρι τις 54 ημέρες (Εικόνα 3.21B).



Εικόνα 3.21: Καμπύλες βιωσιμότητας **A.** αρσενικών και **B.** θηλυκών wt εντόμων, με μέσο καλλιέργειας την πλήρη θερμιδικά τροφή, στις οποίες φαίνεται η μείωση που προκλήθηκε στη μακροβιότητα των ακτινοβολημένων συγκριτικά με τους μάρτυρες, μετά από συνεχή έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Log-Rank, $**p < 0,001$.

Σε αντίθεση με την πλήρη θερμιδικά τροφή, η καλλιέργεια των εντόμων στη χαμηλή σε θερμίδες, στην οποία είχαν αφαιρεθεί τα αντιοξειδωτικά στοιχεία, προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της βιωσιμότητας στα αρσενικά ακτινοβολημένα έντομα έναντι των μη ακτινοβολημένων (εικόνα 3.22A). Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων έζησαν μέχρι τις 18 ημέρες, ενώ των μαρτύρων μέχρι τις 19. Η μέγιστη επιβίωση ήταν 38 και 42 ημέρες, αντίστοιχα για τα ακτινοβολημένα και μη ακτινοβολημένα έντομα. Η χαμηλή θερμιδικά τροφή φάνηκε να ενισχύει την επιβίωση των ακτινοβολημένων εντόμων και στην περίπτωση των θηλυκών, στα οποία δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της επιβίωσης των ακτινοβολημένων και μη εντόμων (εικόνα 3.22B).

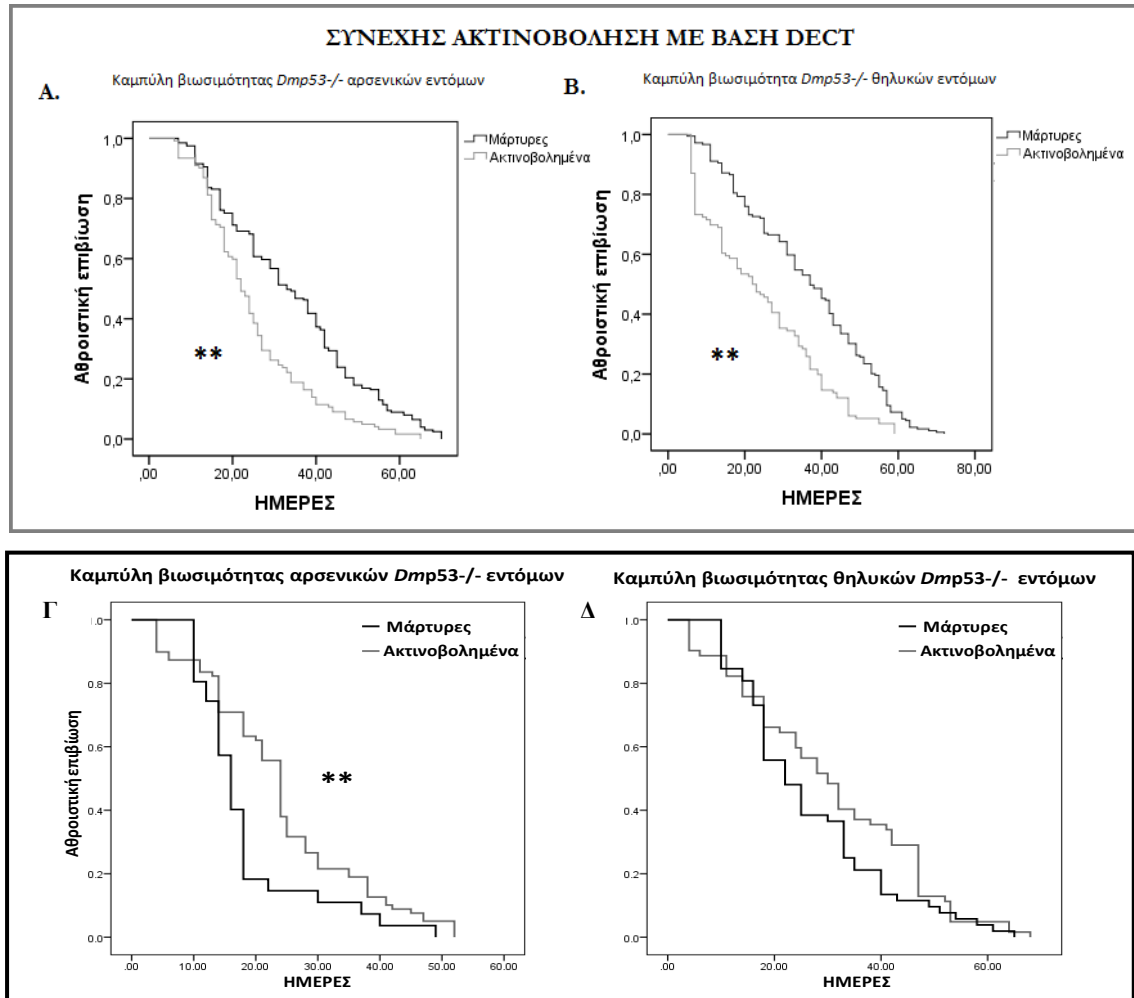


Εικόνα 3.22: Καμπύλες βιωσιμότητας **A.** αρσενικών και **B.** θηλυκών wt εντόμων, που καλλιεργήθηκαν σε χαμηλή θερμιδικά τροφή, υπό συνεχή έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Breslow, $**p < 0,001$.

3.4.2 Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου στη βιωσιμότητα των *Dmp53^{-/-}* μεταλλαγμένων εντόμων συναρτήσει του μέσου καλλιέργειας

Με σκοπό τη μελέτη του ρόλου του μεταγραφικού παράγοντα p53 της ακτινοεπαγόμενης μείωσης στο προσδόκιμο ζωής των εντόμων χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες συνθήκες καλλιέργειας με τα φυσικού τύπου έντομα και εφαρμόστηκε το ίδιο πρωτόκολλο ακτινοβολήσης. Σε αντίθεση με τα φυσικού τύπου έντομα, η απουσία του μεταγραφικού παράγοντα φαίνεται να είναι ευεργετική στην περίπτωση της πλήρους θερμιδικά τροφής, αλλά όχι στην περίπτωση όπου αφαιρέθηκαν τα θρεπτικά συστατικά της ντομάτας και του ανθού ορύζης που εμπεριέχουν τα αντιοξειδωτικά συστατικά της τροφής. Αναλυτικότερα, επεξεργασία των καμπυλών επιβίωσης για τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής, αποκάλυψε ότι η μείωση της βιωσιμότητας που παρατηρήθηκε στα ακτινοβολημένα έντομα ήταν στατιστικά σημαντική. Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων είχαν πεθάνει μέχρι τις 22 ημέρες ενώ των μαρτύρων μέχρι τις 33 (**Εικόνα 3.23A**). Στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας παρατηρήθηκε και στα θηλυκά έντομα. Το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών είχε πεθάνει μέχρι τις 22 ημέρες, συγκριτικά με τους μάρτυρες όπου το 50% είχε πεθάνει μέχρι τις 37 ημέρες (**Εικόνα 3.23B**). Παράλληλα,

στην πλήρη τροφή το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων είχαν πεθάνει μέχρι τις 23 ημέρες, ενώ των μαρτύρων μέχρι τις 18 (Εικόνα 3.23Γ) και το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων μέχρι τις 30 ημέρες, ενώ των αντίστοιχων θηλυκών μαρτύρων μέχρι τις 27 ημέρες (Εικόνα 3.23Δ).



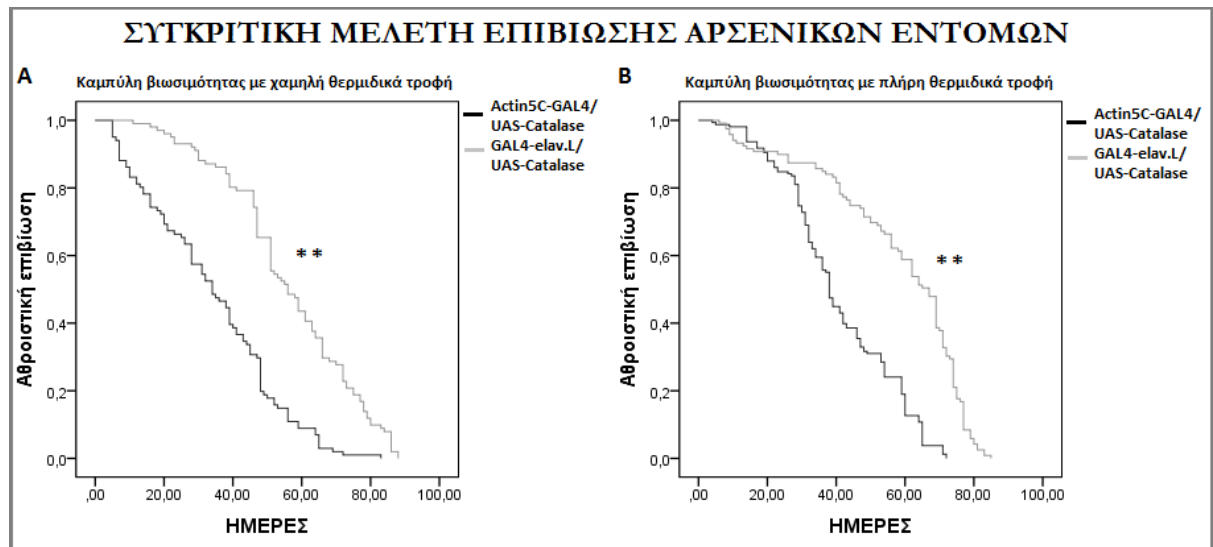
Εικόνα 3.23: Καμπύλες βιωσιμότητας *Dmp53*^{-/-} μεταλλαγμένου στελέχους. Στα αρσενικά είναι εμφανής η μείωση στη βιωσιμότητα των ακτινοβολημένων εντόμων μετά από συνεχή έκθεση σε βάση ασύρματου τηλεφώνου DECT και καλλιέργεια στη χαμηλή θερμιδικά τροφή (A) όπως και στα θηλυκά (B). Στην πλήρη θερμιδικά τροφή το φαινόμενο αντιστρέφεται και τα ακτινοβολημένα τόσο αρσενικά (Γ) όσο και θηλυκά (Δ) έντομα στα οποία απουσιάζει ο μεταγραφικός παράγοντας p53 ζουν περισσότερο από τους μάρτυρες. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Log-Rank, ** $p < 0,001$.

3.4.3. Ο ρόλος του ενζύμου καταλάση στη βιωσιμότητα της *Drosophila melanogaster*. Έλεγχος της επίδρασης της παλμικής ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα συναρτήσει της ιστοειδικής υπερέκφρασης του ενζύμου.

Για τη μελέτη του ρόλου της καταλάσης, ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου, στη βιωσιμότητα των εντόμων μετά από τη δια βίου έκθεσή τους στην ακτινοβολία της βάσης ασύρματου τηλεφώνου χρησιμοποιήθηκαν 2 διαγονιδιακά στελέχη. Το στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Catalase που υπερέκφραζε την καταλάση σε όλους τους σωματικούς ιστούς των εντόμων και το στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Catalase υπερέκφραζε την καταλάση μόνο στους νευρικούς ιστούς.

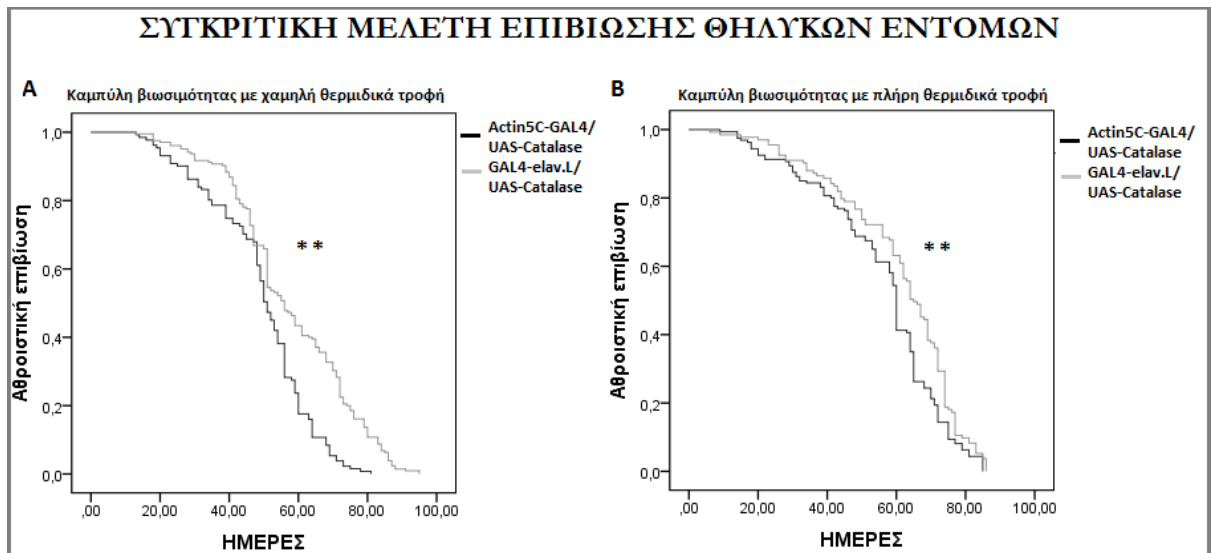
Αρχικά, ελέγχθηκε αν αυτή η διαφορική έκφραση μετέβαλλε τη βιωσιμότητα των εντόμων ανεξαρτήτως της παρουσίας ακτινοβολίας, γεγονός που θα βοηθούσε στην καλύτερη εξήγηση των μετέπειτα αποτελεσμάτων που αφορούσαν στην επίδραση και της ακτινοβολίας στη βιωσιμότητα των εντόμων.

Στα μη ακτινοβολημένα αρσενικά έντομα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αρσενικών εντόμων του διαγονιδιακού στελέχους Actin5C-GAL4/UAS-Catalase και του στελέχους GAL4-elav.L/UAS-Catalase και για τις δύο συνθήκες μέσου καλλιέργειας (χαμηλή και πλήρη θερμιδικά τροφή). Αναλυτικότερα, στη χαμηλή θερμιδικά τροφή το 50% των Actin5C-GAL4/UAS-Catalase αρσενικών εντόμων είχε πεθάνει στις 34 ημέρες ενώ των GAL4-elav.L/UAS-Catalase είχε πεθάνει στις 56 ημέρες (**εικόνα 3.24A**). Αντίστοιχα στην πλήρη θερμιδικά τροφή, το 50% του πρώτου στελέχους είχε πεθάνει στις 38 ημέρες ενώ του δεύτερου στις 67 ημέρες (**εικόνα 3.24B**). Αξίζει να σημειωθεί σε αυτό το σημείο ότι η αύξηση της επιβίωσης του στελέχους GAL4-elav.L/UAS-Catalase είναι εντυπωσιακή συγκριτικά με το WT στέλεχος, όσον αφορά στα αρσενικά έντομα.



Εικόνα 3.24: Καμπύλες βιωσιμότητας μη ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων διαγονιδιακού στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Catalase* και *GAL4-elav.L/UAS-Catalase* στην χαμηλή θερμιδικά τροφή (**A**) και την πλήρη θερμιδικά τροφή (**B**). Η επιβίωση των εντόμων ήταν διαφορετική ανάλογα με τον *driver* που καθορίζει και την τοπολογία της υπερέκφρασης του γονιδίου στόχου. Μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής εμφανίζουν τα έντομα *GAL4-elav.L/UAS-Catalase*, στα οποία το ένζυμο της καταλάσης υπερεκφράστηκε ιστοειδικά στους νευρόνες. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Breslow, ** $p < 0.01$

Στα μη ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη βιωσιμότητα των *Actin5C-GAL4/UAS-Catalase* θηλυκών εντόμων συγκριτικά με τα θηλυκά του στελέχους *GAL4-elav.L/UAS-Catalase* και στις δύο συνθήκες μέσου καλλιέργειας (χαμηλή και πλήρη θερμιδικά τροφή). Αναλυτικότερα, στην χαμηλή θερμιδικά τροφή το 50% των θηλυκών του στελέχους που υπερεκφράζει σε όλους τους ιστούς την καταλάση είχε πεθάνει στις 51 ημέρες ενώ του στελέχους που υπερεκφράζει την καταλάση μόνο στο νευρικό ιστό είχε πεθάνει στις 56 ημέρες (**εικόνα 3.25A**). Αντίστοιχα στην πλήρη θερμιδικά τροφή, το 50% του πρώτου στελέχους είχε πεθάνει στις 60 ημέρες ενώ του δεύτερου στις 65 ημέρες (**εικόνα 3.25B**).



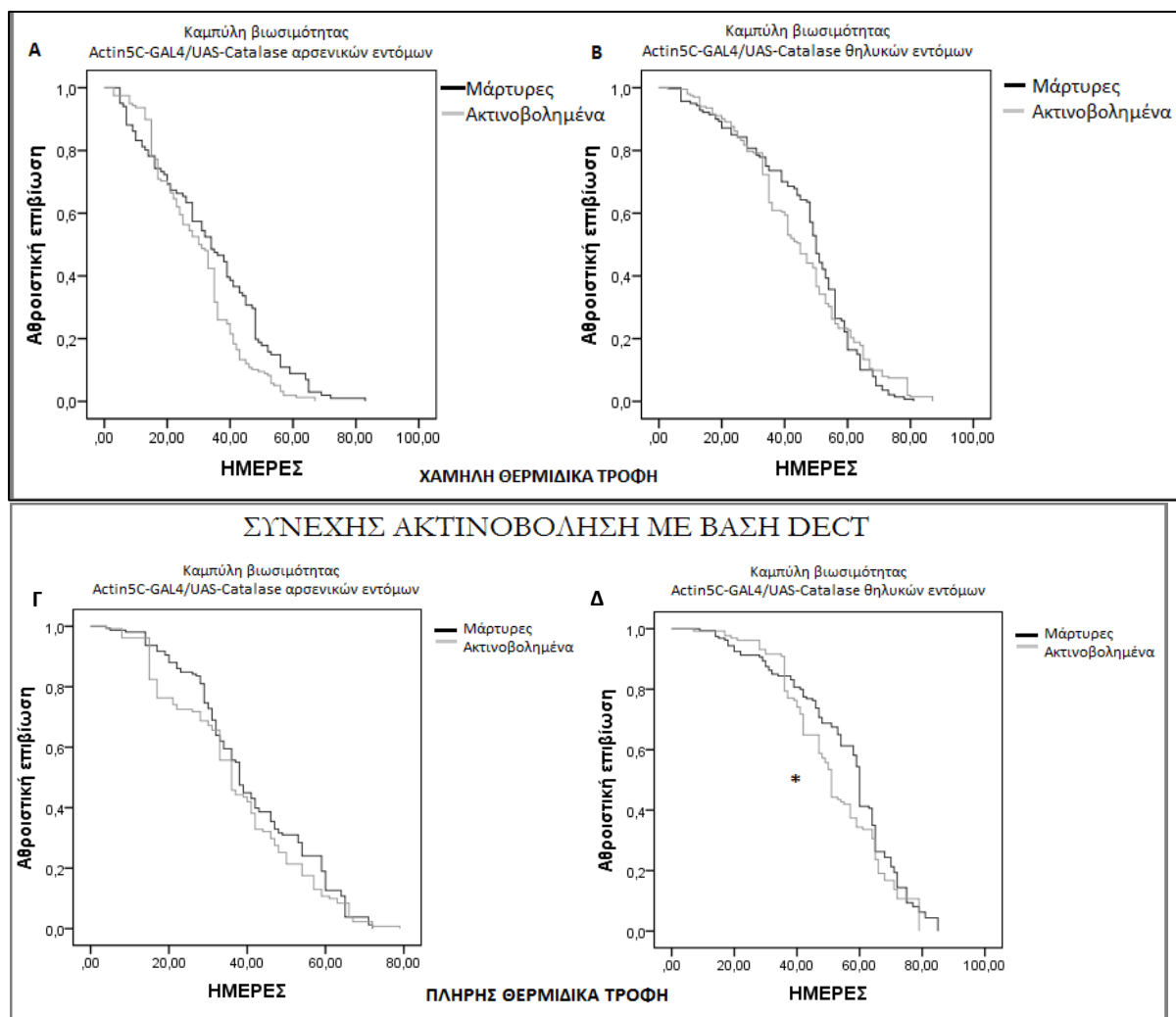
Εικόνα 3.25: Καμπύλες βιωσιμότητας μη ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων διαγονιδιακών στελεχών *Actin5C-GAL4/UAS-Catalase* και *GAL4-elav.L/UAS-Catalase* στην χαμηλή θερμοδικά τροφή (A) και την πλήρη θερμοδικά τροφή (B). Η επιβίωση των εντόμων ήταν διαφορετική ανάλογα με τον driver που καθορίζει και την τοπολογία της υπερέκφρασης του γονιδίου στόχου. Μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής εμφανίζουν τα έντομα *GAL4-elav.L/UAS-Catalase*, στα οποία το ένζυμο της καταλάσης υπερεκφράστηκε ιστοειδικά στους νευρώνες. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο *Kaplan-Meier* και τη δοκιμασία *Breslow*, ** $p < 0.001$

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι και στα δύο φύλλα η υπερέκφραση της καταλάσης στον νευρικό ιστό υπερέχει συγκριτικά με την καθολική της υπερέκφραση σε όλους τους σωματικούς ιστούς.

- **Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα του διαγονιδιακού στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Catalase***

Συνεχής έκθεση σε παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας είτε των αρσενικών είτε των θηλυκών ακτινοβολημένων εντόμων για τη συνθήκη της χαμηλής θερμοδικά τροφής. Αναλυτικότερα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών είχε πεθάνει στις 30 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 34 ημέρες (εικόνα 3.26A) και αντίστοιχα, το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών είχε πεθάνει στις 45 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 50 ημέρες (εικόνα 3.26B). Όσον αφορά στην πλήρη θερμοδικά τροφή παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στην επιβίωση των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην επιβίωση των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων. Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών

εντόμων πέθανε στις 36 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 38 ημέρες (εικόνα 3.26Γ) και το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων πέθανε στις 51 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 60 ημέρες (εικόνα 3.26Δ).



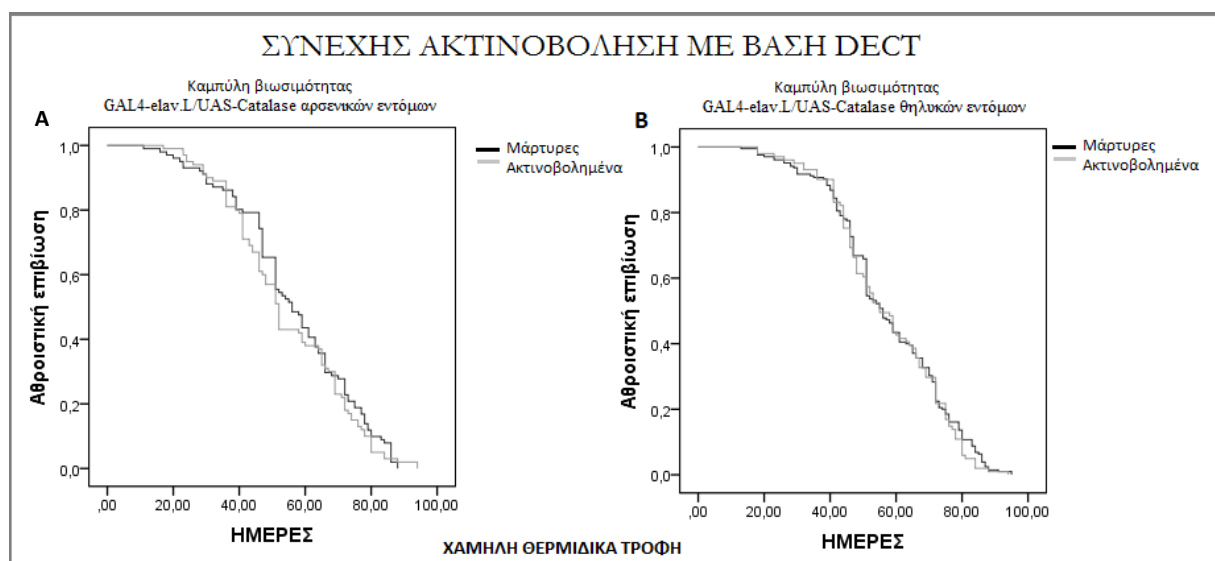
Εικόνα 3.26: Καμπύλες βιωσιμότητας *Actin5C-GAL4/UAS-Catalase* στελέχους με τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής (A-B) και της πλήρους θερμιδικά τροφής (Γ-Δ). Στα αριστερά διαγράμματα απεικονίζονται οι καμπύλες βιωσιμότητας των αρσενικών εντόμων και δεξιά των θηλυκών. Η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ακτινοβολημένων και μη ήταν στην περίπτωση των θηλυκών που καλλιιεργήθηκαν στην πλήρη θερμιδικά τροφή. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο *Kaplan-Meier* και τη δοκιμασία *Breslow*. * $p < 0.05$

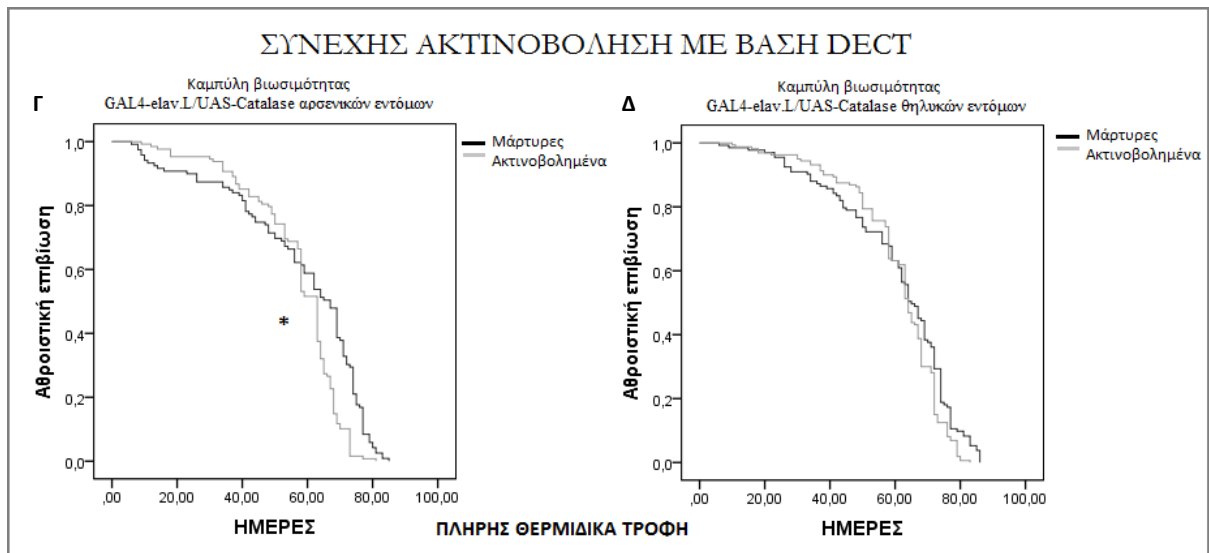
Συμπερασματικά, το αντιοξειδωτικό ένζυμο καταλάση, το οποίο μεταβολίζει το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επίδραση της συγκεκριμένης ακτινοβολίας, καθώς η υπερέκφρασή του στα έντομα που ακτινοβολήθηκαν και καλλιιεργήθηκαν σε πλήρη τροφή φαίνεται να

βοηθάει στην επιβίωση τους, τουλάχιστον των αρσενικών εντόμων. Αντίθετα, στην περίπτωση που υπάρχει μεγαλύτερο οξειδωτικό φορτίο, γεγονός που κάνει τα έντομα πιο ανθεκτικά στην ακτινο-επαγόμενη μείωση του προσδόκιμου ζωής η ύπαρξη ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου δεν προσφέρει ευεργετική δράση, όπως αναμενόταν. Σημαντικό αποτέλεσμα αποτέλεσε η διαφορετική επίδραση της υπερέκφρασης ανάμεσα στα δύο φύλα, με τα αρσενικά να ευνοούνται περισσότερο έναντι των θηλυκών.

- **Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα του διαγονιδιακού στελέχους GAL4-elav.L/UAS-Catalase**

Συνεχής έκθεση σε παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας είτε των αρσενικών είτε των θηλυκών ακτινοβολημένων εντόμων για τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής. Αναλυτικότερα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών είχε πεθάνει στις 52 ημέρες, ενώ των μαρτύρων στις 56 ημέρες (εικόνα 3.27Α). Αντίστοιχα, το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών είχε πεθάνει στις 55 ημέρες, ενώ των μαρτύρων στις 56 ημέρες (εικόνα 3.27Β). Σε αντίθεση με τα προηγούμενα αποτελέσματα, στη συνθήκη της πλήρους θερμιδικά τροφής παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στη βιωσιμότητα των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων, ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη βιωσιμότητα των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων. Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων πέθανε στις 63 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 67 ημέρες (εικόνα 3.27Γ) και το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων πέθανε στις 64 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 65 ημέρες (εικόνα 3.27Δ).





Εικόνα 3.27: Καμπύλες βιωσιμότητας GAL4-elav.L/UAS-Catalase στελέχους με τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής(A-B) και της πλήρους θερμιδικά τροφής (Γ-Δ). Δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική μείωση της επιβίωσης των ακτινοβολημένων εντόμων, ούτε των αρσενικών ούτε των θηλυκών για τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής (A-B). Αντίθετα, στην πλήρη θερμιδικά τροφή η επιβίωση των ακτινοβολημένων αρσενικών μειώθηκε σημαντικά (Γ) ενώ κάτι αντίστοιχο δεν παρατηρήθηκε στα ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα (Δ). Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Breslow. * $p < 0.05$

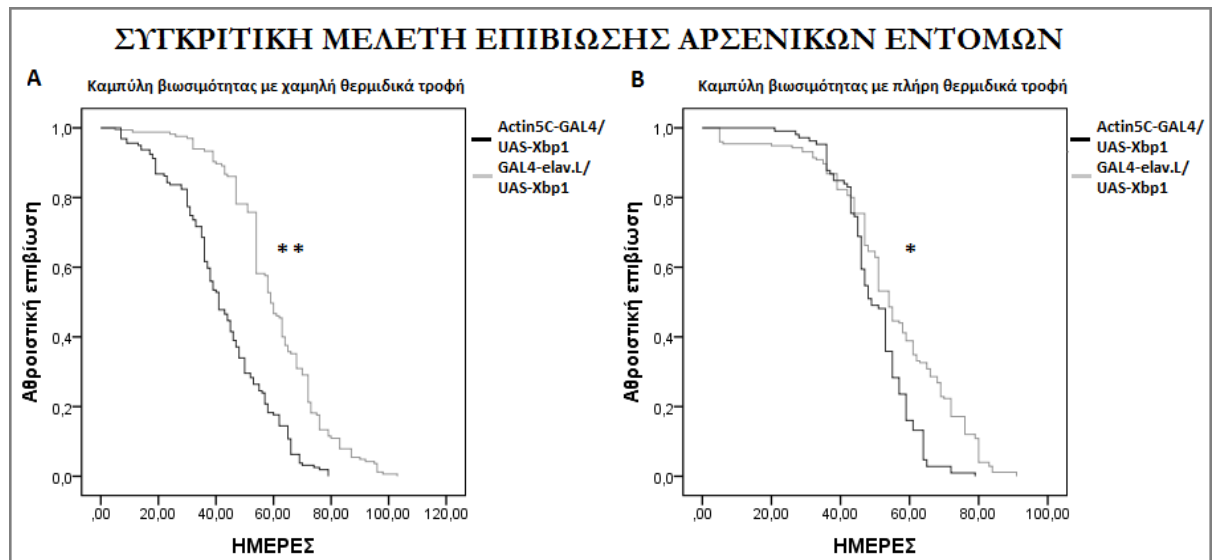
Όπως και στην περίπτωση της καθολικής υπερέκφρασης έτσι και στην περίπτωση της ιστοειδικής μόνο στο νευρικό σύστημα, υπήρξε επιβάρυνση στη βιωσιμότητα των ακτινοβολημένων εντόμων που καλλιεργήθηκαν στη χαμηλή θερμιδικά τροφή συγκριτικά με τους μάρτυρες. Σε αντίθεση όμως με την υπερέκφραση της καταλάσης σε όλους τους ιστούς, η νευροειδική υπερέκφραση φαίνεται να ευνοεί περισσότερο τα θηλυκά ακτινοβολημένα έντομα έναντι των μη ακτινοβολημένων και όχι τα αρσενικά όπως παρατηρήθηκε στα προηγούμενα αποτελέσματα του στελέχους Actin5C-GAL4/UAS-Catalase, γεγονός πολύ ενδιαφέρον, το οποίο χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

3.4.4. Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 στη βιωσιμότητα της *Drosophila melanogaster*. Έλεγχος της επίδρασης της παλμικής ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα συναρτήσει της ιστοειδικής υπερέκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα.

Για τη μελέτη του ρόλου του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1, ο οποίος ενεργοποιείται από το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, στη βιωσιμότητα των εντόμων μετά από τη δια βίου έκθεσή τους στην ακτινοβολία της βάσης ασύρματου τηλεφώνου χρησιμοποιήθηκαν 2 διαγονιδιακά στελέχη. Το στέλεχος Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1 που υπερέκφραζε τον παράγοντα σε όλους τους σωματικούς ιστούς των εντόμων και το στέλεχος GAL4-elav.L/UAS-Xbp1 που υπερέκφραζε τον παράγοντα ιστοειδικά μόνο στους νευρικούς ιστούς.

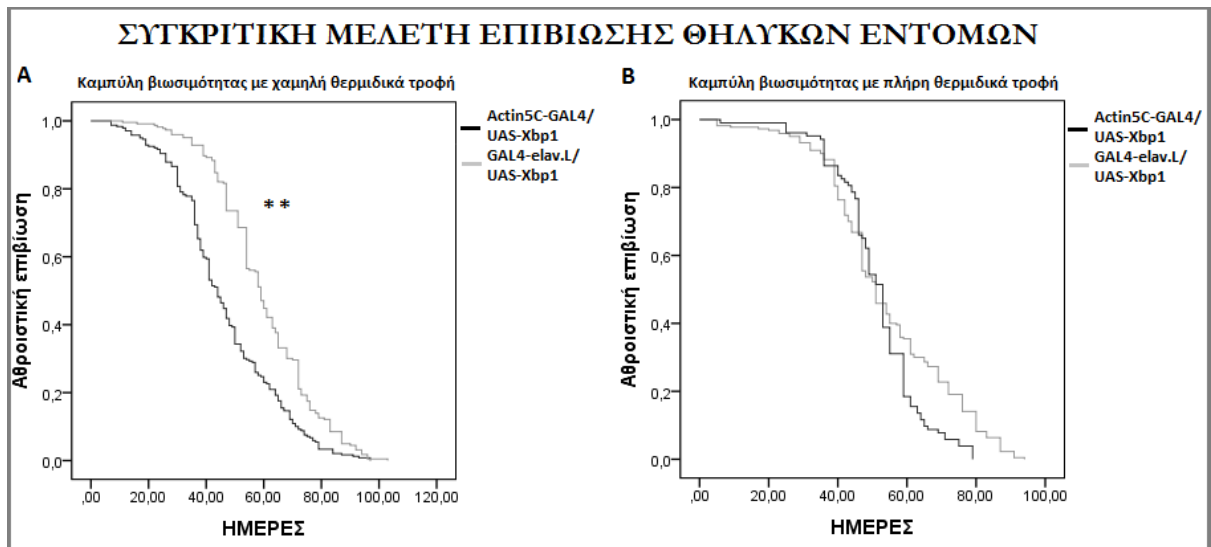
Αρχικά, ελέγχθηκε αν η διαφορική έκφραση προκαλούσε αλλαγή στο προσδόκιμο ζωής χωρίς την παρουσία ακτινοβολίας, γεγονός που θα βοηθούσε στην καλύτερη εξήγηση των μετέπειτα αποτελεσμάτων που αφορούσαν στην επίδραση και της ακτινοβολίας στη βιωσιμότητα των εντόμων.

Στα μη ακτινοβολημένα αρσενικά έντομα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της βιωσιμότητας των δύο στελεχών και στα δύο μέσα καλλιέργειας (χαμηλή και πλήρη θερμιδικά τροφή). Αναλυτικότερα, στη χαμηλή θερμιδικά τροφή το 50% των Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1 αρσενικών εντόμων είχε πεθάνει στις 41 ημέρες ενώ του GAL4-elav.L/UAS-Xbp1 στελέχους στις 59 ημέρες (εικόνα 3.28A). Αντίστοιχα, στην πλήρη θερμιδικά τροφή, το 50% του πρώτου στελέχους είχε πεθάνει στις 49 ημέρες ενώ του δεύτερου στις 54 ημέρες (εικόνα 3.28B).



Εικόνα 3.28: Καμπύλες βιωσιμότητας μη ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων διαγονιδιακού στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1* και *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* στην χαμηλή θερμοδικά τροφή (**A**) και στην πλήρη θερμοδικά τροφή (**B**). Υπήρξε διαφορά στη βιωσιμότητα των δύο στελεχών, με το *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* στέλεχος να υπερέχει και στα δύο μέσα καλλιέργειας. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο *Kaplan-Meier* και τη δοκιμασία *Breslow*, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

Στα μη ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της βιωσιμότητας των δύο στελεχών στη χαμηλή θερμοδικά τροφή μόνο. Αναλυτικότερα, στη χαμηλή θερμοδικά τροφή το 50% των *Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1* θηλυκών εντόμων είχε πεθάνει στις 44 ημέρες ενώ του *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* στελέχους στις 59 ημέρες (**εικόνα 3.29A**). Αντίστοιχα, στην πλήρη θερμοδικά τροφή, το 50% του πρώτου στελέχους είχε πεθάνει στις 53 ημέρες ενώ του δεύτερου στις 51 ημέρες (**εικόνα 3.29B**).



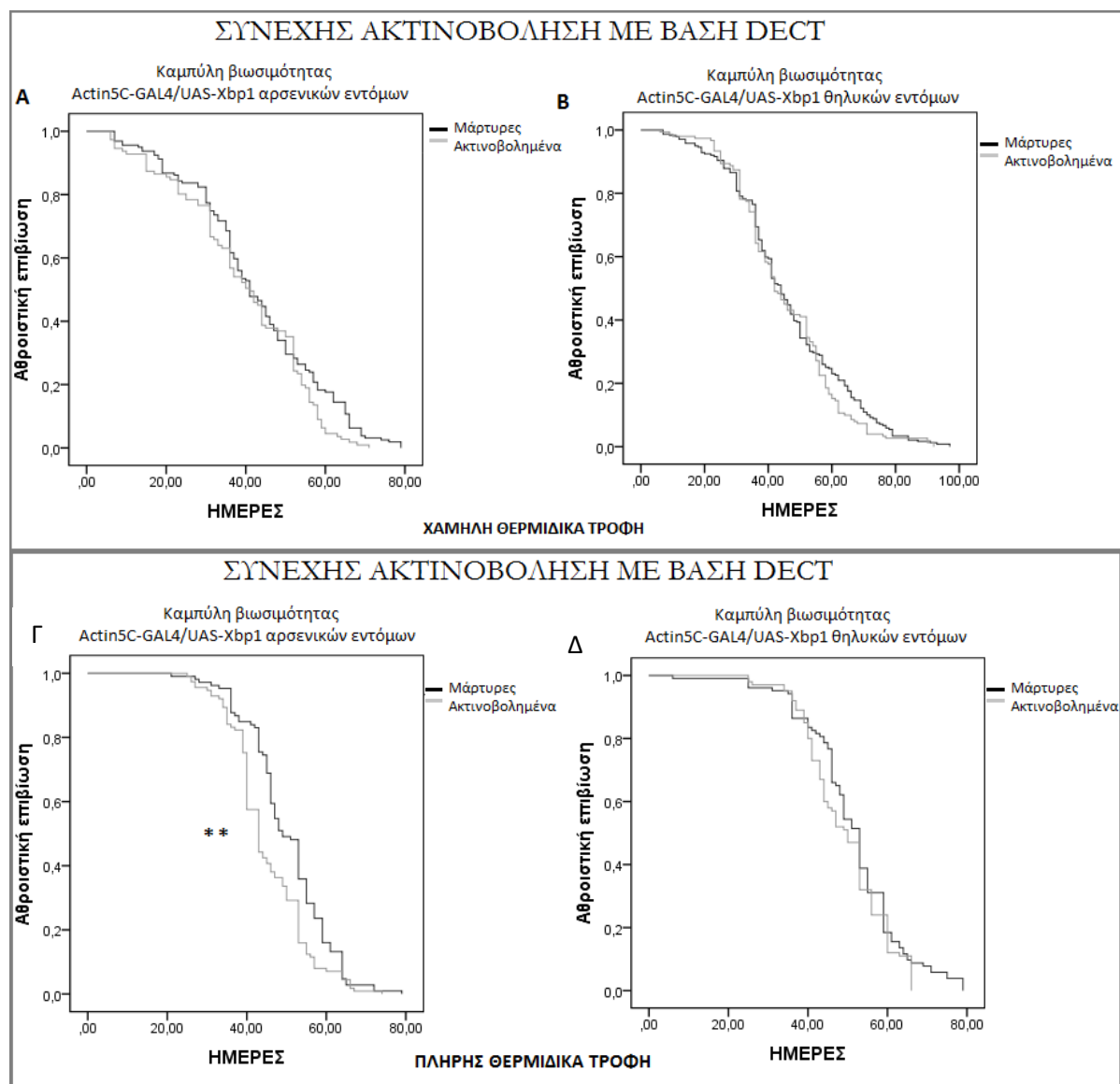
Εικόνα 3.29: Καμπύλες βιωσιμότητας μη ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων διαγονιδιακού στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1* και *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* στην χαμηλή θερμικά τροφή (**A**) και στην πλήρη θερμικά τροφή (**B**). Στην περίπτωση των θηλυκών, σημαντική διαφορά καταγράφηκε μόνο στη χαμηλή θερμικά τροφή όπου τα θηλυκά έντομα του στελέχους *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* εμφάνισαν καλύτερη καμπύλη επιβίωσης σε σχέση με του στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1*. Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο *Kaplan-Meier* και τη δοκιμασία *Breslow*, ** $p < 0.001$

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα *Xbp1* στο νευρικό ιστό υπερέχει συγκριτικά με την καθολική του υπερέκφραση σε όλους τους σωματικούς ιστούς για την χαμηλή θερμικά τροφή και στα δυο φύλα ενώ στην πλήρη θερμικά τροφή υπερέχει μόνο στα αρσενικά. Στα θηλυκά έντομα φαίνεται ότι και οι δυο συνθήκες υπερέκφρασης βοηθούν στην επιβίωση τους

- **Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα του διαγονιδιακού στελέχους *Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1***

Συνεχής έκθεση σε παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου δεν επέφερε κάποια μεταβολή στη βιωσιμότητα τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών ακτινοβολημένων εντόμων, τα οποία καλλιεργήθηκαν στη χαμηλή θερμικά τροφής. Συγκεκριμένα, το 50% των ακτινοβολημένων και των μαρτύρων αρσενικών εντόμων είχε πεθάνει στις 41 ημέρες (**εικόνα 3.30A**). Αντίστοιχα, το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων είχε πεθάνει στις 42 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 44 ημέρες. (**εικόνα 3.30B**). Αντίθετα, στη συνθήκη της πλήρους

θερμιδικά τροφής, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά για τα ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα. Αναλυτικότερα, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών εντόμων είχε πεθάνει στις 43 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 49 ημέρες (εικόνα 3.30Γ). Για τα ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα, το 50% αυτών είχε πεθάνει στις 50 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 53 ημέρες (εικόνα 3.30Δ).



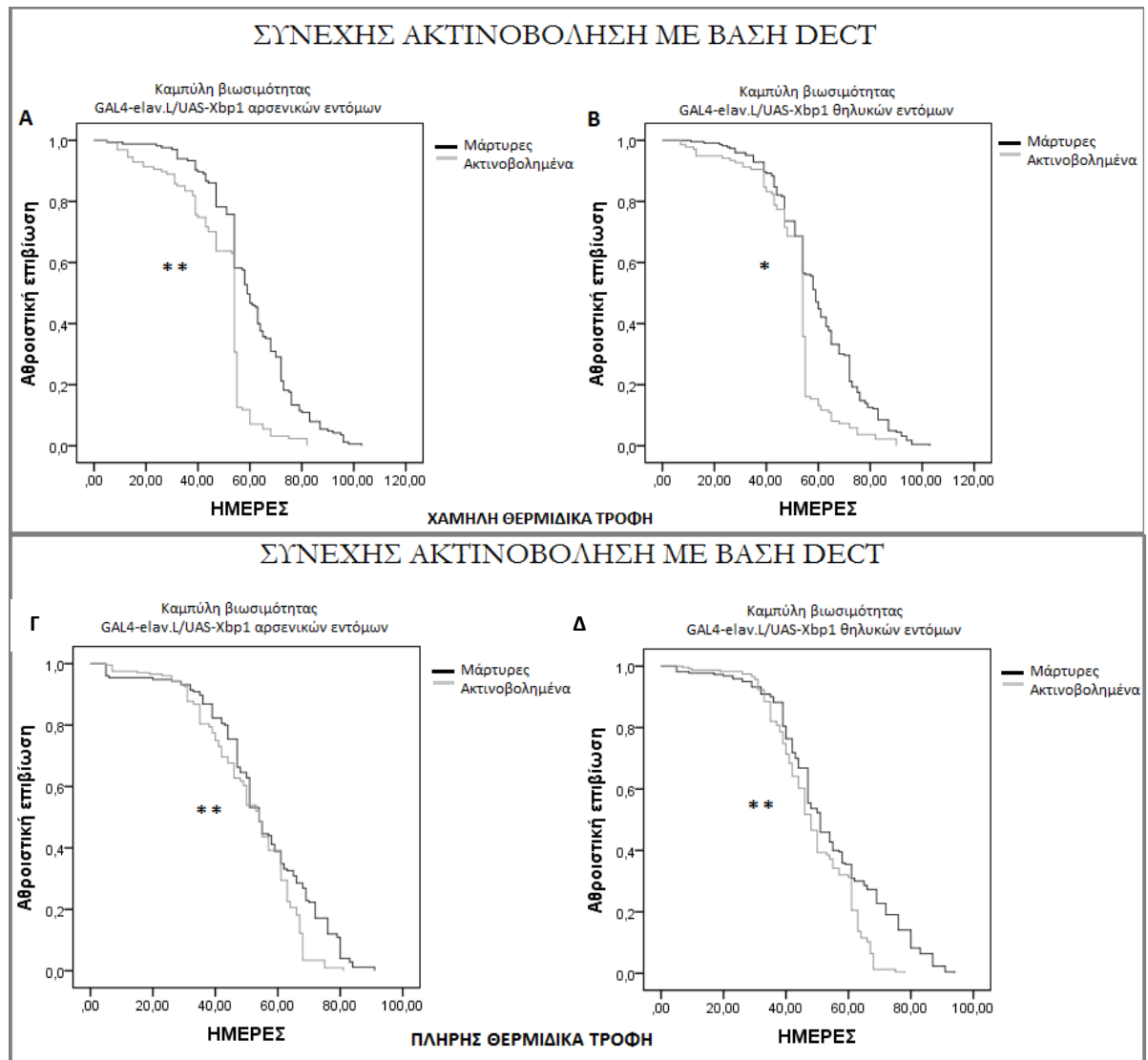
Εικόνα 3.30: Καμπύλες βιωσιμότητας Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1 στελέχους με τη συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής (Α-Β) και της πλήρους θερμιδικά τροφή (Γ-Δ). Στη χαμηλή θερμιδικά τροφή η παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου δε προκάλεσε αλλαγή στη βιωσιμότητα ούτε στα αρσενικά (Α), αλλά ούτε στα θηλυκά έντομα (Β). Στην πλήρη θερμιδικά τροφή παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας των αρσενικών (Γ) και όχι των θηλυκών (Δ) ακτινοβολημένων εντόμων. Η

στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Breslow.

Συμπερασματικά, η καθολική υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 προκάλεσε αύξηση της επιβίωσης τόσο των ακτινοβολημένων αρσενικών και θηλυκών εντόμων όσο και των μαρτύρων σε σχέση με το WT στέλεχος, αλλά δεν έδρασε θετικότερα στην περίπτωση των ακτινοβολημένων εντόμων συγκριτικά με τους μάρτυρες, αρσενικών και θηλυκών, στη χαμηλή θερμιδικά τροφή, καθώς στην περίπτωση των WT εντόμων τα ακτινοβολημένα εμφάνισαν καλύτερη επιβίωση έναντι των μαρτύρων, αλλά βοήθησε τα ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα στην πλήρη θερμιδικά τροφή. Η φυλοειδική επίδραση που παρατηρήθηκε αποτελεί ένα ενδιαφέρον εύρημα και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

- ***Επίδραση της ακτινοβολίας βάσης ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT στη βιωσιμότητα του διαγονιδιακού στελέχους GAL4-elav.L/UAS-Xbp1***

Συνεχής έκθεση σε παλμική ακτινοβολία βάσης ασύρματου τηλεφώνου DECT οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση στη βιωσιμότητα τόσο των ακτινοβολημένων αρσενικών όσο και των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων και στις δύο συνθήκες καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της χαμηλής θερμιδικά τροφής, το 50% των ακτινοβολημένων αρσενικών πέθανε στις 54 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 59 ημέρες (**εικόνα 3.31A**) και το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών πέθανε στις 54 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 59 ημέρες (**εικόνα 3.31B**), ενώ στην περίπτωση της πλήρους θερμιδικά τροφής το 50% των ακτινοβολημένων θηλυκών εντόμων πέθανε στις 48 ημέρες ενώ των μαρτύρων στις 51 ημέρες (**εικόνα 3.31Γ**). Στα αρσενικά το 50% και των ακτινοβολημένων και των μαρτύρων πέθανε στις 54 ημέρες, αλλά η μέγιστη επιβίωση στα ακτινοβολημένα αρσενικά έντομα έφτασε τις 81 ημέρες ενώ στους μάρτυρες τις 91 ημέρες (**εικόνα 3.31Δ**).



Εικόνα 3.31: Καμπύλες βιωσιμότητας *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1* στελέχους με τη συνθήκη της χαμηλής θερμικά τροφής (Α-Β) και της πλήρους θερμικά τροφής (Γ-Δ). Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στην επιβίωση των ακτινοβολημένων αρσενικών και θηλυκών εντόμων στην χαμηλή θερμικά τροφή (Α-Β) αλλά και στην πλήρη θερμικά τροφή (Γ-Δ). Η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο καμπυλών επιβίωσης έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και τη δοκιμασία Breslow, ** $p < 0.001$

Παρά την εντυπωσιακή αύξηση της επιβίωσης του στελέχους *GAL4-elav.L/UAS-Xbp1*, η ιστοειδική υπερέκφραση του *Xbp1* δεν έδρασε ευεργετικά έναντι της επιβάρυνσης της παλμικής μη ιονίζουσας ακτινοβολίας στη βιωσιμότητα της *Drosophila*. Μάλιστα, στην περίπτωση της χαμηλής θερμικής τροφής, όπου τα ακτινοβολημένα WT έντομα είχαν καλύτερη επιβίωση, η υπερέκφραση προκάλεσε αναστροφή του συγκεκριμένου φαινομένου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ΗΜΑ) στους έμβιους οργανισμούς, χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο σύστημα το δίπτερο έντομο *Drosophila melanogaster* και ως πηγές ακτινοβολίας οικιακές συσκευές ασύρματης τεχνολογίας καθημερινής χρήσης και συγκεκριμένα το ασύρματο δίκτυο WiFi, το κινητό τηλέφωνο καθώς και η βάση ασύρματου τηλεφώνου τύπου DECT. Εξετάστηκε η επίδραση της ακτινοβολίας στο αποπτωτικό δυναμικό κατά την ωογένεση, στην αναπαραγωγική ικανότητα και στην εκκολαψιμότητα. Παράλληλα ελέγχθηκε η επίδραση στο προσδόκιμο ζωής διαφόρων διαγονιδιακών και μεταλλαγμένων στελεχών του εντόμου αλλά και στη βιωσιμότητα του φυσικού τύπου *Drosophila*. Τέλος, εξετάστηκε ο χρονισμός της επαγωγή του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου μετά από επίδραση της ακτινοβολίας κινητού τηλεφώνου GSM 1800 MHz.

4.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΗΝ ΕΠΑΓΩΓΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΩΟΓΕΝΕΣΗ

Η μελέτη αφορούσε την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (ΗΜΑ) στην ωογένεση της *Drosophila*. Η ωοθήκη της *Drosophila* αποτελεί ένα ιδανικό μοντέλο ιστού για τη μελέτη των γενετικών παραγόντων αλλά και των κυτταρικών μονοπατιών και μηχανισμών που εμπλέκονται στον κυτταρικό θάνατο καθώς στο συγκεκριμένο ιστό ο κυτταρικός θάνατος είναι τόσο αναπτυξιακά ρυθμιζόμενος στα στάδια 11-14 όσο και σποραδικός στο στάδιο του γερμαρίου και στα στάδια 7-9 της πρώιμης και μέσης ωογένεσης, αντίστοιχα (Nezis et al., 2000; 2009; Velentzas et al., 2007). Επίσης, στα στάδια αυτά (2β και 7-9) παρατηρείται κυτταρικός θάνατος αν αυτό καταστεί αναγκαίο, καθώς αποτελούν τα σημεία ελέγχου της διαδικασίας της ωογένεσης, η οποία στα σημεία αυτά διακόπτεται, μέσω κυτταρικού θανάτου, (McCall, 2004). Μελέτες έχουν δείξει ότι σε περιπτώσεις εξωγενών παραγόντων, όπως τα μειωμένα θρεπτικά συστατικά (Drummond-Barbosa και Spradling, 2001) το ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων αυξάνεται στα συγκεκριμένα σημεία ελέγχου. Κατά συνέπεια, η ωογένεση αποτελεί ένα πρότυπο σύστημα μελέτης της επίδρασης εξωγενών παραγόντων και για το λόγο αυτό

χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για τη μελέτη της HMA, η οποία έχει βρεθεί ότι επάγει την απόπτωση σε διάφορα μοντέλα μελέτης (*Sehitoglu et al. 2015; Azadi Oskouyi et al 2015*). Σε πρόσφατη μελέτη της ομάδας μάλιστα (*Margaritis et al, 2014*) η ωογένεση της *Drosophila* συγκεκριμένα αναδείχθηκε ως κατάλληλο σύστημα μελέτης για τις επιδράσεις της HMA από συσκευές οικιακής χρήσης (ασύρματο δίκτυο WiFi, ασύρματο τηλέφωνο τύπου DECT, Bluetooth, baby monitor, φούρνος μικροκυμάτων), γεννήτρια ραδιοσυχνότητας αλλά και από το κινητό τηλέφωνο, καθότι βρέθηκε αύξηση των αποπτωτικών ωοθυλακίων μετά από έκθεση σε αυτές ακόμα και σε επίπεδα έντασης ηλεκτρικού πεδίου E χαμηλότερα από τα όρια που υποδεικνύει η ICNIRP.

4.1.1 Επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην απόπτωση κατά την ωογένεση

Για τη μελέτη της ωογένεσης, χρησιμοποιήθηκε ως πηγή HMA το ασύρματο δίκτυο WiFi (για λόγους συντομίας θα αναφέρεται ως WiFi). Στόχος ήταν ο προσδιορισμός της βιοδραστικότητας της ακτινοβολίας του ασύρματου δικτύου Wi-Fi router ως προς: α) τη διάρκεια έκθεσης, β) τη διαμόρφωση εκπομπής ανάλογα με τη μετάδοση δεδομένων (live streaming) ή όχι και γ) την επαναληψιμότητα της έκθεσης.

Όσον αφορά στη βιοδραστικότητα της διαμόρφωσης εκπομπής, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης Διπλωματικής εργασίας υποδηλώνουν ότι υπάρχει διαφορετική επίδραση μεταξύ της ροής (live streaming) και της απουσίας ροής δεδομένων (no streaming), καθώς η ακτινοβολία με live streaming οδήγησε μεγαλύτερα ποσοστά αποπτωτικών ωοθυλακίων. Τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα και με προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας (*Margaritis et al, 2014*), όπου είχε βρεθεί επαγωγή της απόπτωσης κατά την ωογένεση με ασύρματο δίκτυο WiFi χωρίς ροή δεδομένων μετά από καθημερινή ακτινοβολία 60 λεπτών για 7 ημέρες. Κατά συνέπεια, αυτό που αξίζει να σημειωθεί ως καινοτομία είναι η μεγαλύτερη βιοδραστικότητα της διαμόρφωσης εκπομπής, καθώς η ροή δεδομένων (live streaming), όπως προαναφέρθηκε, είχε μεγαλύτερη επίπτωση στην ωογένεση σε σχέση με τη no streaming ακτινοβολία. Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται στη διαφορά της έντασης E μεταξύ της no streaming και της live streaming εκπομπής, η οποία ένταση στη δεύτερη περίπτωση αυξήθηκε κατά πολύ.

Όσον αφορά στη διάρκεια έκθεσης, τα αποτελέσματα της έδειξαν ότι η αύξηση του ποσοστού των ωοθυλακίων ήταν παρόμοια τόσο μετά από το πρωτόκολλο διάρκειας 12 λεπτών όσο και μετά από το αντίστοιχο των 30 λεπτών, γεγονός που πιθανά υπονοεί την ενεργοποίηση και δράση μηχανισμών απόκρισης στην ακτινο-επαγόμενη επιβάρυνση της ωογένεσης. Το αποτέλεσμα αυτό ενισχύεται και από πρόσφατη μελέτη με κινητό τηλέφωνο αντίστοιχου χρονικού διαστήματος ακτινοβολίας (μισής ώρας), όπου βρέθηκε η υπερέκφραση γονιδίων που εμπλέκονται, μεταξύ άλλων, σε διεργασίες όπως η κυτταρική απόκριση στο στρες και σε βλάβη του DNA, καθώς και στη DNA επιδιόρθωση (Manta et al., 2017).

Όσο αναφορά στην επαναληψιμότητα της έκθεσης οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά σημειώθηκε μόνο για τη no streaming ακτινοβολία και το πρωτόκολλο των 12 λεπτών, ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά στο πρωτόκολλο των 30 λεπτών γεγονός που δείχνει ότι η επιβάρυνση της HMA στην περίπτωση της ωογένεσης δεν είναι αθροιστική. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα και με άλλες μελέτες του εργαστηρίου μας (Sagioglou et al., 2016, Margaritis et al., 2014) και ενισχύουν την υπόθεση ότι κατά τη διάρκεια της έκθεσης στην παλμική μη ιονίζουσα ακτινοβολία ενεργοποιούνται αμυντικοί μηχανισμοί επαναφοράς της ομοιόστασης των κυττάρων.

Συμπερασματικά, η επίδραση στην ωογένεση της *Drosophila melanogaster* μετά από εφαρμογή των συγκεκριμένων πρωτοκόλλων *in vivo* έκθεσης θηλυκών εντόμων στη μη ιονίζουσα, παλμική ακτινοβολία ασύρματου δικτύου WiFi φάνηκε να εξαρτάται από τη διαμόρφωση εκπομπής και την έκθεση του πεδίου, αλλά να είναι ανεξάρτητη της διάρκειας και της επαναληψιμότητας της δόσης.

4.1.2 Επίδραση στην απόπτωση κατά την ωογένεση συναρτήσει της συχνότητας. Έκθεση σε ασύρματο πομποδέκτη, γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων και τριοξειδίου του ουρανίου (πilotικά πειράματα)

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκαν επίσης 3 pilotικά πειράματα για την επίδραση της μη ιονίζουσας HMA μετά από έκθεση σε ασύρματο πομποδέκτη και γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων (με συχνότητα 900MHz) και ιονίζουσας μετά από έκθεση σε τριοξείδιο του ουρανίου. Τα συγκεκριμένα πειράματα ήταν pilotικά και χρήζουν περαιτέρω επαναλήψεων. Ωστόσο, τα πρωταρχικά αυτά αποτελέσματα

φαίνεται να δίνουν αρκετά χρήσιμες πληροφορίες για τη μελέτη της επίδρασης της ΗΜΑ στην ωογένεση του δίπτερου εντόμου *Drosophila*. Συγκεκριμένα, όσον αφορά στην επαγωγή της απόπτωσης κατά την ωογένεση, έδειξαν αύξηση των αποπτωτικών ωοθυλακίων μετά από εφάπαξ έκθεση 30 λεπτών με ασύρματο πομποδέκτη της τάξης του 203%, με γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων στην συχνότητα των 900MHz 56%. Η έκθεση στον ασύρματο πομποδέκτη πραγματοποιήθηκε με διακοπή 10 sec ανά 20 sec ενώ η έκθεση στη γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων ήταν συνεχόμενη. Η τόσο μεγάλη αύξηση στο ποσοστό των αποπτωτικών ωοθυλακίων στην περίπτωση της διακοπτόμενης έκθεσης στον πομποδέκτη πιθανά να οφείλεται στο συνδυασμό της συχνότητας και του τρόπου εκπομπής, αλλά και στη διακοπτόμενη έκθεση που σε συνδυασμό με τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε ηλεκτρομαγνητικού κύματος να είναι περισσότερο βιοδραστική από τη συνεχή.

Στην καθημερινή έκθεση 30 λεπτών με τριοξείδιο του ουρανίου για 5 ημέρες παρατηρήθηκε αύξηση του ποσοστού κατά 362%. Πιθανά, η τόσο έντονη αύξηση να οφείλεται στο γεγονός ότι η συγκεκριμένη ακτινοβολία ανήκει στο φάσμα της ιονίζουσας ακτινοβολίας και είναι πολύ πιο διεισδυτική σε σχέση με τη μη ιονίζουσα αλλά και στο ότι η ακτινοβολία ήταν καθημερινή, πράγμα που μπορεί να μην οδηγεί σε συσσωρευτική επίδραση στην περίπτωση της μη ιονίζουσας, αλλά ενδέχεται να έχει αθροιστική επιβάρυνση στην περίπτωση της ιονίζουσας ακτινοβολίας. Η επαγωγή της απόπτωσης στην ωογένεση από ιονίζουσα ακτινοβολία έχει βρεθεί και από τους *Shim et al (2014)* μετά από έκθεση *Drosophila melanogaster* σε Cs¹³⁷ της τάξης των 40 Gy για δυο ημέρες.

4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΜΕ ΑΣΥΡΜΑΤΟ ΔΙΚΤΥΟ WiFi ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Η μελέτη αφορούσε στην επίδραση του ασύρματου δικτύου WiFi στην αναπαραγωγική ικανότητα της *Drosophila*. Η συγκεκριμένη συσκευή ασύρματης τεχνολογίας, καθημερινής χρήσης έχει δειχθεί από τους *Margaritis et al (2014)* ότι προκαλεί μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας κατά 12%, μετά από ταυτόχρονη έκθεση των αρσενικών και θηλυκών εντόμων σε αυτήν για 60 λεπτά καθημερινά και για συνολικά 7 ημέρες. Στην παρούσα εργασία, η έκθεση των εντόμων έγινε

ξεχωριστά, με σκοπό να αναδειχθεί πιθανή φυλοειδικά-εξαρτώμενη επίδραση. Το πρωτόκολλο ακτινοβολήσης που εφαρμόστηκε ήταν για 24 ώρες το 24ώρο, από την ημέρα έκδυσης των εντόμων μέχρι την 4η ημέρα της ενήλικης ζωής τους όπου και ακολούθησε διασταύρωση ενός αρσενικού και ενός θηλυκού σύμφωνα με τις συνθήκες που περιγράφονται αναλυτικότερα στην παράγραφο 2.2.4. Παρατηρήθηκε μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας τόσο μετά από ακτινοβολήση μόνο των αρσενικών όσο και μετά την ακτινοβολήση μόνο των θηλυκών εντόμων. Ωστόσο, η μείωση του αριθμού των χρυσαλίδων και κατά συνέπεια και των νεοεκδυθέντων εντόμων, ήταν μεγαλύτερη στη συνθήκη όπου ακτινοβολήθηκε το αρσενικό έντομο.

Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι τα ποσοστά μείωσης που παρατηρήθηκαν στις τωρινές συνθήκες διασταύρωσης είναι πολύ μεγαλύτερα σε σχέση με αυτά που είχαν παρατηρηθεί στη μελέτη του 2014, όπου και τα δύο φύλλα είχαν εκτεθεί ταυτόχρονα στην ίδια πηγή ακτινοβολίας. Συγκεκριμένα το ποσοστό μείωσης του αριθμού των χρυσαλίδων στην περίπτωση των ακτινοβολημένων αρσενικών φτάνει το 32% , των θηλυκών το 14% συγκριτικά με το 12% που καταγράφηκε στην αντίστοιχη μελέτη του 2014, της ταυτόχρονης έκθεσης. Πολύ σημαντικό αποτελεί το γεγονός ανάδειξης μίας πιθανά φυλοεξαρτώμενης επίδρασης, με τα αρσενικά να εμφανίζονται λιγότερο ανθεκτικά έναντι της ακτινοβολίας, όσον αφορά στην αναπαραγωγική τους ικανότητα. Η μείωση που παρατηρήθηκε στα θηλυκά είναι πιθανά αλληλένδετη με την αύξηση των αποπτωτικών ωοθυλακίων, τα οποία δεν ολοκληρώνουν την ωογένεση. Στα αρσενικά είναι πολύ πιθανό η HMA να έχει επιδράσει αρνητικά στην ποιότητα του σπέρματος, όπως έχει παρατηρηθεί και σε άλλα μοντέλα οργανισμούς όπως οι μύες (*Liu et al, 2015*), συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου (*Agarwal et al, 2009*) γεγονός που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Η μεγαλύτερη μείωση που σημειώθηκε στην περίπτωση των ακτινοβολημένων αρσενικών πιθανά να οφείλεται στη συνεργιστική δράση της HMA με την αρνητική επίδραση της μονογαμίας στο courting. Πιο αναλυτικά, στα θηλυκά η πολυγαμία δεν έχει διαφορά σε σχέση με τη μονογαμία, διότι το θηλυκό χρειάζεται να έρθει σε επαφή με το αρσενικό μια φορά για να φτάσει την μέγιστη αναπαραγωγική ικανότητα (*Vivek et al, 2015*). Αντιθέτως, για το αρσενικό η πολυγαμία είναι σημαντική γιατί έτσι έρχονται σε επαφή με πολλά θηλυκά και αναγκάζονται να τα προσελκύσουν ενώ όταν είναι μόνο με ένα θηλυκό δεν σπαταλούν χρόνο σε αυτό με αποτέλεσμα να μειώνεται η αναπαραγωγική τους ικανότητα (*Vivek et al, 2015*).

4.3 ΧΡΟΝΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΣΤΡΕΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ (ΕΔ ΣΤΡΕΣ – ER STRESS) ΑΠΟ ΤΗΝ ΗΜΑ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ

Στη συγκεκριμένη εργασία ανιχνεύθηκε η ενεργοποίηση του στρες του ΕΔ και συγκεκριμένα ο χρονισμός αυτής της απόκρισης στην ακτινοβολία. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε διαγονιδιακό στέλεχος στο οποίο υπερεκφράστηκε καθολικά το χμιαρικό γονίδιο Xbp1-EGFP στους σωματικούς ιστούς του εντόμου *Drosophila melanogaster*. Ο υπό μελέτη ιστός ήταν οι σιελογόνοι αδένες, λόγω του μεγάλου μεγέθους των κυττάρων τους και των ευδιάκριτων πυρήνων, γεγονός που επιτρέπει την ευκολότερη παρατήρηση και τοπολογική ανίχνευση του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1. Ο Xbp1 μεταφράζεται μετά από την απομάκρυνση 26 νουκλεοτιδίων από το mRNA του και μεταβαίνει στον πυρήνα την ενεργοποίηση της μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων στόχων, τα οποία προάγουν την κυτταρική απάντηση στην αντιμετώπιση του στρες του ΕΔ. Η συγκεκριμένη χρονική περίοδος μεταξύ της επαγωγής του κυτταρικού στρες και της απόκρισης υπήρξε αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης Διπλωματικής εργασίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν θετικό σήμα φθορισμού στον πυρήνα των ακτινοβολημένων σιελογόνων αδένων μετά από 60 λεπτά ακτινοβολήσης και άμεσης παρατήρησης στο Συνεστιακό Σαρωτικό Μικροσκόπιο Laser. Διαστήματα μικρότερης έκθεσης οδήγησε σε απουσία θετικού σήματος. Τόσο στο πρωτόκολλο 30 λεπτών ακτινοβολήσης και άμεσης παρατήρησης όσο και στο πρωτόκολλο ίσης διάρκειας αλλά παρατήρησης μετά από 30 ακόμα λεπτά δεν έδειξαν ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ο χρόνος που χρειάζεται για να ενεργοποιηθεί και να εντοπιστεί ο μεταγραφικός παράγοντας Xbp1 στον πυρήνα είναι τουλάχιστον 60 λεπτά και μάλιστα χρειάζονται 60 λεπτά επίδρασης της ΗΜΑ ώστε να προκληθεί ER stress. Κατά συνέπεια, το ακτινο-επαγόμενο στρες του ΕΔ είναι χρονο-εξαρτώμενο. Το συγκεκριμένο στρες δεν έχει ακόμα μελετηθεί διεθνώς στην περίπτωση της ακτινοβολίας ραδιοκυμάτων και μικροκυμάτων. Υπάρχουν, ωστόσο, μελέτες που δείχνουν ακτινο-επαγόμενη διαταραχή στην ομοιοστάση των κυττάρων η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει στην επαγωγή του ER stress. Συγκεκριμένα, έχει δειχθεί αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου (*Çiğ and Nazıroğlu 2015*), καθώς και συσσώρευση ROS και οξειδωμένων πρωτεϊνών (*Avci et al., 2012; Dasdaq*

et al., 2012; Manta et al 2013; 2017). Η αύξηση των οξειδωμένων πρωτεϊνών μπορεί να οδηγήσει σε «πρωτεοτοξικό» στρες και τελικά σε ενεργοποίηση του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου.

4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ENTOMΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΑΣΥΡΜΑΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ ΤΥΠΟΥ DECT ΣΤΗ ΒΙΩΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ENTOMOY

4.4.1 Επίδραση της ακτινοβολήσης συναρτήσσει του μέσου καλλιέργειας

Για την καλλιέργεια των εντόμων όλων των στελεχών χρησιμοποιήθηκαν δύο μέσα καλλιέργειας: η πλήρης θερμιδικά τροφή και η χαμηλή θερμιδικά τροφή, στην οποία απουσίαζαν δύο βασικά συστατικά: η ντομάτα και το άνθος ορύζης.

Στα φυσικού τύπου έντομα παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας και στα δύο φύλα μετά την επίδραση της ακτινοβολίας, όσον αφορά στην πλήρη θερμιδικά τροφή, ενώ το φαινόμενο αντιστράφηκε στη χαμηλή θερμιδικά τροφή. Η έλλειψη των αντιοξειδωτικών στοιχείων στη δεύτερη περίπτωση, όπως είναι το λυκοπένιο και οι βιταμίνες, προκάλεσε ένα περισσότερο οξειδωτικό περιβάλλον ανάπτυξης το οποίο πιθανά να οδήγησε στην πρόκληση ανθεκτικότητας απέναντι στην ακτινο-επαγόμενη μείωση της βιωσιμότητας.

Γενικότερα, παρατηρήθηκε ότι η συνθήκη της χαμηλής θερμιδικά τροφής βοήθησε την επιβίωση μόνο στα φυσικού τύπου ακτινοβολημένα έντομα. Επίσης, η ακτινοπροστασία της χαμηλής θερμιδικά τροφής ήταν και φυλο-ειδική καθώς ενήργησε περισσότερο θετικά στα αρσενικά από ότι στα θηλυκά, τα οποία αντιμετωπίζουν ούτως ή άλλως υψηλό οξειδωτικό φορτίο, λόγω της διαδικασίας της ωογένεσης, η οποία είναι μία συνεχής και ενεργοβόρα μεταβολικά διαδικασία με σκοπό τη συνεχή παραγωγή νέων αυγών προς γονιμοποίηση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η αναπαραγωγή καθώς και η συμβίωση με τα αρσενικά έντομα μπορούν να προκαλέσουν μείωση στη βιωσιμότητα και στην αντοχή των θηλυκών εντόμων στο οξειδωτικό στρες (*Partridge et al, 1987; Salmon et al, 2001*). Για τους λόγους αυτούς, πολύ πιθανό η έλλειψη των αντιοξειδωτικών στοιχείων στη χαμηλή θερμιδικά τροφή να μην οδήγησε στην ανθεκτικότητα των θηλυκών όπως στα αρσενικά. Αυτή η φυλοειδική επίδραση της HMA, σύμφωνα με την παρουσία ή όχι

των αντιοξειδωτικών στην τροφή, είναι ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα και θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

4.4.2 Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα p53 στη βιωσιμότητα του εντόμου

Στα μεταλλαγμένα στελέχη, όπου απουσίαζε ο μεταγραφικός παράγοντας p53 παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της βιωσιμότητας και των ακτινοβολημένων αρσενικών αλλά και των θηλυκών εντόμων στη χαμηλή θερμιδικά τροφή. Αυτό σημαίνει ότι η απουσία της p53 σε συνδυασμό με την απουσία των αντιοξειδωτικών από την τροφή έχει αρνητική επίπτωση στη βιωσιμότητα των υπό ακτινοβολία εντόμων. Αντιθέτως, η απουσία του μεταγραφικού παράγοντα στη συνθήκη της πλήρους θερμιδικά τροφής, έδρασε προστατευτικά έναντι της ακτινοβολίας και ανέστρεψε το φαινόμενο της μείωσης της βιωσιμότητας των ακτινοβολημένων εντόμων, τα οποία έζησαν περισσότερο από τους μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι ο ρόλος της p53 στην επίδραση της μη ιονίζουσας ΗΜΑ είναι προστατευτικός και φαίνεται να σχετίζεται με τη δυναμική του οξειδοαναγωγικού ισοζυγίου. Από μελέτες είναι γνωστό ότι ελέγχει τη μεταγραφή τόσο αντιοξειδωτικών όσο και προ-οξειδωτικών ενζύμων (*Liu and Xu, 2011*) και έτσι καθορίζει την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες από τις ελεύθερες ρίζες που προκύπτουν από την ακτινοβολία (*Vurusaner et al., 2012*). Απουσία του παράγοντα οδηγεί και σε μειορύθμιση των παραπάνω γονιδίων διαταράσσοντας την ισορροπία του οξειδοαναγωγικού δυναμικού του εντόμου.

4.4.3 Ο ρόλος της ιστοειδικής υπερέκφρασης του ενζύμου καταλάση στη βιωσιμότητα του εντόμου

Η καταλάση είναι ένα ένζυμο καταλυτικό για την αντιμετώπιση των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα (μεταβολίζει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και υδρογόνο). Η αύξηση του επιπέδου των ελευθέρων ριζών στην *Drosophila* είναι μία γνωστή συνέπεια της έκθεσης σε ΗΜΑ (*Manta et al, 2013*). Για τη μελέτη του ρόλου των αντιοξειδωτικών μηχανισμών, υπερεκφράστηκε η καταλάση και καθολικά στους σωματικούς ιστούς και ιστοειδικά στο νευρικό ιστό μόνο. Για την υπερέκφραση χρησιμοποιήθηκαν δυο στελέχη: το Actin5C-GAL4/UAS-Catalase που φέρει τον υποκινητή της ακτίνης και οδηγεί σε υπερέκφραση σε όλους τους

ιστούς και το GAL4-elav.L/UAs-Catalase που φέρει έναν υποκινητή ιστοειδικό για το νευρικό ιστό.

Η καθολική υπερέκφραση του ενζύμου βοήθησε στην περίπτωση της πλήρους θερμιδικά τροφής, όπου και σημειώθηκε η στατιστικά σημαντική μείωση της επιβίωσης των wt εντόμων. Ωστόσο, στα θηλυκά έντομα, που όπως προαναφέρθηκε είναι ήδη επιβαρυσμένα οξειδωτικά, δεν κατάφερε να αντιστρέψει την αρνητική επίδραση της ακτινοβολίας στο προσδόκιμο ζωής τους. Στην περίπτωση της χαμηλής θερμιδικά τροφής όπου η έκθεση των εντόμων στο χαμηλά θερμιδικά πηγή διατροφής δρα προστατευτικά η υπερέκφραση της καταλάσης δε φάνηκε να προσέφερε επιπλέον ευεργετική δράση.

Επιπλέον, η ιστοειδική υπερέκφραση του συγκεκριμένου αντιοξειδωτικού ενζύμου οδήγησε σε αύξηση του προσδόκιμου ζωής των μαρτύρων, αποτέλεσμα πολύ σημαντικό για τη φυσιολογία του εντόμου και το οποίο χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Η ιστοειδική υπερέκφραση ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου έχει βρεθεί να βοηθά στη συνολική επιβίωση και σε μελέτη (*Parkers et al, 1998*) άλλης ερευνητικής ομάδας. Στην παρούσα εργασία φάνηκε ότι βοηθά επίσης και στην επιβίωση υπό το στρες της HMA και μάλιστα ενισχύει την προστατευτική επίδραση της χαμηλής θερμιδικά τροφής. Ωστόσο, αποτελεί πολύ σημαντική παρατήρηση το γεγονός ότι ο ρόλος της καταλάσης στη βιωσιμότητα είναι εκτός από ιστοειδικός είναι και φλοειδικός, καθώς η νευροειδική υπερέκφραση βοήθησε περισσότερο τα θηλυκά ενώ η καθολική τα αρσενικά.

4.4.4 Ο ρόλος της ιστοειδικής υπερέκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 στη βιωσιμότητα του εντόμου

Η υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1 πραγματοποιήθηκε σε δύο στελέχη: Actin5C-GAL4/UAS-Xbp1 που η υπερέκφραση ήταν καθολική σε όλους τους ιστούς και GAL4-elav.L/UAs-Xbp1 που η υπερέκφραση έγινε εφικτή στον νευρικό ιστό. Ο μεταγραφικός παράγοντας Xbp1 όπως έχει ήδη αναφερθεί ενεργοποιείται από το στρες ΕΔ. Όπως ήδη αναφέραμε, μία γνωστή συνέπεια της HMA είναι η αύξηση του οξειδωτικού φορτίου (*Manta et al, 2013*). Η αύξηση του οξειδωτικού φορτίου έχει βρεθεί ότι επάγει την ενεργοποίηση του στρες του Ενδοπλασματικού Δικτύου (*Malhotra and Kaufman, 2007*). Για το λόγο αυτό,

ελέγχθηκε και ο ρόλος του Xbp1 στη βιωσιμότητα των εντόμων που καλλιεργούνται υπο συνεχή, δια βίου έκθεση στην ακτινοβολία.

Η καθολική υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Xbp1, όσον αφορά στη χαμηλή θερμιδικά τροφή, δεν έδρασε θετικότερα στην περίπτωση των ακτινοβολημένων αρσενικών και θηλυκών εντόμων. Αντίθετα, βοήθησε τα ακτινοβολημένα θηλυκά έντομα στην πλήρη θερμιδικά τροφή. Στην περίπτωση του Xbp1 η ιστοειδική υπερέκφραση δε φάνηκε να διαδραματίζει κάποιον ρόλο στη βιωσιμότητα των εντόμων συναρτήσει της ΗΜΑ. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος ότι η υπερέκφραση αφορούσε το mRNA που περιείχε τα 26 νουκλεοτίδια, τα οποία αποτρέπουν τη μετάφραση του μεταγραφικού παράγοντα η επιλογή ενός στελέχους όπου η υπερέκφραση αφορά στο τελικό γονιδιακό προϊόν, να δώσει περισσότερες πληροφορίες για τον *in vivo* ρόλο της ακτινο-επαγόμενης διαταραχής της ομοιόστασης της *Drosophila*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

5.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abou-Ghali M, Stiban J. Regulation of ceramide channel formation and disassembly: Insights on the initiation of apoptosis. *Saudi J Biol Sci.* 2015; 22(6): 760–772.
- Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E, Sharma R. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: an in vitro pilot study. *Fertil Steril.* 2009; 92(4): 1318-25.
- Ashburner M, Thompson JN. The laboratory culture of *Drosophila*. In Ashburner M, Wright TRF. *The genetics and biology of Drosophila.* 2A. Academic Press. 1978; 1–81.
- Ashburner M, Golic KG, Hawley RS. *Drosophila: A Laboratory Handbook.* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2005; pp. 162–4.
- Atkey MR, Lachance JF, Walczak M, Rebello T, Nilson LA. Capicua regulates follicle cell fate in the *Drosophila* ovary through repression of mirror. *Development.* 2006; 133(11): 2115-23.
- Atli E, Unlü H. The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the development of *Drosophila melanogaster*. *Int J Radiat Biol.* 2006; 82(6): 435-41.
- Avcı B, Akar A, Bilgici B, Tunçel ÖK. Oxidative stress induced by 1.8 GHz radio frequency electromagnetic radiation and effects of garlic extract in rats. *Int J Radiat Biol.* 2012; 88(11): 799-805.
- Avendano C, Mata A, Sanchez-Sarmiento CA, Doncel GF. Use of laptop computers connected to internet through wi-fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation. *Fert and Steril* 2012; 97(1): 0039-0045.
- Bakker K. An analysis of factors which determine success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Archives Neerlandaises de Zoologie.* 1961; 14 (2): 200–281.
- Barth JM, Szabad J, Hafen E, Köhler K. Autophagy in *Drosophila* ovaries is induced by starvation and is required for oogenesis. *Cell Death Differ.* 2011; 18(6): 915-24.
- Bas O, Odaci E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxic and Indust Health.* 2009; 25: 377-384.
- Brodsky MH, Weinert BT, Tsang G, Rong YS, McGinnis NM, Golic KG, Rio DC, Rubin GM. *Drosophila melanogaster* MNK/Chk2 and p53 regulate multiple DNA repair and apoptotic pathways following DNA damage. *Mol and Cellul Biol.* 2004; 24(3): 1219-1231
- Campos-Ortega, J.A. and V. Hartenstein. 1985. *The Embryonic Development of Drosophila melanogaster.* Springer-Verlag, Berlin.
- Casas-Tinto S, Zhang Y, Sanchez-Garcia J, Gomez-Velazquez M, Rincon-Limas DE, Fernandez-Funez P. The ER stress factor XBP1s prevents amyloid- β neurotoxicity. *Human Molecular Genetics.* 2011; 20 (11): 2144–60.

- Cao SS, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in cell fate decision and human disease. *Antioxid Redox Signal*. 2014; 21(3): 396-413.
- Chao Sheng-Hao, Nagoshi RN. Induction of apoptosis in the germline and follicle layer of *Drosophila* egg chambers. *Mech of Dev*. 1999; 88:159-172.
- Chavdoula ED, Panagopoulos DJ, Margaritis LH. Comparison of biological effects between continuous and intermittent exposure to GSM-900-MHz mobile phone radiation: Detection of apoptotic cell-death features. *Mutat Res*. 2010; 700(1-2): 51-61.
- Chen Su, Wen Hin-Min, Lv Wen-Wen, Wang Da-Liang, Sun Fang-Lin. E2 ligase dRad6 regulates DMP53 turnover in *Drosophila*. *The Jour of Biol Chem*. 2011; 286(11): 9020-9030.
- Chiang HC, Hodson AC. An analytical study of population growth in *Drosophila melanogaster*. *Ecological Monographs*. 1950; 20 (3): 173–206.
- Çiğ B, Nazıroğlu M. Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via TRPV1 channels induced by mobile phones and Wi-Fi in breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1848(10 Pt B): 2756-65.
- Dasdag S, Akdag MZ, Kizil G, Kizil M, Cakir DU, Yokus B. Effect of 900 MHz radio frequency radiation on beta amyloid protein, protein carbonyl, and malondialdehyde in the brain. *Electromagn Biol Med*. 2012; 31(1): 67-74.
- Diem E, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rudiger H. Non-thermal DNA breakage by mobile phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutation Research*. 2005; 583: 178-183.
- Drummond-Barbosa D, Spradling AC. Stem cells and their progeny respond to nutritional changes during *Drosophila* oogenesis. *Dev Biol*. 2001; 231(1):265-78.
- Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*. 2003; 22: 9030–9040
- Gannes FP, Billaudel B, Haro E, Taxile M, Le Montagner L, Hurtier A, Aissa SA, Masuda H, Percherancier Y, Ruffié G, Dufour P, Veyret B, Lagroye I. Rat fertility and embryo fetal development: Influence of exposure to the Wi-Fi signal. *Reprod Toxicol*. 2013; 36: 1-5.
- Gems D, Partridge L. Stress-response hormesis and aging: "that which does not kill us makes us stronger. *Cell Metab*. 2008; 7(3): 200–3
- González-Reyes A, Elliott H, St Johnston D. Oocyte determination and the origin of polarity in *Drosophila*: the role of the spindle genes. *Development*. 1997; 124(24): 4927-37.
- ICNIRP. Guide lines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz). *Health Phys*. 199874: 494–522.

- Invacsitis S, Diem E, Pilger A, Rudiger HW, Jahn O. Induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to extremely low frequency electromagnetic fields in human diploid fibroblasts. *Mutant Research*. 2002; 519: 1-13.
- Jenkins VK, Timmons AK, McCall K. Diversity of cell death pathways: insight from the fly ovary. *Trends Cell Biol*. 2013; 23(11): 567-74.
- Jin S, Martinek S, Joo WS, Wortman JR, Mirkovic N, Sali A, Yandell MD, Pavletich NP, Young MW, Levine AJ. Identification and characterization of a p53 homologue in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(13): 7301-6.
- Kanao T., Miyachi Y. Exposure to low-dose X-rays promotes peculiar autophagic cell death in *Drosophila melanogaster*, an effect that can be regulated by the inducible expression of Hml dsRNA. *Mutation Research*. 2006; 595: 60-68.
- Kapuscinski J, Darzynkiewicz Z. Spectral properties of fluorochromes used in flow cytometry. *Methods Cell Biol*. 1990; 33: 655-69.
- Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EE, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, Blumberg RS. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell*. 2008; 134 (5): 743–56.
- King RC. Origin and development of the egg chamber within the adult ovarioles. In: *Ovarian Development in Drosophila melanogaster*. London: Academic Press, New York, pp. 35-84, 1970.
- King RC, Aggarwal SK, Aggarwal U. The Development of the female *Drosophila* reproductive system. *J of Morph*. 1968; 124 (2): 143-165.
- Kirilly D, Ting X. The *Drosophila* ovary: an active stem cell community. *Cell Research*. 2007; 17: 15-25
- Krewski D, Byus CV, Glickman BW, Lotz GW, Mandeville R, McBride ML, Prato FS, Weaver DF. Potential health risks of radiofrequency fields from wireless telecommunication devices. *J of Toxic and Environ Health*. 2001; 4: 1-143 (Pt B).
- Kugler JM, Lasko P. Localization, anchoring and translational control of oskar, gurken, bicoid and nanos mRNA during *Drosophila* oogenesis. *Fly (Austin)*. 2009; 3(1): 15-28.
- Kupsco A, Schlenk D. Oxidative stress, unfolded protein response, and apoptosis in developmental toxicity. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2015; 317: 1-66.
- Kwan-Hoong No. Non-Ionizing Radiations–Sources, Biological Effects, Emissions and Exposures. Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR2003); Electromagnetic Fields and Our Health 20th–22nd October 2003.
- Lai H, Singh NP. Melatonin, N-tert-butyl-alpha-phenylinrone block 60-Hz magnetic field-induced DNA single and double strand breaks in rat brain cells. *J Pineal Res*. 1997; 22: 152-162.

Lai H, Singh NP. Acute low – intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics*. 1995; 16 (3): 207-210.

Lai H, Singh NP. Single and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int Radiat Biol*. 1996; 69(4): 513-521.

Lee KS, Choi JS, Hong SY, Son TH, Yu K. Mobile phone electromagnetic radiation activates MAPK signaling and regulates viability in *Drosophila*. *Bioelectromagnetics*. 2008; 29: 371-379.

Lennon SV, Martin SJ, Cotter TG. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif*. 1991; 24(2): 203–14

Liu D, Xu Y. p53, oxidative stress, and aging. *Antioxid Redox Signal*. 2011; 15(6): 1669-78.

Lixia S, Yao K, Kaijun W, Deqiang L, Huajun H, Xiangwei G, Baohong W, Wei Z, Jianling L, Wei W. Effects of 1,8 GHz radiofrequency field on DNA damage and expression of heat shock protein 70 in human lens epithelial cells. *Mutation Research*. 2006; 602: 135-142

Luciani MG, Hutchins JR, Zheleva D, Hupp TR. The C-terminal regulatory domain of p53 contains a functional docking site for cyclin A. *J. Mol. Biol*. 2000; 300(3): 503–518

Manta AK, Stravopodis DJ, Papassideri IS, Margaritis LH. Reactive oxygen species elevation and recovery in *Drosophila* bodies and ovaries following short-term and long-term exposure to DECT base EMF. *Electromagn Biol Med*. 2014; 33(2): 118-131.

Manta AK, Papadopoulou D, Polyzos AP, Fragopoulou AF, Skouroliakou AS, Thanos D, Stravopodis DJ, Margaritis LH. Mobile-phone radiation-induced re-turbation of gene-expression profiling, redox equilibrium and sporadic-apoptosis control in the ovary of *Drosophila melanogaster*. *Fly* 2017; 0(0): 1-21.

Margaritis LH. Structure and physiology of the eggshell. In: *Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology*. (Gilbert LI, Kerkut, G.A. ed.). Oxford and New York: Pergamon Press, pp. 151-230. 1985

Margaritis L.H. The eggshell of *Drosophila melanogaster*. New staging characteristics and fine structural analysis of choriogenesis. *Canadian Journal of Zoology*: 2152-2175. 1986.

Margaritis LH, Kafatos FC, Petri WH. The eggshell of *Drosophila melanogaster*. I. Fine structure of the layers and regions of the wild-type eggshell. *J Cell Sci*. 1980; 43: 1-35.

Margaritis LH, Manta AK, Kokkaliaris KD, Schiza D, Alimisis K, Barkas G, Georgiou E, Giannakopoulou O, Kollia I, Kontogianni G, Kourouzidou A, Myari A, Roumelioti F, Skouroliakou A, Sykioti V, Varda G, Xenos K, Ziomas K. *Drosophila*

oogenesis as a bio-marker responding to EMF sources. *Electromagn Biol Med.* 2014; 33(3): 165-89.

Mashevich M, Folkman D, Kesar A, Barbul A, Korenstein R, Jerby E, Avivi L. Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics.* 2003; 24: 82-90.

Mathieu J, Sung Hsin-Ho, Pugieux C, Soetaert J, Rorth P. A Sensitized Piggy Bac-Based Screen for Regulators of Border Cell Migration in *Drosophila*. *Genetics.* 2007; 176: 1579–1590

McCall K Eggs over easy: cell death in the *Drosophila* ovary. *Dev Biol.* 2004; 1; 274(1): 3-14.

McLaughlin JM, Bratu DP. *Drosophila melanogaster* Oogenesis: An Overview. *Methods Mol Biol.* 2015;1 328: 1-20.

Nazıroğlu M, Ciğ B, Doğan S, Uğuz AC, Dilek S, Faouzi D. 2.45-Gz wireless devices induce oxidative stress and proliferation through cytosolic Ca²⁺ influx in human leukemia cancer cells. *Int J Radiat Biol.* 2012; 88(6): 449-56.

Nezis IP, Lamark T, Velentzas AD, Rusten TE, Bjørkøy G, Johansen T, Papassideri IS, Stravopodis DJ, Margaritis LH, Stenmark H, Brech A. Cell death during *Drosophila melanogaster* early oogenesis is mediated through autophagy. *Autophagy.* 2009; 5(3): 298-302.

Nezis IP, Shrivage BV, Sagona AP, Johansen T, Baehrecke EH, Stenmark H. Autophagy as a trigger for cell death: autophagic degradation of inhibitor of apoptosis dBruce controls DNA fragmentation during late oogenesis in *Drosophila*. *Autophagy.* 2010; 6(8): 1214-5.

Nezis IP, Stravopodis DJ, Margaritis LH, Papassideri IS. Autophagy is required for the degeneration of the ovarian follicular epithelium in higher Diptera. *Autophagy.* 2006b; 2(4): 297-8.

Nezis IP, Stravopodis DJ, Margaritis LH, Papassideri IS. Chromatin condensation of ovarian nurse and follicle cells is regulated independently from DNA fragmentation during *Drosophila* late oogenesis. *Differentiation.* 2006a; 74(6): 293-304.

Nezis IP, Stravopodis DJ, Papassideri I, Robert-Nicoud M, Margaritis LH. Dynamics of apoptosis in the ovarian follicle cells during the late stages of *Drosophila* oogenesis. *Cell Tissue Res.* 2002; 307(3): 401-9.

Nezis IP, Stravopodis DJ, Papassideri I, Robert-Nicoud M, and Margaritis LH: Stage-specific apoptotic patterns during *Drosophila* oogenesis. *Eur J Cell Biol* 2000; 79: 610-620.

Ntzouni M.P., Stamatakis A., Stylianopoulou F.,Margaritis L.H. Short-term memory in mice is affected by mobile phone radiation. *Pathophysiology.* 2011; 18:193-199.

- Ntzouni MP, Skouroliakou A, Kostomitsopoulos N, Margaritis LH. Transient and cumulative memory impairments induced by GSM 1.8 GHz cell phone signal in a mouse model. *Electromagn Biol Med.* 2013; 32(1): 95-120.
- Odaci E, Bas O, Kaplan S. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the dentate gyrus of rats: a stereological and histopathological study. *Brain Research.* 2008; 1238: 224-229.
- Ollmann M, Young LM, Di Como CJ, Karim F, Belvin M, Robertson S, Whittaker K, Demsky M, Fisher WW, Buchman A, Duyk G, Friedman L, Prives C, Kopczynski C. *Drosophila* p53 is a structural and functional homolog of the tumor suppressor p53. *Cell.* 2000; 101(1): 91-101.
- Ozcan, U. Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin Action, and Type 2 Diabetes. *Science.* 2004; 306 (5695): 457–461
- Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP, Margaritis LH. Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutat Res.* 2007; 626(1-2):69-78. Epub 2006 Oct 11.
- Panagopoulos DJ, Karabarounis A, Margaritis LH. Effect of GSM 900MHz mobile phone radiation on the reproductive capacity of *Drosophila Melanogaster*. *Electromagn. Biol. Med.* 2004; 23:29-43
- Panagopoulos DJ, Chavdoula ED, Nezis IP, Margaritis LH. Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. *Mutation Research,* 2007; 626: 69-78.
- Panagopoulos DJ, Margaritis LH The effect of exposure duration on the biological activity on mobile telephony radiation. *Mutat Res.* 2010; 699: 17-22.
- Papassideri IS, Trougakos IP, Leonard KR, Margaritis LH. Crystalline yolk spheroids in *Drosophila melanogaster* oocyte: freeze fracture and two-dimensional reconstruction analysis. *J Insect Physiol.* 2007; 53(4): 370-6.
- Parkers TL, Elia AJ, Dickinson D, Hilliker AJ, Phillips JP, Boulianne GL. Extension of *Drosophila* lifespan in overexpression of human SOD1 in motorneurons. *Nat Gen* 1998; 19: 171-174
- Partridge L, Green AW, Fowler K. Effects of egg-production and of exposure to males on female survival in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* Vol. 33, No. 10, pp. 145-749, 1987
- Pavici I, Trosic I. In vitro testing of cellular response to ultra high frequency electromagnetic field radiation. *Toxicology in Vitro.* 2008; 22: 1344-1348.
- Peterson JS, Barkett M, McCall K. Stage-specific regulation of caspase activity in *drosophila* oogenesis. *Dev Biol.* 2003; 1; 260(1): 113-23.
- Pitnick S. Investment in testes and the cost of making long sperm in *Drosophila*. *American Naturalist.* 1996; 148: 57–80

- Raymond SA, Faughn JS. Electromagnetic waves. In: Physics. Holt, Rinehart and Winston publications. Austin, Texas, USA. 2006; pp. 749-755.
- Robinson DN, Cooley L. Genetic Analysis of the actin cytoskeleton in the *Drosophila* ovary. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1997; 13: 147–170.
- Rubin T, Huynh JR. Mosaic Analysis in the *Drosophila melanogaster* Ovary. *Methods Mol Biol*. 2015; 1328:29-55. doi: 10.1007/978-1-4939-2851-4_3.
- Ryoo Hyung Don, Domingos PM, Kang Min-Ji, Steller Herman. Unfolded protein response in a *Drosophila* model for retinal degeneration. *The EMBO Journal*. 2007; 26: 242–252.
- Sagioglou NE, Manta AK, Giannarakis IK, Skouroliakou AS, Margaritis LH. Apoptotic cell death during *Drosophila* oogenesis is differentially increased by electromagnetic radiation depending on modulation, intensity and duration of exposure. *Electromagn Biol Med*. 2015; 21: 1-14.
- Salmon AB, Marx DB, Harshman LG. A cost of reproduction in *Drosophila melanogaster*: stress susceptibility. *Evolution*. 2001; 55(8): 1600-8.
- Segal, AW. How neutrophils kill microbes. *Annu Rev Immunol*. 2005; 23(5): 197–223
- Shen X, Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response--a stress signaling pathway of the endoplasmic reticulum. *J Chem Neuroanat*. 2004; 28(1-2): 79-92.
- Shim Hee Jin, Lee Eun-Mi, Nguyen Long Duy, Shim Jaekyung, Song Young-Han. High-Dose irradiation induces cell cycle arrest, apoptosis, and developmental defects during *Drosophila* oogenesis. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e89009
- Stallings W. *Wireless Communication and Networks*. Pearson Education Inc. 2nd edition, 2005
- Trougakos IP, Margaritis LH. Novel Morphological and physiological aspects of insect eggs. In: *Chemoecology of insect eggs and egg deposition* (Hilker M, Meiners T. ed.).
- Vaiserman A.M., Koshel N.M., Voitenko V.P. Effect of X-irradiation at larval stage on adult lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*. 2004; 5:49-54.
- Vivek Rohidas Vartak, Vishwanath Varma, Vijay Kumar Sharma. Effects of polygamy on the activity/rest rhythm of male fruit flies *Drosophila melanogaster*. *The Science of Nature*. 2015; 102:3
- Velentzas AD, Nezis IP, Stravopodis DJ, Papassideri IS, Margaritis LH. Apoptosis and autophagy function cooperatively for the efficacious execution of programmed nurse cell death during *Drosophila virilis* oogenesis. *Autophagy*. 2007; 3(2): 130-2
- Vurusaner B, Poli G, Basaga H. Tumor suppressor genes and ROS: complex networks of interactions. *Free Radic Biol Med*. 2012; 52(1): 7-18.
- Wang B, Lai H. Acute exposure to pulsed 2450 MHz microwaves affects water-maze performance of rats. *Bioelectromagnetics*. 2000; 21 (1): 52-56

Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein-folding environment on cancer development. *Nat Rev* 2014; 14: 581-597

Weisbrot D, Lin H, Ye L, Blank M, Goodman R. Effects of mobile phone radiation on reproduction and development in *Drosophila melanogaster*. *J Cell Biochem*. 2003; 89(1):48-55.

Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. "Endoplasmic Reticulum Stress: Cell Life and Death Decisions". *J. Clin. Invest*. 2005; 115 (10): 2656–2664.

Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology*. 2006; 66 (2 Suppl 1):S102-9.

Zhao R, Zhang S, Xu Z, Ju L, Lu D, Yao G. Studying gen expression profile of rat neuroexposed to 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields with cDNAmicroassay. *Toxicology*. 2007; 235: 167-175

5.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Μαντά ΑΚ. «Μελέτη οξειδωτικού και αποπτωτικού δυναμικού της μη ιονίζουσας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε πρότυπα βιολογικά συστήματα». 2015, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μαργαρίτης Λ.Χ. «Η χοριογένεση στη *Drosophila melanogaster*. Ένα πρότυπο σύστημα για τη μελέτη της κυτταρικής διαφοροποίησης». Διατριβή επί υφηγεσία. 1980, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Slack J.M.W. «Βασικές Αρχές Βιολογίας Ανάπτυξης». 2^η Έκδοση. 2007, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις

Watson J, Caudy A, Myers RR, Witkowski JA. «Ανασυνδυασμένο DNA: Γονίδια και Γονιδιώματα – Μια συνοπτική παρουσίαση». 1^η Έκδοση. 2007, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις

Lewin Benjamin. “GENES VIII”. Δεύτερος Τόμος, 2004, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις

Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Keith R, Walter P. «Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας». 2^η έκδοση. Δεύτερος Τόμος, 2006, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης

Μαρμαράς Β, Μαρμαρά-Λαμπροπούλου Μ. «Βιολογία Κυττάρου: Μοριακή Προσέγγιση». 5^η έκδοση, 2005, Εκδόσεις Tyronama